

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

FLORINE ALVES DE SOUSA PINHEIRO

**POTENCIAL ALELOPÁTICO E ANÁLISE FITOQUÍMICA DE
EXTRATOS DE FOLHAS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus sp.*) E
MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.)**

São Luís-MA

2020

FLORINE ALVES DE SOUSA PINHEIRO

**POTENCIAL ALELOPÁTICO E ANÁLISE FITOQUÍMICA DE
EXTRATOS DE FOLHAS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus sp.*) E
MANGUEIRA (*Mangifera indica L.*)**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof. Dra. Ilisandra Zanandrea

Coorientador(a): Dra. Monique Ellen Farias Barcelos

São Luís-MA

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Alves de Sousa Pinheiro, Florine.

Potencial alelopático e análise fitoquímica de extratos de folhas de Eucalipto *Eucalyptus* sp. e Mangueira *Mangifera indica* L. : Alelopatia e fitoquímica de extratos de *Eucalyptus* sp. e *Mangifera indica* L. na germinação de sementes de *Allium cepa* L / Florine Alves de Sousa Pinheiro. - 2020.

50 f.

Coorientador(a): Monique Ellen Farias Barcelos.

Orientador(a): Ilisandra Zanandrea.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2020.

1. Alelopatia. 2. Extratos. 3. Metabolismo secundário. I. Farias Barcelos, Monique Ellen. II. Zanandrea, Ilisandra. III. Título.

FLORINE ALVES DE SOUSA PINHEIRO

**POTENCIAL ALELOPÁTICO E ANÁLISE FITOQUÍMICA DE
EXTRATOS DE FOLHAS DE EUCALIPTO (*Eucalyptus sp.*) E
MANGUEIRA (*Mangifera indica L.*)**

Monografia apresentada à Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de licenciado em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Ilisandra Zanandrea – Orientadora
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr^a Alana das Chagas Ferreira Aguiar – 1º Examinador
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. Wanderson Silva Pereira – 2º Examinador
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

São Luís, Fevereiro de 2020

“... Ebenézer, e disse: Até aqui
nos ajudou o Senhor”.

1 Samuel 7:12

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por todo o seu cuidado e providência em minha vida e por ter dado força e esperança para nunca desistir.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pela infraestrutura e oferta do curso de Ciências Biológicas. Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), Projeto de extensão semeando saberes (PROEX/UFMA), Bolsa Foco Acadêmico/UFMA e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação á docência subprojeto Biologia São Luís (PIBID) pelas bolsas de iniciação científica, que me permitiram aprofundar os conhecimentos científicos e estabelecer contato mais íntimo com a pesquisa acadêmica.

À professora Dra. Ilisandra Zanandrea pela a oportunidade de trabalhar com plantas quando nem tínhamos laboratório, foram diversas situações vivenciadas, entre lutas e vitórias nas quais já passamos, obrigada por toda a orientação ao longo desses anos.

Ao professor Dr. Juliano dos Santos que diversas vezes ajudou nos trabalhos realizados desde coletas de materiais até como nas escritas e sendo sempre gentil e bem humorado.

À minha família, pelo apoio incondicional em todos os momentos e compreensão neste caminho, desde o ingresso até o final da graduação. Em especial à minha mãe Lizete Maria por sempre estar ao meu lado em todos os momentos, por sempre me apoiar em todas as decisões, a e minha sobrinha Andrylle e aos meus irmãos Lidynaize e Leandro que foram compreensivos nessa jornada acadêmica, e ao meu pai João Batista pelo suporte durante a minha caminhada acadêmica, os meus sinceros agradecimentos.

Agradeço ao laboratório de fisiologia vegetal e anatomia (LABFAV), pela a infraestrutura para realização dos ensaios laboratoriais tão necessários para o presente trabalho, e pela ajuda dos técnicos de laboratório Enielson Fernandes e Renata Adélia.

Ao longo destes quase cinco anos de laboratório, tive o privilegio de cultivar amizades que pretendo levar para o resto da vida. Tivemos bons momentos a serem lembrados como trabalhos, experimentos, passeios, conhecer o Rio de Janeiro, lanches, brincadeiras. Enfim, tudo que possamos vou lembrar com carinho que o tempo que passei ali,

dedicando-me foi envolvido de amor e carinho por Karina, Lukas, Nagella, Amanda Laís, Joyce, Raiza, Lule, Cicero, Ana Carolina. Em especial a Amanda Cristine pela parceria, dedicação em todas as etapas experimental até a finalização, que foi de suma importância.

Aos professores Bruno Barreto, Claudia Rocha e Monique Ellen pelas contribuições e dicas para a finalização deste trabalho, pois, foram essenciais com a assistência prestada.

Ao meu namorado Clarence por todo amor, paciência, ajuda e apoio em todos os momentos nessa jornada.

Aos amigos que tive o privilegio de conhecer nessa etapa da graduação como Jesiel, Rafaela, Yuri, Valesca, Isac, Filipe.

Por fim, a todos aqueles que colaboraram direta e indiretamente na conclusão deste trabalho. Palavras nunca serão suficientes para expressar toda a minha alegria e gratidão neste momento.

RESUMO

As plantas apresentam substâncias, provenientes do seu metabolismo secundário, que podem ser liberadas no ambiente chamadas de compostos aleloquímicos. Estes compostos podem interferir no crescimento inicial da planta, de forma a inibir ou acelerar o crescimento do vegetal. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de extratos aquoso e etanólico de folhas de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica* L. colocadas em germinação com o organismo teste *Allium cepa* L., por meio de bioensaios em laboratório. O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, com quatro tratamentos, sendo divididos em duas partes: extratos aquosos e extratos etanólicos de folhas de eucalipto e mangueira, com seis concentrações para cada uma: 0, 6, 12,5, 25, 50, e 100%, com três repetições por tratamento, e 20 sementes por placa. Foi avaliada a porcentagem de germinação de sementes (%), velocidade média de germinação (VMG), índice de germinação (IG%), tempo médio de germinação (TMG), índice de alelopatia (IA%), crescimento radicular médio (CRM), índice de velocidade de crescimento de raiz (IVCR). Os extratos aquoso e etanólico de folhas de eucalipto promovem queda na taxa de germinação de sementes de cebola, independente da concentração. No extrato etanólico essa redução foi progressiva, diminuindo com o aumento da concentração testada. O extrato aquoso de folhas de mangueira faz com que a germinação diminua em todas as concentrações testadas, produzindo uma acentuada redução a 50% de concentração. Já o extrato etanólico de mangueira causa essa redução acentuada já a partir da menor concentração testada. Os extratos aquosos e etanólicos de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica* L. apresentam efeito alelopático na germinação das sementes de *Allium cepa* L.

Palavras-chave: Crescimento, Extratos, Aleloquímicos.

ABSTRACT

The plants present substances deriving from its secondary metabolism, which can be released into the environment called allelochemical compounds. These compounds can interfere with the initial growth of the plant, in order to inhibit or accelerate the growth of the plant. The objective of this work was to evaluate the allelopathic potential of aqueous and ethanolic extracts from leaves of *Eucalyptus* sp. and *Mangifera indica* L. placed in germination with the test organism *Allium cepa* L., through laboratory bioassays. The experiment was carried out at the Laboratório de Fisiologia e Anatomia Vegetal (Physiology and Plant Anatomy Laboratory) of the Universidade Federal do Maranhão (UFMA). The experimental design used was in completely randomized blocks, with four treatments, being divided into two parts: aqueous extracts and ethanolic extracts of eucalyptus and mango leaves, with six concentrations for each: 0, 6, 12.5, 25, 50, and 100%, with three replicates per treatment, and 20 seeds per plate. The percentage of seed germination (%), average germination speed (VMG), germination index (IG%), average germination time (TMG), allelopathy index (IA%), average root growth (CRM), and root growth rate index (IVCR) were evaluated. The aqueous and ethanolic extracts of eucalyptus promote a decrease in the germination rate of onion seeds, regardless of the concentration. In the ethanolic extract, this reduction was progressive, decreasing with the increase of the tested concentration. The aqueous extract of the mango leaves causes germination to decrease in all concentrations tested, producing a marked reduction at 50% concentration. The ethanolic mango extract causes this marked reduction starting from the lowest concentration tested. The aqueous and ethanolic extracts of *Eucalyptus* sp. and *Mangifera indica* L. present an allelopathic effect on the germination of *Allium cepa* L. seeds.

KEY WORDS: Growth, Extracts, Allelochemicals.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 UTILIZAÇÃO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL.....	12
2.3 ALELOPATIA NA AGRICULTURA.....	14
2.4 PLANTAS DE ESTUDO	15
REFERÊNCIAS	17
ARTIGO	23
RESUMO	24
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO	45

1. INTRODUÇÃO

O Brasil está investindo em métodos alternativos para solucionar e controlar doenças e pragas presentes nas plantações, utilizando produtos naturais como possíveis biocidas (DIETRICH et al. 2011). Em produção agrícola é possível ocorrer diversos danos à plantação decorrente de indivíduos como insetos ou até mesmo por plantas que disputam ou prejudicam o crescimento de outras culturas, resultando em perdas na produção e modificações nas características finais do produto (MACHADO, 1987).

Entre os anos de 2014 e 2015, o volume de produtos orgânicos no Brasil cresceu 51,7% (Brasil, 2015), a partir da criação da Política Nacional de Agroecologia e Agricultura Orgânica (PLANAPO), que objetiva ampliar e fortalecer a produção, manipulação e processamento de produtos orgânicos e de base agroecológica, em que o público principal são os agricultores/as familiares, assentados/as da reforma agrária, povos e comunidades tradicionais e suas organizações econômicas, micro e pequenos empreendimentos rurais, cooperativas e associações, incluindo a agricultura urbana e periurbana (BRASIL, 2012). Foi esperado que até 2015 ocorressem transformações no perfil da agricultura brasileira, como o aumento do número de consumidores, modificações de hábitos alimentares e maior procura por produtos agropecuários melhores, seguindo uma moda global (QUIRINO; RODRIGUES; IRIAS, 2006).

Os alimentos produzidos por meio de técnicas agrícolas alternativas, principalmente sem o uso de produtos químicos, têm maior preferência entre os consumidores. Quanto a isso, o desenvolvimento agrícola vem sofrendo grande influência das implicações geradas pela sustentabilidade, e, assim, incorporando noções da produção orgânica e de tecnologias que sejam menos agressivas ao ambiente (CARVALHO, 2012). O objetivo da agricultura ecológica é a eliminação de produtos químicos agrícolas, através de mudanças no manejo que garantam a adequada nutrição e proteção das plantas, por meio de adubação orgânica (ALTIERI, 2012). Somado a isso, a utilização de derivados de plantas pode atuar na proteção fitossanitária sustentável, substituindo agrotóxicos sintéticos (TIILIKKALA et al., 2011).

O ser humano vem adquirindo conhecimento sobre muitas espécies botânicas, e tem se observado que algumas espécies influenciam no crescimento de outras, porém as respostas para essas reações nas plantas eram de difícil interpretação (VIANA et al. 2001).

Determinadas espécies de plantas apresentam substâncias denominadas de aleloquímicos que podem influenciar no desenvolvimento de indivíduos vegetais de

forma negativa ou positiva. Essas substâncias podem ser produzidas em todas as partes do vegetal, tendo origem no metabolismo primário ou secundário, sendo que sua produção é regulada por fatores ambientais, como intensidade luminosa, temperatura, disponibilidade de água, nutrientes presentes no solo, textura do solo e presença de microrganismos (CHOU & KUO, 1986; CARMO et al., 2007).

O efeito alelopático pode ser definido como a interferência positiva ou negativa de compostos químicos produzidos por uma planta sobre outros organismos (plantas, fungos, insetos e algas) (BORGHETTI & FERREIRA, 2004). De acordo com Gomes et al. (2013), as substâncias aleloquímicas podem interferir nas plantas superiores suprimindo a germinação, causando injúrias durante o processo de crescimento da raiz e meristemas, inibindo assim, o desenvolvimento da planta.

O conceito mais respeitado é o determinado pela Sociedade Internacional de Alelopatia (em inglês IAS) que foi criada em 1996, onde definiu o termo como a ciência que estuda qualquer processo em que abrange, principalmente, compostos secundários criados por vegetais, algas, fungos e bactérias que interferem no desenvolvimento e expansão dos sistemas agrícolas e biológicos, resultando em efeitos benéficos ou maléficos (MACIAS et al., 2000, REIGOSA et al., 2013).

Os compostos alelopáticos podem ser liberados pelas plantas através das flores, frutos, sementes, seiva das folhas verdes, lixiviados de folhas secas, deterioração dos restos das plantas ou até mesmo as raízes pelo processo de exsudação. Nas plantas, os principais aleloquímicos são provenientes de metabolismo secundário podendo apresentar substâncias voláteis, fenóis, terpenos, alcalóides e poliacetilenos (GLIESSMAN, 2005; RIZVI; RIZVI, 1992; SOUZA-FILHO, 2006). O isolamento de compostos químicos presente nas plantas é uma das alternativas mais promissoras para a agricultura por apresentar efeitos negativos ou positivos sobre as plantações (LI et al., 2011).

Atualmente, os estudos com alelopatia têm gerado discussões e, para reforçar a qualidade das pesquisas, tem buscado incluir aspectos químicos, fisiológicos e ecológicos e aperfeiçoamento quanto aos trabalhos publicados, sendo estes mais modernos e com metodologias mais eficientes (BLAIR et al., 2009).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 UTILIZAÇÃO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL

No ano de 2008, o Brasil se tornou o maior consumidor mundial de agrotóxicos, superando os Estados Unidos (CASSAL et al., 2014). Enquanto o comércio mundial de agrotóxicos nos últimos dez anos cresceu 93%, no Brasil aumentou cerca de 90%. Os produtores rurais utilizaram praticamente como único recurso o uso de agrotóxicos para compensar as perdas na produtividade causada pela degradação do solo e controlar o surgimento de pragas e doenças (ABRASCO, 2012).

O mercado nacional movimentou, em 2010, em torno de U\$ 7,3 bilhões e representou 19% do mercado global de agrotóxicos (SINDAG, 2012). Outro motivo desse grande aumento do consumo de agrotóxicos se deve ao incentivo fiscal por meio da isenção de impostos e diminuição dos preços, encorajando a maior utilização pelos agricultores (PIGNATI; MACHADO, 2011).

Entre as regiões consumidoras de agrotóxicos, o estado do Mato Grosso lidera o uso, representando 18,9% do consumo nacional, seguido de São Paulo (14,5%), Paraná (14,3%), Rio Grande do Sul (10,8%), Goiás (8,8%), Minas Gerais (9,0%), Bahia (6,5%), Mato Grosso do Sul (4,7%) e Santa Catarina (2,1%). O consumo de agrotóxicos se dá em 27% das pequenas propriedades de 0 a 10 hectares, 36% das propriedades de 10 a 100 hectares e 80% das propriedades maiores de 100 hectares usam agrotóxicos (IBGE, 2010).

Esses agrotóxicos possuem concentração de utilização por Estado no Brasil, onde as regiões de maior intensidade são as de monoculturas de milho, soja, cítricos, cana, arroz e algodão (BOMBARDI, 2011).

Os herbicidas representam 45% do total de agrotóxicos comercializados, seguido dos fungicidas (14%), inseticidas (12%) e as demais categorias de agrotóxicos correspondem a 29% do mercado nacional (ANVISA, 2012). O agrotóxico mais utilizado é o herbicida conhecido como glifosato, representando aproximadamente 40% do consumo de agrotóxicos no Brasil (ABRASCO, 2015).

Conforme o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos da Anvisa (2011), a análise de amostras coletadas em todos os estados brasileiros mostrou que um terço dos alimentos consumidos diariamente pelos brasileiros está contaminado por agrotóxicos (ANVISA, 2011).

A perspectiva agroecológica demonstra que a regulação das populações de organismos espontâneos é mantida através de paisagens rurais biologicamente diversificadas, evitando-se, assim, a explosão populacional de espécies espontâneas, denominadas de plantas daninhas, tornando o uso de agrotóxicos desnecessário (ABRASCO, 2015).

2.2 METABOLISMO VEGETAL SEGUNDÁRIO

Os metabólitos secundários são produzidos por meio de diversas interações específicas e resultados entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação (WINK, 1990, SIMÕES et al., 2010). Grande parte dessas substâncias alelopáticas é originária do metabolismo secundário de plantas, possuindo a função de proteção e defesa. Isto porque durante a evolução das plantas, estes compostos apresentaram eficiência contra a ação de diferentes microrganismos, insetos e vírus, estimulando o desenvolvimento e o crescimento da planta ou inibindo a ação destes patógenos e predadores (BORGHETTI & FERREIRA, 2004).

Alguns compostos químicos possuem importância no estudo de potencial alelopático tal como as saponinas, que podem ser formadas por triterpenoides glicosilados com cadeia polissacarídica hidrofílica ou por esteróides hidrofóbicos, característica que lhes conferem a propriedades detergente e, conseqüentemente, a capacidade de ligação a membranas celulares, afetando o funcionamento celular (RIZVI & RIZVI, 1992; KOKATE, 1999). E essas substâncias também são consideradas bioativas, por apresentar habilidade de interação com células ou até tecidos apresentando atividade biológica (MONTEIRO & BRANDELLI 2017).

Outra classe de interesse alelopático são os flavonóides, presentes nas plantas em diversas formas e com variadas funções. Envolvendo os flavonoides, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, proantocianinas, isoflavonoides, e outros tipos. Além das funções de pigmentos, atrativos ou repelentes de herbívoros, proteção contra radiação UV, estas substâncias apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir o crescimento de plantas (SAKIHAMA et al., 2002; SHIMOJI & YAMASAKI, 2005).

Os taninos apresentam habilidade em ligar se as proteínas, normalmente sendo irreversível, formando precipitados. Estão envolvidos na proteção da planta contra o ataque de herbívoros. Os taninos são responsáveis pelo sabor adstringente e difícil digestão, já que as enzimas digestivas não conseguem metabolizar esses precipitados (CÂNDIDO, 2007; SILVA, 2007).

Os terpenóides são insolúveis em água e encontrados em resinas, ceras, látex e óleos essenciais. As plantas produzem uma grande variedade dessas substâncias, que atuam como reguladores de crescimento, fitoalexinas e repelentes para insetos herbívoros (MAIRESSE et al., 2007).

Os derivados fenólicos são estruturas com anel aromático e grupos hidroxila, originados a partir da fenilalanina. Agem no combate contra herbívoros e patógenos, na atração de polinizadores, na proteção contra o excesso de radiação solar e na associação simbiótica. Os compostos fenólicos compreendem o maior grupo de metabólitos identificados como alelopáticos (ALVES et al., 2004; CARMO et al., 2007).

Os alcalóides são originados a partir da fenilalanina, tirosina, triptofano e lisina (INDERJIT et al., 2006). Compreendem mais de 12.000 estruturas já descritas, ficando atrás apenas dos terpenóides. Aproximadamente 20% das espécies vegetais acumulam alcalóides, moléculas caracterizadas pelo baixo peso molecular.

A liberação destes compostos no ambiente ocorre, por meio da volatilização, lixiviação, exudação radicular e decomposição de resíduos de plantas no solo (RIZZARDI et al., 2008, BORELLA & PASTORINI 2009). A dissipação é comum em vegetais aromáticos e os aleloquímicos volatilizados são de difícil detecção ou identificação. Geralmente, destacam-se os terpenos, etileno, entre outros. Estes compostos podem ser facilmente liberados pelas folhas ou outras partes da planta e podem afetar diretamente o crescimento ou desenvolvimento de plantas que se encontram próximas (SOUZA et al., 2006).

Dentre espécies conhecidas por liberarem compostos alelopáticos estão o eucalipto e a mangueira (YAMAGUSHI et al. 2011, MULLER et al. 2017).

2.3 ALELOPATIA NA AGRICULTURA

O efeito alelopático pode interferir no desenvolvimento de plantas e microrganismos quando expostos a dosagens específicas dependendo do tipo de planta, e algumas espécies podem acelerar o crescimento de outras plantas. Os compostos secundários são responsáveis por desenvolver em determinadas espécies mecanismos de defesa contra herbivoria, patógenos e pragas. E plantas com potencial alelopático em estágio de decomposição conseguem liberar substâncias presente em suas estruturas ao meio podendo apresentando danos ou vantagens para o crescimento de outras espécies (ALMEIDA, 1991; GLEISSMAN, 2005).

Os efeitos alelopáticos em sistemas agrícolas são importantes em pesquisas e produção de culturas, para trazer soluções com substâncias naturais sem causar danos ao meio ambiente, e trazendo respostas para situações de perdas nas culturas sendo um método eficiente na agronomia (SOUZA FILHO, 2006; GOLDFARB et al., 2009).

Na produção agrícola, é comum presenciar danos causados por indivíduos nas culturas, ou observar interferência por outras plantas que pode induzir ou inibir o crescimento da espécie esperada. Como consequência é possível que ocorra a diminuição da colheita e da qualidade do produto final. Para combater e prevenir esses danos, métodos alternativos naturais estão sendo utilizados no Brasil e em outros países (MACHADO, 1987. DIETRICH et al. 2011).

Diversas vezes o fenômeno da alelopatia é confundido com competição, pois em muitas situações ambos influenciam no crescimento ou desenvolvimento da espécie próxima (SILVA, 2012). Contudo, na alelopatia ocorre com a junção de um fator biológico ao ambiente, já na competição, há remoção ou redução de algum fator ambiental (água, luz, nutrientes, etc.), necessário para o crescimento de ambos os vegetais que os disputam (ZANINE; SANTOS, 2004).

2.4 PLANTAS DE ESTUDO

Eucalyptus sp. (Eucalipto) pertence à família Myrtaceae e é cultivado para obtenção de madeira como combustível, celulose para fabricação de papel e para extração do óleo essencial para fins medicinais. O óleo essencial apresenta o eucaliptol, acompanhado de vários monoterpenos, sesquiterpenos, taninos, dentre outros metabólitos secundários, com propriedades medicinais. Ferreira e Áquila (2000) e Goetze e Thomé (2004) relatam que várias espécies de *Eucalyptus* são consideradas alelopáticas, e o cultivo dessas espécies têm sido conduzido visando o controle de plantas invasoras.

Mangifera indica L. (Mangueira) é uma espécie pertencente à família Anacardiaceae, originária da Índia, conhecida popularmente como mangueira (PIEROZZI & ROSETTO, 2011). Apresenta diferentes classes de compostos fenólicos tais como ácidos e ésteres, derivados da benzofenona, flavanóis, antocianinas, heterosídeos flavonóis e heterosídeo xantônico (SELLÉS et al. 2002, BERARDINI 2005, ABDALLA et al., 2007, BARRETO et al., 2008).

2.5 ORGANISMO TESTE

A espécie *Allium cepa* L. apresenta importância medicinal e econômica, e é muito utilizada em testes por ser um modelo muito sensível na detecção de diversas substâncias que podem causar diferentes alterações cromossômicas, e tem custo baixo para realização dos experimentos (BAGATINI et al., 2007). Os aleloquímicos promovem mudanças que afetam diretamente a sua divisão celular, culminando na inibição do desenvolvimento e crescimento das plantas e outros organismos. Porém, diversos estudos são necessários para comprovar qual a sua ação nas plantas afetadas.

O teste com *A. cepa* é adequado e eficiente modelo in vivo, pois as raízes crescem em contato direto com as substâncias selecionadas, para que os possíveis danos ao DNA possam ser vistos nas células. E os dados podem ser explorados para todos os animais e plantas da biodiversidade (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE IV, 2012). Além disso, esses testes são capazes de demonstrar resultados de toxicidade, padrões macroscópicos que se baseiam no aparecimento de tumores, raízes torcidas e avaliação de crescimento de raízes, e parâmetros microscópicos, como os índices mitóticos, para análise de taxa de divisão celular e modificações cromossômicas (CUCHIARA et al., 2012).

REFERÊNCIAS

ABDALLA, A.E.M. et al. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. **Food Chemistry**, v.103, p.1134-1140, dez. 2007.

ALMEIDA, F. S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 221-236, fev. 1991.

ALVES, P. L. C. A.; TOLEDO, R.E.B. & GUSMAN, A. B. Allelopathic potential of Eucalyptus spp. In: NARWAL, S.S. (Ed.) Allelopathy Update. Enfield, **Science Pub.** v.2, p.131-148, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. **Dôssie ABRASCO - Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**, ABRASCO, Rio de Janeiro, 2^a Parte. pp 1–137. Jun. 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, 2015.

BRASIL, ANVISA **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA)**: Relatório de atividades de 2010. Brasília, ANVISA. 26p. 2011.

BRASIL, ANVISA. **A regulação e o mercado de agrotóxicos no Brasil**. I Semana de vigilância Sanitária no Congresso Nacional. A ANVISA e o Desenvolvimento Social e Econômico no Brasil, 2012. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/semanadevisa/doc/anvisadebate.pdf>. Acesso em: 26 out. 2019.

BARRETO, J.C. et al. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5599-5610, jul. 2008.

BERARDINI, N. et al. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 53, n. 5, p.1563-1570, fev. 2005.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 3, p. 67-75, set. 2009.

BAGATINI, M.D. et al. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, set. 2007.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. **Germinação: do básico ao aplicado**, Porto Alegre, p.209-222, 2004.

CARMO, F. M. S; BORGES, E. E. L; TAKAKI, M. M. Alelopatia de extratos aquosos de canelas assafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, vol. 21, n. 3, p. 697-705, 2007.

CHOU, C.H. The role of allelopathy in subtropical agroecosystem in Taiwan. In: Putnam, A.R.; Tang, C.S. (Eds.). **The science of allelopathy**. New York : J. Wiley, p.57-73. 1986.

DIETRICH, F. et al. Utilização de inseticidas botânicos na agricultura orgânica de Arroio do Meio/RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, n. 2-4, p. 251-255, 2011.

FERREIRA, M. C. et al. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1054-1060, 2000.

GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 43-50, 2004.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 1, p. 23-28, 2009.

GOMES, F. M. et al. Efeito alelopático da fitomassa de *Lupinus angustifolius* (L.) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *Zea mays* (L.) e *Bidens pilosa* (L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 1, abr. 2013.

GLIESMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 3. ed. Porto alegre: UFRGS, 2005, p.312.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. SIDRA. Censo 2010. Disponível em:<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-demografico/demografico2010/inicial>. 2010/inicial Acesso em: 05 nov. 2019.

INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. **The Botanical Review** v.62, p.186-202. 1996.

KOHLI, A. et al. Molecular characterization of transforming plasmid rearrangements in transgenic rice reveals a recombination hotspot in the CaMV 35S promoter and confirms the predominance of microhomology mediated recombination. **The plant journal**, v. 17, n 6, p. 591-601, mar. 1999.

KOKATE, C.K. Phytochemical Methods. **Phytotherapy**, v.78, p. 126-129, 1999.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. 3. ed. São Carlos: Rima, 2006. 550 p.

LI, J. et al. Potential allelopathic effects of volatile oils from *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl on wheat. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 56-63, 2011.

MACHADO, P. A. O homem e os insetos, passado, presente, futuro. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.21, n.6, p.474-479, 1987.

MAIRESSE, L.A.S. et al. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista da FZVA**, v.14, n.2, p.1-12, 2007. .

MONTEIRO, S.C.; BRANDELLI, C.L.C. **Farmacobotânica Aspectos Teóricos e Aplicação**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

MULLER, F. et al. Potencial alelopático de folhas de manga (*Mangifera indica*) sob a germinação, emergência e desenvolvimento inicial de plantas de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 6, n. 5, p. 159-165, 2017.

PIEROZZI, N.I. & ROSSETTO, C.J. Chromosome characterization of two varieties of *Mangifera indica* L. **Revista Brasileira de Fruticultura**, volume especial: 546-551, 2011.

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2nd ed., New York, Academic Press, 1984.

RIZVI, S. J. N.; RIZVI, V. **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p.480.

RIZZARDI, M. A. et al. Controle de plantas daninhas em milho em função de épocas de aplicação de nitrogênio. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 113-121, 2008.

SAKIHAMA, Y., et al. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics induced oxidative damage mediated by metals in plants. **Toxicology**, v.177, n. 1, p. 67-80, 2002.

SELLÉS, A.J.N. et al. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 4, p. 72-76. 2002.

SHIMOJI, H.; YAMASAKI, H. Inhibitory effects of flavonoids on alternative respiration of plant mitochondria. **Biologia Plantarum**, v. 49, p. 117-119, 2005.

SILVA, J. P., CROTTI, A. E. M.; CUNHA, W. R. Antifeedant and allelopathic activities of the hydroalcoholic extract obtained from Neem (*Azadirachta indica*) leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 4, p. 529-532, 2007.

SILVA, P. S. S. Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. **Revista Biotemas**, v.25, n. 3, p.65-74, 2012.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: UFSC, 2010. p. 410.

SOUZA FILHO, A.P.; RODRIGUES, R.A.; RODRIGUES, T.J.D. Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.2, p.165-170, fev. 2006.

SOUZA-FILHO, A. P. da S. Alelopatia e as plantas. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2006. 159 p.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The Allium cepa Test. **Environmental Contamination**. Croatia: Jatin Kumar Srivastava, 2012. P. 137-149. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=DYufDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA137&dq=Bioindicator+of+Genotoxicity:+The+Allium+cepa+Test,+Environmental+Contamination,+Dr.+Jatin+Srivastava&ots=3B6RJ0WqkG&sig=w7pzhAe3bUC_7fPBVYlax6oh7X0#v=onepage&q&f=false. Acesso em: out. 2019.

VIANA, E. M. et al. **Estudo do efeito alelopático da cultura de aveia sobre a cultura do milho**. Projeto, Campo Grande, 2001. p. 1-5.

WALLER, G.R.; FEUG, M.C.; FUJII, Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) *Principles and practices in plant ecology*. Boca Raton, CRC Press, 1999. p.75-

YAMAGUSHI, M. Q.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, V. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* Labill e *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. **Ciências Agrárias**. V. 32, n. 4, p. 1361-1374, 2011.

ARTIGO

Alelopatia e Fitoquímica de extratos de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica L.* na germinação de sementes de *Allium cepa L.*

A ser submetido à Revista African Journal of Plant Science

Florine Alves de Sousa Pinheiro ¹ e Ilisandra Zanandrea ²

1-2 Departamento de Biologia - Universidade Federal do Maranhão, Cidade Universitária

Dom Delgado, São Luís, Maranhão, Brasil

*Autor para correspondência: florinealvez0602@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de extratos aquoso e etanólico de folhas de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica* L. colocadas em germinação com o organismo teste *Allium cepa* L., por meio de bioensaios em laboratório. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, com quatro tratamentos, sendo divididos em duas partes: extratos aquosos e extratos etanólicos de folhas de eucalipto e mangueira, com seis concentrações para cada uma: 0, 6, 12,5, 25, 50, e 100%, com três repetições por tratamento, e 20 sementes por placa. Foi avaliada a porcentagem de germinação de sementes (%), velocidade média de germinação (VMG), índice de germinação (IG%), tempo médio de germinação (TMG), índice de alelopatia (IA%), crescimento radicular médio (CRM), índice de velocidade de crescimento de raiz (IVCR). Os extratos aquosos e etanólicos de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica* L. apresentam efeito alelopático, reduzindo a germinação das sementes de *Allium cepa* L.

Palavra – Chave: Alelopatia, Metabolismo secundário, Germinação.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the allelopathic potential of aqueous and ethanolic extracts from leaves of *Eucalyptus sp.* and *Mangifera indica* L. placed into germination with the test organism *Allium cepa* L., through laboratory bioassays. The experimental design used was in completely randomized blocks, with four treatments, being divided into two parts: aqueous extracts and ethanol extracts of eucalyptus and mango leaves, with six concentrations for each: 0, 6, 12.5, 25, 50, and 100%, with three replicates per treatment, and 20 seeds per plate. The percentage of seed germination (%), average germination speed (VMG), germination index (IG%), average germination time (TMG), allelopathy index (IA%), average root growth (CRM) and root growth rate index (IVCR) were evaluated. The aqueous and ethanol extracts of *Eucalyptus sp.* and *Mangifera indica* L. have an allelopathic effect, reducing the germination of *Allium cepa* L seeds.

KEY WORDS: Allelopathy, Secondary metabolismo, Germination.

INTRODUÇÃO

O aumento da degradação ambiental tem como principal causa o cultivo agrícola intensivo, e suas consequências incluem a erosão, o desmatamento, a utilização inadequada de insumos agrícolas, ineficiente utilização da água e lançamento de resíduos tóxicos (Santana, 2005). Contudo, as exigências dos consumidores estão mudando, principalmente através da busca de uma alimentação mais saudável que englobe os aspectos sociais e ambientais.

Uma alternativa aos defensivos agrícolas são os produtos naturais provenientes do metabolismo secundário das plantas (Grisi, 2010). Pesquisas sobre o efeito alelopático entre plantas pode promover a redução do impacto ambiental, bem como os custos da produção agrícola, sendo fundamental para o desenvolvimento de produtos naturais com atividade herbicida, que possam suprir as demandas desse mercado (Tokura; Nobrega, 2006; Imatomi, 2010).

O efeito alelopático pode ser definido como a interferência positiva ou negativa devido à liberação de compostos químicos produzidos por uma planta sobre outros organismos (IAS, 2012). Algumas espécies de plantas apresentam substâncias chamadas de aleloquímicos que podem ser liberadas ao ambiente de maneira que consegue interferir, inibindo ou acelerando o crescimento inicial de plantas (Ferreira & Aquila, 2000; Mano, 2006). Os compostos químicos geralmente são encontrados em todas as partes do vegetal, originando-se no metabolismo primário ou secundário, e sua produção é estruturada por condições ambientais, como luminosidade, temperatura, disponibilidade de água, nutrientes, textura do solo e presença de microrganismos (Kuo & Chou 1986; Carmo et al., 2007).

O desenvolvimento de herbicidas obtidos através de compostos secundários com efeitos alelopáticos provenientes de plantas, mesmo não sendo tão valorizado quanto os produtos naturais isolados de fungos e bactérias, pode levar à descoberta de substâncias com novas formas de ação e menor impacto ambiental, evitando a contaminação do ambiente e de alimentos (Blair et al., 2009).

Substâncias com potencial aleloquímico são opções em agrossistemas podendo atuar como herbicidas, inseticidas naturais e no combate de plantas daninhas (Teixeira et al., 2015). Os metabólitos secundários são associados a estratégias adaptativas das plantas ao meio, e atualmente vem sendo uma alternativa para o agronegócio por não prejudicar o meio ambiente (Pereira; Cardoso, 2012). O controle de plantas daninhas e outros

organismos em culturas que apresentam destaque no cenário econômico e ambiental é de suma importância.

No Brasil o *Eucalyptus sp.* (Eucalipto) é utilizado de diversas maneiras, para a fabricação de papel através da celulose, produção de carvão vegetal, extração de óleos essenciais e para fins medicinais. Goetze e Thomé (2004) relatam que várias espécies de *Eucalyptus* são consideradas alelopáticas, e o cultivo dessas espécies têm sido conduzidos visando o controle de plantas invasoras. Suas folhas apresentam grande quantidade de compostos secundários como monoterpenos, taninos, sesquiterpenos entre outros aleloquímicos que são responsáveis por possíveis efeitos alelopáticos. (Yamagushi et al. 2011, Ferreira & Aquila 2000).

A *Mangifera indica* L., conhecida popularmente como mangueira (PIEROZZI & ROSETTO, 2011), apresenta diferentes classes de compostos fenólicos tais como ácidos e ésteres, derivados da benzofenona, flavanóis, antocianinas, heterosídeos flavonóis e heterosídeo xantônico (Sellés et al. 2002, Berardini 2005, Abdalla et al., 2007, Barreto et al., 2008).

Deste modo, estudos experimentais com alelopatia contribuem para o entendimento sobre a dinâmica entre as espécies vegetais e elaboração de estratégias alternativas de produção e manejo de culturas (Souza-Filho et al., 2010). Isso se dá através da escolha de espécies que diminuam os custos de produção e o uso de agrotóxicos, amenizando os impactos que os mesmos causam no ambiente e culminando com uma agricultura sustentável (Goldfarb et al., 2009).

Tendo em vista a busca de alternativas de manejo mais sustentáveis e a escassez de trabalhos sobre os efeitos alelopáticos de espécies vegetais, torna-se fundamental os estudos que elucidem os processos de interferência no desenvolvimento e crescimento de outras espécies, a fim de auxiliar o manejo de plantas em comunidades agrícolas.

Devido à necessidade de descobertas de novas moléculas de herbicidas e métodos naturais que não causam danos ao solo e ao meio ambiente em geral, torna-se necessário o aprimoramento dessas metodologias alternativas (De Moraes et al., 2017). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático e perfil fitoquímico de extratos aquoso e etanólico de folhas de eucalipto (*Eucalyptus sp.*) e mangueira (*Mangifera indica* L.) sobre a germinação de sementes de *Allium cepa* L., através de bioensaios em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas folhas de *Mangifera indica* L. e *Eucalyptus sp.* na Universidade Federal Do Maranhão no Campus Dom Delgado, São Luís, Maranhão, Brasil. As folhas foram coletadas e secas em uma estufa com circulação de ar, a 40°C, por 48 horas, e posteriormente trituradas.

Para a obtenção do extrato aquoso, foi adicionado 100g de massa seca das folhas em 1L de água destilada, o qual permaneceu em infusão em temperatura ambiente, no escuro, por 72 horas. Após este período, o extrato foi filtrado em papel filtro e mantido em geladeira, ao abrigo da luz.

Para obtenção do extrato etanólico 95%, foi realizada a maceração das folhas secas utilizando etanol 95%, deixando a solução em infusão por 72h. Após, o solvente foi filtrado e teve seu volume reduzido em um rotaevaporador sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato bruto etanólico 95%. A determinação da massa seca deste extrato foi feita pelo método gravimétrico (Farmacopéia Brasileira, 2002).

Cada extrato bruto foi submetido a uma avaliação para obtenção do perfil das amostras, onde utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), no Laboratório de química e produtos naturais, Universidade Federal do Maranhão. Os extratos secos foram diluídos a 10 mg/mL em solvente HPLC. Posteriormente, alíquotas de 20 µL foram injetadas diretamente no HPLC-PDA com detecção a 254 nm. Utilizou-se um sistema HPLC modelo Shimadzu (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan), consistindo de um módulo de distribuição de solvente com uma bomba de pistão de duplo, detector UV-VIS (SPA-10A). A coluna utilizada foi Luna 5 µm C18 100 A (150 µm x 4.6 µm). Os solventes de eluição utilizados foram A (ácido acético 2% em água) e B (metanol). As amostras foram eluídas de acordo com o seguinte gradiente: 5% a 100% de B em 50 min. O fluxo foi de 1 mL / min. A temperatura da coluna foi de 20 °C e o volume de injeção da amostra foi de 20 µL. Os dados foram coletados e processados utilizando o software LC Solution (Shimadzu).

Para analisar o potencial alelopático, foram utilizadas cinco concentrações dos extratos: 100% (extrato bruto), 50%, 25%, 12,5%, 6% e zero (controle negativo, somente com água destilada). As sementes de *A. cepa* foram colocadas em placas de Petri, forradas com dois discos de papel de germinação embebido com três mililitros do devido tratamento, e colocadas para germinar em local com temperatura ambiente e fotoperíodo de 12h.

As variáveis analisadas foram: porcentagem de germinação de sementes (IG%), velocidade média de germinação (VMG), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), índice de alelopatia (IA%), crescimento radicular médio (CRM) e índice de velocidade de crescimento de raiz (IVCR) (MAGUIRE, 1962; BALSALOBRE et al., 2006). Logo após o processo de germinação da primeira raiz (protusão radicular), as placas foram fotografadas, por quatro dias, e analisadas em software gratuito Image J.

A germinabilidade das sementes baseia-se no conceito de germinação fisiológica citada por Marcos Filho (2005), que aponta o início da germinação com a embebição da semente e seu final com a protrusão da radícula. A contagem de sementes germinadas foi realizada a cada 12 horas. Para o comprimento da raiz foi medida a distância, em mm, do colo até o ápice meristemático.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, sendo a unidade experimental constituída por uma placa contendo 20 sementes. Todos os dados foram avaliados usando ANOVA, seguida do teste de Dunnett ($p < 0,05$), utilizando o software GraphPadPrism (*GraphPad Software, San diego, CA*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo a identificação dos principais componentes foi feita através da avaliação por HPLC-PDA dos extratos foliares de eucalipto e mangueira, e foi possível observar grande complexidade e diversidade na composição química da matriz, avaliada pelo grande número de picos eluídos ao longo da corrida cromatográfica.

O perfil cromatográfico do extrato etanólico de folhas de eucalipto apresenta baixo pico de ácidos fenólicos no início, e em maior quantidade picos contendo taninos ou resíduos e média concentração de flavonoides pelo fato de ser apolar, no final do espectro (Figura 1). Para o extrato aquoso foliar de eucalipto, foram predominantes flavonoides agliconas por apresentar solubilidade em solventes orgânicos apolares e, por possuírem caráter fenólico, em soluções aquosas alcalinas (Figura 2). Resultados semelhantes foram observados por Sivagurunathan (1997) e colaboradores, onde verificaram que os compostos químicos de três espécies de eucalipto (*E. citriodora*, *E. globulus* e *E. tereticornis*) e seu efeito sobre a cultura do tomate, presença de compostos fenólicos nos extratos de diferentes partes do eucalipto, os quais resultaram na redução ou inibição da germinação e comprovando os efeitos alelopáticos na hortaliça.

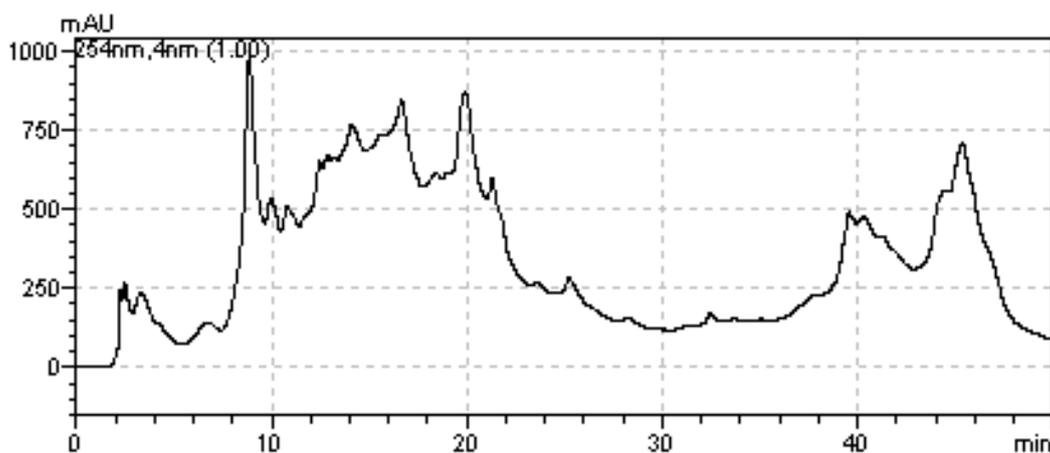


Figura 1: Perfil cromatográfico do extrato etanólico foliar de eucalipto (254nm)

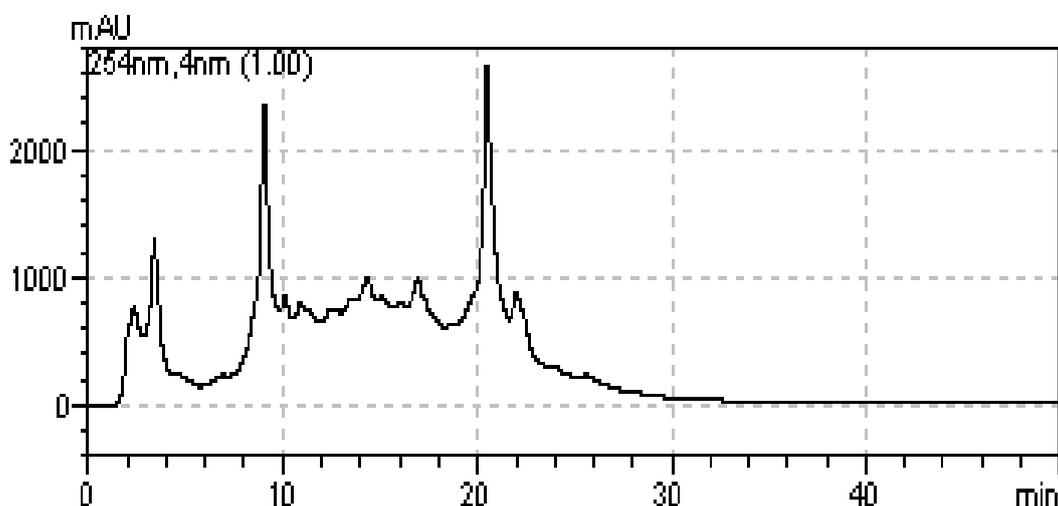


Figura 2: Perfil cromatográfico do extrato aquoso foliar de eucalipto (254nm)

Quando analisadas as características do Perfil cromatográfico do extrato etanólico de folhas de mangueira, verificou-se que apresenta baixo pico de ácidos fenólicos e ácido gálico, seguido por picos elevados contendo flavonoides glicosilizados e ácido fenólico, por apresentar polaridade em sua estrutura (Figura 3). A classe dos compostos fenólicos compreendem os fenóis simples, os ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), as cumarinas, os flavonóides (flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanonóis, flavan-3-óis e antocianidinas), os estilbenos, e muitos deles apresentam atividades biológicas (Sousa et al., 2007).

Os cromatogramas obtidos por HPLC-PDA mostram compostos com características relacionadas à presença de fenólicos, sendo a principal delas, os flavonoides e ácidos fenólicos. A comprovação da presença de flavonóides e derivados

de ácidos fenólicos foram constatados pelo aparecimento de espectros com bandas características dessas classes em todos os extratos analisados. Para os extratos aquosos e etanólicos foliar de mangueira predominou o os flavonoides glicosilados e os ácidos fenólicos (Figuras 3 e 4).

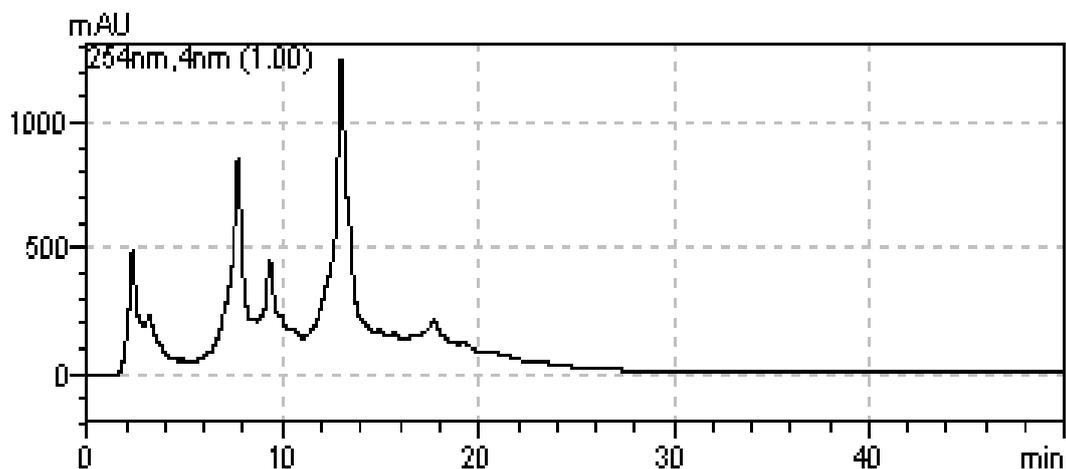


Figura 3: Perfil cromatográfico do extrato aquoso foliar de mangueira (254nm)

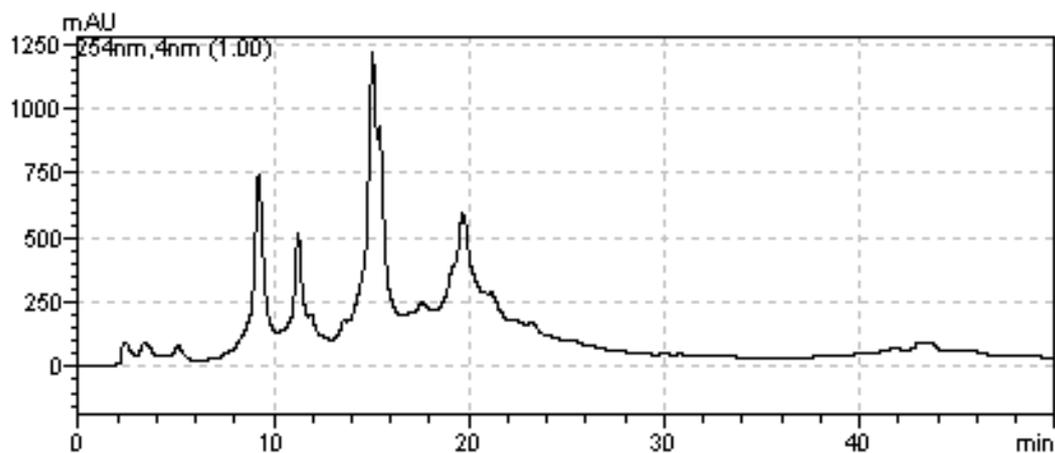


Figura 4: Perfil cromatográfico do extrato etanólico foliar de mangueira (254nm)

Os extratos aquosos de folhas de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica L.* apresentaram em sua estrutura pouca diferença entre si por serem mais polares e bastante diversificado em relação aos extratos etanólico analisados que são apolares. Os derivados de ácidos fenólicos sempre apresentam única banda de absorção que será referente ao sistema benzílico, com máxima na região do UV variando entre 260 – 280 nm. Os Flavonóides apresentam duas bandas de absorção referentes os sistemas aromáticos que são encontrados em agliconas: a Banda II, com máximos na faixa espectral de 240 -290

nm, atribuído ao anel A e a Banda I, com faixa máxima em espectral de 300 – 390 nm, atribuída ao anel. A Banda I é associada á absorção de anel B, que possui o sistema cinamoil com maior extensão de conjugação eletrônica. A Banda II é atribuída ao anel A, que envolve a absorção do sistema benzoil de menor conjugação (Figura 5).

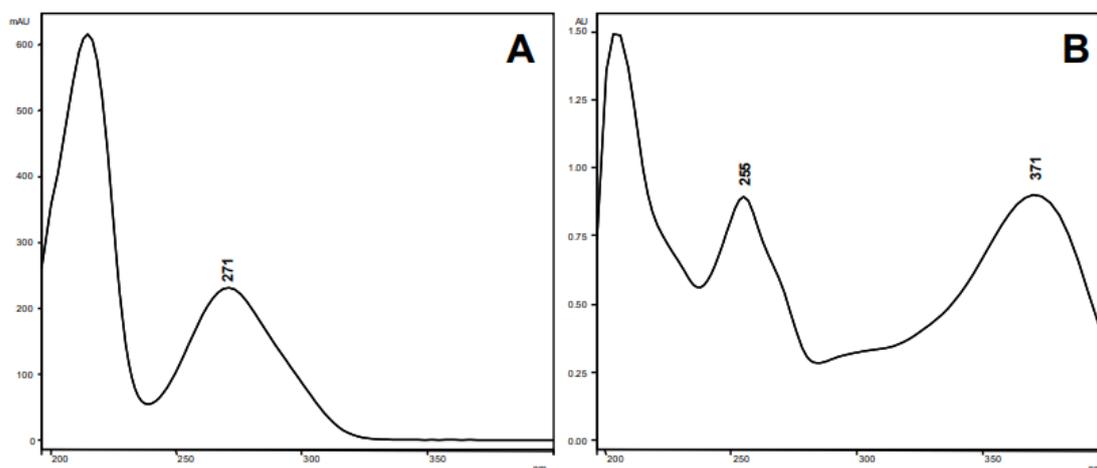


Figura 5: Espectros na região do UV para padrões de A) ácido gálico, B) quercetina.

O índice de germinação das sementes diminuiu em todas as concentrações de extrato testadas tanto para eucalipto quanto para mangueira (Tabela 1). Cabe ressaltar que a germinação das sementes foi altamente comprometida quando utilizada a concentração de 100% de extrato aquoso de eucalipto, ficando 64% menor que o controle. Quando utilizado extrato etanólico de folhas de eucalipto, houve redução progressiva com o aumento da concentração testada.

O índice de alelopatia quando apresenta resultados superiores a 50% são apontados como resultado significativo para o efeito alelopático, de forma que valores acima de 50% reflete na capacidade de germinação das sementes (Balsalobre et. al., 2006).

Em relação ao índice de alelopatia, foi possível observar que o extrato aquoso de folhas de eucalipto apresentou alelopatia negativa apenas nas dosagens de 12,5% e 100%. Em relação ao extrato etanólico de eucalipto, observou-se que todas as concentrações testadas apresentaram efeito alelopático (índice de alelopatia maior que 50%) (Tabela 1).

Tabela 1: Índice de germinação e índice de alelopatia de sementes de *Allium cepa* L. submetidas ao tratamento com diferentes concentrações de extrato aquoso e etanólico de folhas de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica* L.

Tratamentos	Extrato aquoso de eucalipto	Extrato etanólico de eucalipto	Extrato aquoso de mangueira	Extrato etanólico de mangueira
Índice de Germinação (%)	0 %	46,67 a	46,67 a	46,67 a
	6%	18,33 b	11,67 b	25,00 b
	12,5%	28,33 b	6,67 b	35,00 b
	25%	18,33 b	10,00 b	30,00 b
	50%	21,67 b	3,33 c	3,33 c
	100%	8,33 c	1,67 c	25,00 b
Índice de Alelopatia (%)	0%	0,00	0,00	0,00
	6%	0,00	53,33	50,00
	12,5%	-63,64	73,33	3,57
	25%	0,00	60,00	35,71
	50%	-18,18	86,67	92,86
	100%	54,55	93,33	42,86

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Dunnet ($\alpha < 0,05$).

Para o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), verificou-se que, apesar de não haver diferença estatística, as sementes germinaram mais lentamente com a concentração de 100% de extrato aquoso de eucalipto (Figura 6A). Quando utilizado extrato etanólico de eucalipto, houve uma diminuição drástica na velocidade de germinação das sementes, em todas as concentrações testadas, destacando que com a concentração de 100% de extrato o IGV houve uma queda expressiva em relação às demais concentrações (Figura 6B).

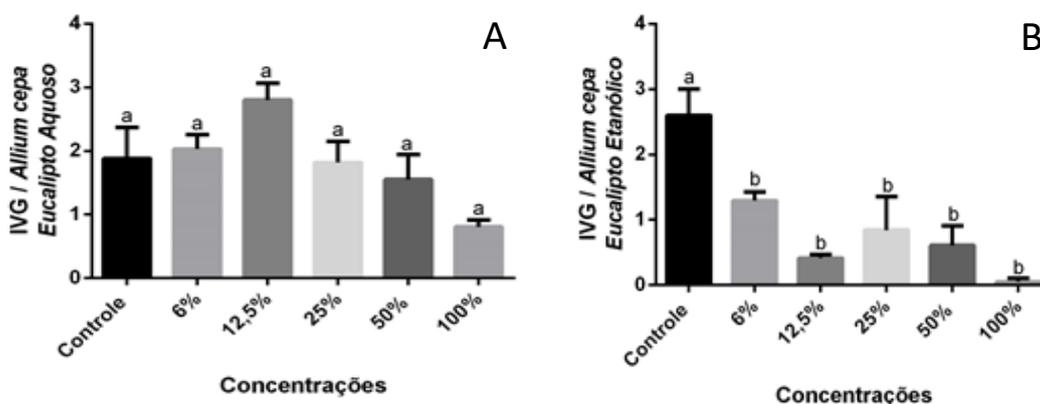


Figura 6: Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Allium cepa* com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de eucalipto (A) e extrato etanólico de folhas de eucalipto (B).

Não houve diferença no tempo médio de germinação (TMG) (Figura 7A e 7B) e na velocidade média de germinação (Figura 8A e 8B) das sementes tanto para o extrato aquoso quanto para o etanólico de eucalipto. Resultados parecidos foram analisados por Ferreira, Souza e Faria (2007), quando utilizaram extrato de *Eucalyptus citriodora* Hook e *Pinus elliottii* Engelm, em que não observaram diferença estatística na redução do percentual de germinação e no crescimento radicular quando testado em sementes de *Lactuca sativa* L. independentes das concentrações submetidas.

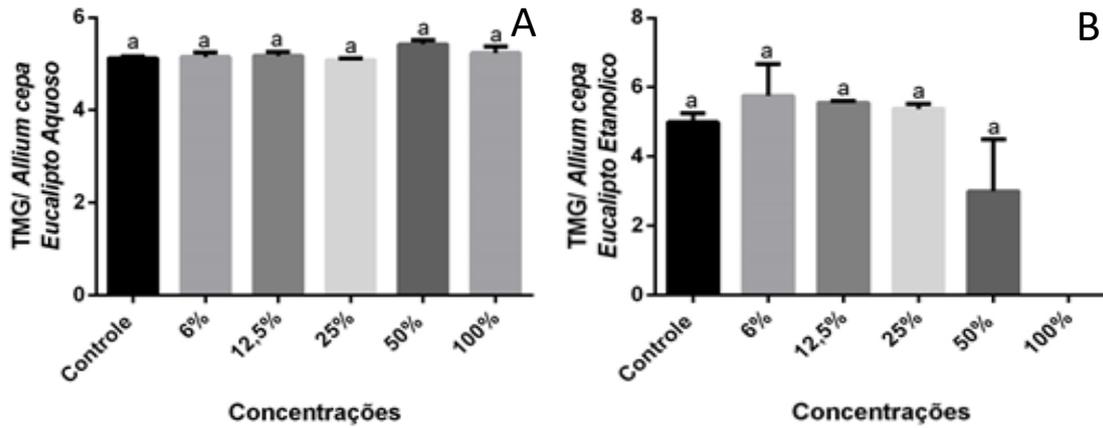


Figura 7: Tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *Allium cepa* com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de eucalipto (A) e extrato etanólico de folhas de eucalipto (B).

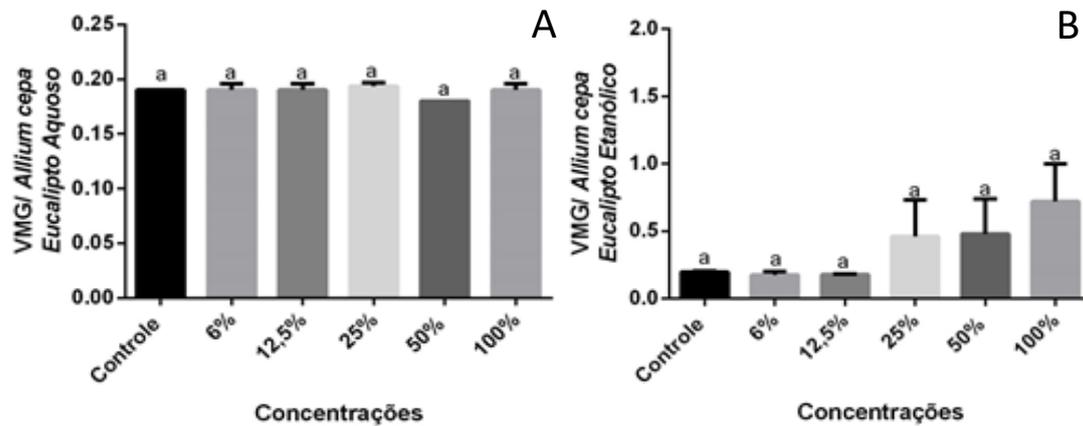


Figura 8: Velocidade média de germinação (TMG) de sementes de *Allium cepa* com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de eucalipto (A) e extrato etanólico de folhas de eucalipto (B).

Houve um estímulo no crescimento radicular (CRM) e no índice de velocidade de crescimento da raiz (IVCR) das sementes tratadas com extrato aquoso de eucalipto a 6%, enquanto que nas demais concentrações não houve diferença em relação ao controle (Figuras 9A e 10A). Quando tratadas com extrato etanólico de eucalipto, houve redução no comprimento radicular em todas as concentrações testadas, quando comparadas ao controle (Figuras 9B e 10B).

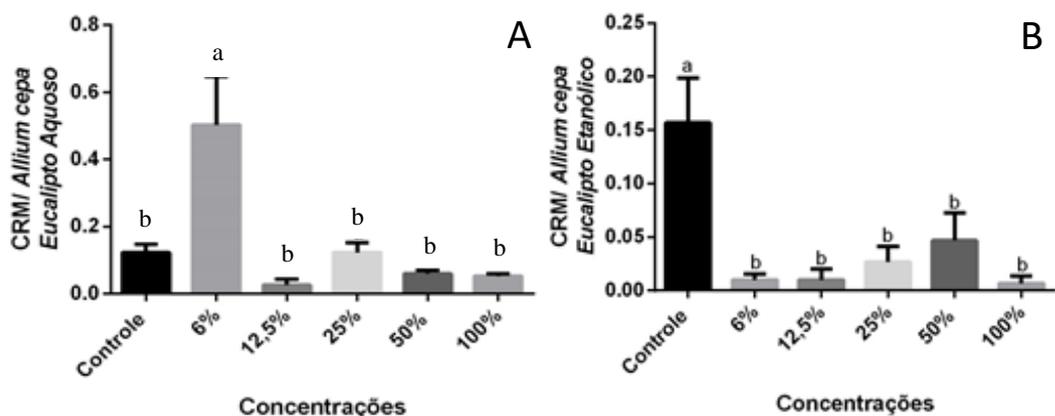


Figura 9: Crescimento radicular médio (CRM) de sementes de *Allium cepa* com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de eucalipto (A) e extrato etanólico de folhas de eucalipto (B).

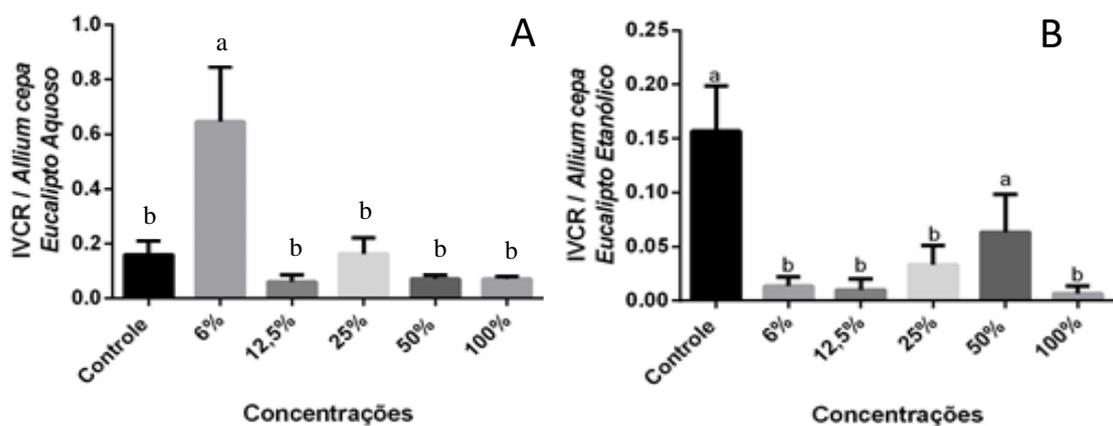


Figura 10: Índice de velocidade de crescimento radicular (IVCR) de sementes de *Allium cepa* L. com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de eucalipto (A) e extrato etanólico de folhas de eucalipto (B).

O extrato aquoso de mangueira fez com que a germinação diminuísse em todas as concentrações testadas, entretanto essa redução foi mais drástica com 50% do extrato, onde a germinação foi 72% menor que no controle. Já o extrato etanólico de mangueira causou uma drástica redução já na menor concentração testada (6%), impedindo completamente a germinação nas concentrações de 50% e 100% de extrato (Tabela 1).

Em relação ao índice de alelopatia, quando testado o extrato aquoso de mangueira, houve efeito alelopático negativo nas concentrações de 6% e 50%, enquanto que o extrato etanólico desta planta apresentou efeito alelopático em todas as concentrações testadas (Tabela 1). É importante ressaltar que essas diferenças podem estar relacionadas, além da ação do extrato, à qualidade fisiológica das sementes, pois mesmo no controle, onde foi utilizada somente água, a germinação não chegou a 50%, e que novos testes serão realizados para confirmar esses resultados.

O IVG das sementes foi menor nas concentrações de 50% e 100% do extrato aquoso de mangueira (Figura 11A). Quando testado o extrato etanólico, houve drástica redução desta variável em todas as concentrações testadas (Figura 11B), indicando a presença de substâncias que retardam ou inibem o processo de germinação de *A. cepa* L.

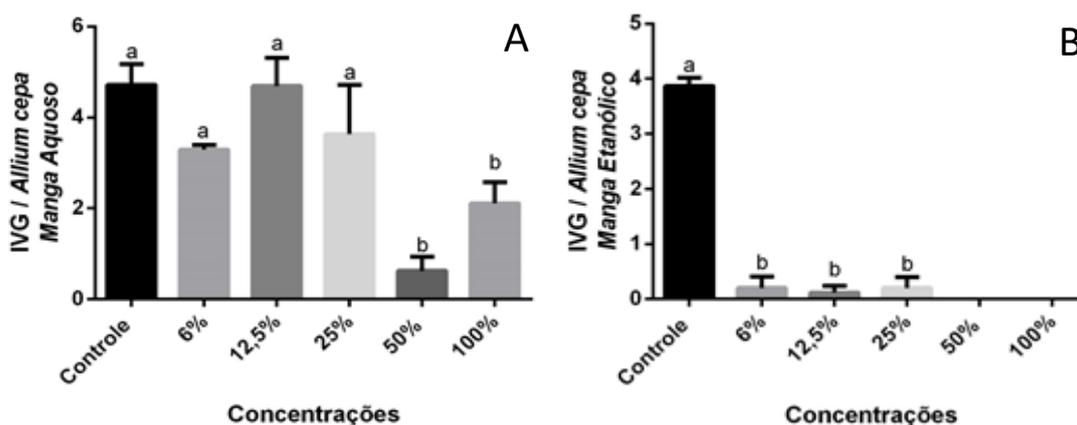


Figura 11: Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Allium cepa* L. com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de mangueira (A) e extrato etanólico de folhas de mangueira (B).

O crescimento radicular foi menor na concentração de 6% de extrato aquoso de mangueira, não diferindo do controle nas demais concentrações (Figura 12A). Por outro lado, houve um menor crescimento radicular com o extrato etanólico desta planta, em todas as concentrações testadas (Figura 12B).

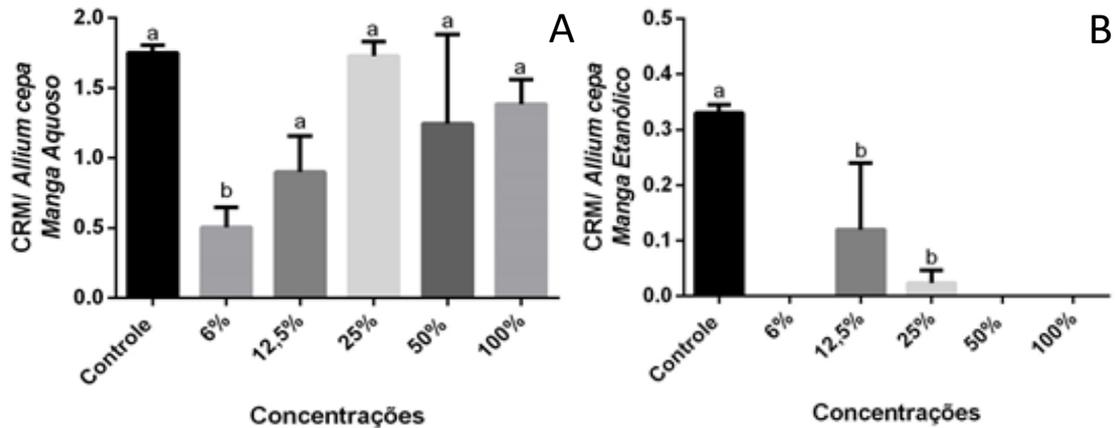


Figura 12: Crescimento radicular médio (CRM) de *Allium cepa* L. com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de mangueira (A) e extrato etanólico de folhas de mangueira (B).

Resultados semelhantes foram observados por Ferreira et al. (2008) quando avaliaram o efeito de extratos etanólicos de *Eucalyptus citriodora* Hook. sobre a germinação de alface (*Lactuca sativa* L.) e verificaram que a aplicação do extrato desde concentrações de 2% reduziu significativamente o índice de velocidade de germinação e o índice de velocidade do crescimento radicular. Segundo os resultados obtidos por Cremonez et al. (2013), o extrato de eucalipto pode apresentar efeito inibitório sobre a germinação e desenvolvimento, ou apenas no decréscimo destes. Corroborando também com os resultados alcançados por Yamagushi et al. (2011), em que o índice de velocidade de germinação e o desenvolvimento inicial apresentam atrasos no crescimento da plântula, e através dos resultados obtidos afirma que o eucalipto é uma das espécies com maior potencial inibitório sobre hortaliças. Segundo Bedin et al. (2006), a semente do tomateiro não teve diferença estatística significativa na germinação quando submetidas ao extrato foliar de eucalipto, mas a medida em que as concentrações foram aumentadas houve um atraso na germinação das sementes interferindo na produção final.

Os efeitos alelopáticos negativos, quando analisados em campo, afetam o processo de desenvolvimento inicial da cultura, causando modificações em sua estrutura, pois os compostos aleloquímicos podem atuar como sinalizadores no processo do desgaste celular (Almeida et al., 2008). Alterações nas vias metabólicas internas reproduzem danos na ontogênese modificando etapas importantes para o desenvolvimento inicial das plântulas (Ferreira; Aquila, 2000).

Dessa forma, a efetividade dos extratos está relacionada com modo de preparo/obtenção do extrato e o tipo de solvente em que o material vegetal é submetido. Os extratos de mangueira apresentam compostos químicos com alta atividade fitotóxica na germinação de *Allium cepa*. No trabalho de Comiotto et al. (2011) foram obtidos resultados similares, onde o extrato aquoso de *Schinus terebinthifolius Raddi* mostrou efeito inibitório dose dependente para a taxa de germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de alface. Segundo Ferreira e Borghetti (2004), o efeito alelopático interfere na velocidade de germinação ou através de processos específicos. E esse efeito pode interromper o fluxo das vias metabólicas, modificando o padrão polimodal de distribuição de germinação das sementes.

Os extratos etanólicos foliares de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica L.* limitaram a germinação de sementes de *Allium cepa*, esse fato está relacionado à grande captação de grupos químicos devido à sua polaridade. Grande parte dos compostos aleloquímicos aumentam a sua efetividade quando misturados com outras classes de compostos (Larcher, 2006), e a alta toxicidade no extrato é responsável por esclarecer os resultados obtidos no índice de germinação que através de interações potencializa o efeito negativo sobre as sementes utilizadas.

De acordo com o aumento das proporções dos extratos nota-se que ocorre uma diminuição no índice de germinação, pois as concentrações de aleloquímicos ficaram maiores resultando em um número menor de sementes que conseguiram emitir radícula. Os extratos aquosos apresentados são mais polares quando em contato com os compostos alelopáticos por apresentar camadas mais densas com facilidade para solvatar, e apresentar menor número de substâncias.

De acordo com Jacobi e Ferreira (1991), um vegetal pode inibir o crescimento de outros em altas concentrações, enquanto em baixa concentração podem estimular o desenvolvimento do mesmo, em descontração com o trabalho de Seabra Júnior et al. (2017) onde a influência alelopática foi proporcional à concentração dos extratos, resultando em influência inibitória observada também a baixas concentrações. As modificações observadas nos padrões de germinação sugerem que ocorreram alterações de rotas metabólicas e alteração dos processos fundamentais para o desenvolvimento do embrião, modificando sua ontogênese. Estas alterações podem estar relacionadas com efeitos sobre a permeabilidade de membranas, transcrição e tradução de material genético, as reações enzimáticas e a respiração celular (Da Silva, 2012).

Os resultados obtidos utilizando os extratos de eucalipto corroboram com os resultados encontrados por Yamagushi; Gusman & Vestena (2011), e o efeito alelopático observado nos ensaios pode ser explicado devido à presença de compostos fenólicos como eucaliptol, taninos e monoterpenos presentes no eucalipto. Autores como Souto, Gonzalez e Reigosa (1994) também perceberam que *Eucalyptus globulus* e *Pinus radiata* afetaram o crescimento e o desenvolvimento de sementes de alface devido aos compostos fenólicos presentes em suas estruturas.

Ensaio laboratoriais utilizando extratos vegetais para analisar efeito alelopático em outras espécies de plantas são de suma importância para a produção e manejo de culturas, de forma que podem amenizar os danos causados aos biosistemas e contribuindo com métodos relativamente baratos para a prática da agricultura sustentável (Souza-Filho et al., 2010; Goldfarb et al., 2009).

CONCLUSÃO

Os extratos aquoso e etanólico de folhas de eucalipto promovem queda na taxa de germinação de sementes de cebola, independente da concentração.

O extrato aquoso de folhas de mangueira faz com que a germinação diminua em todas as concentrações testadas, sendo mais acentuada a 50%. Já o extrato etanólico causa essa redução a partir da menor concentração testada.

Os extratos aquosos e etanólicos de *Eucalyptus sp.* e *Mangifera indica L.* apresentam efeito alelopático na germinação das sementes de *Allium cepa L.*

REFERÊNCIAS

- Abdalla AEM (2007). Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. *Food Chemistry*, v.103, p.1134-1140, dez. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.017>
- Almeida G.Dde, Zucoloto M, Zetun MC, Coelho I, Sobreir FM (2008). Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, v. 61, n. 1, p. 4237-4247. Disponível em: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24722>. Acesso em: 07 Nov. 2019.
- Balsalobre LC, Gutierrez RC, Comarin MT, de Gouveia MC, Pereira BM, Pinto DG, Piliackas JM (2006). Ação alelopática do arilo das sementes de *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Dryand. In: 19^a RAIB, v.68, suplemento. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/biologico/v68_supl_raib/283.PDF>. Acesso em: 01 Nov. 2019.
- Barreto JC, Trevisan MTS, Hull WE, Erben G, Brito ESde, Pfundstein B, Wurtele G, Spiegelhalder B, Owen RW (2008). Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(14): 5599-5610. <https://doi.org/10.1021/jf800738r>.
- Bedin C, Trecente LB, Silva VC, Santana JM (2006). Efeito alelopático de extrato de eucalyptus citriodora na germinação de sementes de tomate (*lycopersicum esculentum* M.). *Revista científica eletrônica de agronomia*, ano V, n.10. http://www.faeF.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/iUhwKgGz6pgTfMe_2013-5-1-11-57-18.pdf. Acesso em: 27 set. 2019.
- Berardini N, Fezer R, Conrad J, Beifuss U, Carle R, Sheieber A (2005). Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins and pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53:1563-1570. <https://doi.org/10.1021/jf0484069>.

Blair AC, Weston LA, Nissen SJ, Brunk GR, Hufbauer RA (2009). The importance of analytical techniques in allelopathy studies with the reported allelochemical catechin as an example. *Biological Invasions*, v. 11, n. 2, p. 325-332. <https://doi.org/10.1007/s10530-008-9250-1>.

Carmo FMS, Borges EEL, Takaki MM (2007). Alelopatia de extratos aquosos de canelas assafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). *Acta Botanica Brasilica* 21: 697-705. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062007000300016>.

Comiotto A, Moraes DM, Lopes NF (2011). Potencial alelopático de extratos aquosos de aroeira sobre germinação e crescimento de plântulas de alface. *Scientia Agraria Paranaensis* 10(3): 23-31. <http://dx.doi.org/10.18188/sap.v10i3.4349>.

Cremonez FE, Cremonez PA, De Camargo MP, Feiden A (2013). Principais plantas com potencial alelopático encontradas nos sistemas agrícolas brasileiros. *Acta Iguazu. Cascavel*, v.2, Suplemento, p. 70-88, 2013. 70. ISSN: 2316-4093.

Da Silva PSS, (2012). Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. *Biotemas*. 21 (3):65-74. doi: 10.5007/21757925.2012v25n3p65.

De Moraes PLD, Pinheiro EB, Araujo EL, Ambrósio MMQ, Pontes FM (2017). Diagnóstico fitossanitário da produção integrada de manga no Vale do Assu (RN). *Magistra*.; 26 (2):231-241. ISSN 2236-4420.

Ferreira AG, Aquila MEA (2000). Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*.; 12 (1):175-204. <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Gui-y-Alvez-1999.pdf>. Acesso em: Jun. 2019.

Ferreira AG, e Borguetti F (2004). Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed. 323p.

Ferreira MC, Souza JRP, Faria TJ (2007). Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1054-1060. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000400017>.

Goetze M, Thomé GCH (2004). Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 43-50, 2004. <http://dx.doi.org/10.18539/cast.v10i1.686>.

Goldfarb M, Pimentel LW, Pimentel NW (2009). Alelopatia: relações nos agroecossistemas. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, João Pessoa, v. 3, n. 1, p. 23-28. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/1984>. Acesso em: Nov. 2019.

Grisi PU (2010). Potencial alelopático de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). 127 p. Dissertação (Mestrado em ecologia e Recursos Naturais). Universidade Federal de São Carlos São Carlos, São Carlos-SP. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/1984>. Acesso em: Dez. 2019.

IAS – International Allelopathy Society. Constitution and Bylaws. 2012. Disponível em <<http://www-ias.uca.es/bylaws.htm#SECTION>>. Acesso em: Dez, 2019.

Jacobi US, Ferreira AG (1991). Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. sobre espécies cultivadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 26, n. 7, p. 935-943, 1991. <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/3425/758>. Acesso em: Ago, 2019.

Kuo YL, Chou CH, Hu TW (1986). Allelopathic potencial of *Leucaena leucocephala*. *Leucaena. Research Report*, Taipei, v.3, p.65-70. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=032544>. Acesso em: 12 Mar. 2019.

Maguire JD (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 2, p. 176-177. <https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176>. Acesso em: Dez, 2019.

Mano ARO (2006). Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ceará. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/8367>. Acesso: Out, 2019.

Ministério da Saúde, Farmacopéia Brasileira (2002). São Paulo: Atheneu, SP Ltda. 4 ed. Parte II. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260950/4_edicao_fasc4.pdf/0368065b-cbf3-45b8-8714-d4a9db9b204b Acesso em: Set. 2019.

Pereira RJ, Cardoso MDASG (2012). Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. p. 146–152. <https://pdfs.semanticscholar.org/de92/e03e1b3192ddbfc1c249a78877717c2a234.pdf>. Acesso em: Out, 2019.

Santana, DP (2005). A agricultura e o desafio do desenvolvimento sustentável. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 132. 2005. 18 p. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/489730/a-agricultura-e-o-desafio-do-desenvolvimento-sustentavel>. Acesso em: Nov, 2019.

Seabra Júnior E (2017). analysis of allelopathic effects of *Canavalia ensiformis* in *Jatropha curcas*. *Ciência e Técnica Vitivinícola*. v. 32 n. 11, p. 82-92.

Sivagurunathan M, Devi GS, Ramasamy K (1997). Allelopathic compounds in *Eucalyptus* spp. *Allelopathy Journal* 4: 313-320.

Sousa CMM, Silva HR, Vieira-jr GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, Calvacante LCD, Barros EDS, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, v.30, n.2, p.351-355. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>.

Souto XC, Gonzalez L, Reigosa MJ (1994). Comparative analysis of allelopathic effects produced by four forestry species during decomposition process in their soils in Galicia. *Journal of Chemical Ecology*, Spain, n. 20, p. 3005 – 3015. <https://doi.org/10.1007/BF02098405>.

Souza-Filho APS, Guilhon GMSP, Santos LS (2010). Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – revisão crítica. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 689-697. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582010000300026>.

Teixeira CM, De Carvalho GJ, Araújo JBS (2015). Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). *Ciências agrotec*: 28 (3):691-695. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542004000300028> .

Tokura LK, Nóbrega LHP (2006). Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v.28, n.3, p.379-384. Acesso em: Nov, 2019.

Yamagushi MQ, Gusman GS, Vestena S (2011). Efeito alelopático de extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* Labill. e de *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.32, n.4, p.1361-1374. Acesso em: Set, 2019.

ANEXO: NORMAS DA REVISTA AFRICAN JOURNAL OF PLANT SCIENCE

AJPS - Instructions for Authors

Aims and Scope

The African Journal of Plant Science covers all areas of plant science such as phytopathology, plant morphology, sustainable plant production, plant pathology and plant microbe biology

Types of Articles

The journal welcomes submission of full-length research articles, short communications and review articles. In addition, the journal also welcomes letters to the editor and commentaries.

Regular articles: These articles should describe new and carefully confirmed findings, and research methods should be given in sufficient detail for others to verify the work. The length of a full paper should be the minimum required to describe and interpret the work clearly.

Short Communications: A Short Communication is suitable for recording the results of complete small investigations or giving details of new models, innovative methods or techniques. The style of main sections need not conform to that of full-length papers. Short communications are 2 to 4 printed pages (about 6 to 12 manuscript pages) in length.

Reviews: Submissions of reviews and perspectives covering topics of current interest are welcome and encouraged. Reviews should be concise and no longer than 4-6 printed pages (about 12 to 18 manuscript pages). Reviews manuscripts are also peer-reviewed.

Preparing Your Manuscript

Title

The title phrase should be brief.

List authors' full names (first-name, middle-name, and last-name).

Affiliations of authors (department and institution).

Emails and phone numbers.

Abstract

The abstract should be 100 to 200 words in length. The keywords should be less than 10.

Abbreviations

Standard abbreviations should be used all through the manuscript. The use of non-standard abbreviations should be kept to a minimum and must be well-defined in the text following their first use.

The Introduction

The statement of the problem should be stated in the introduction in a clear and concise manner.

Materials and methods

Materials and methods should be clearly presented to allow the reproduction of the experiments.

Results and discussion

Results and discussion maybe combined into a single section. Results and discussion may also be presented separately if necessary.

Tables and figures

Tables should be kept to a minimum.

Tables should have a short descriptive title.

The unit of measurement used in a table should be stated.

Tables should be numbered consecutively.

Tables should be organized in Microsoft Word or Excel spreadsheet.

Figures/Graphics should be prepared in GIF, TIFF, JPEG or PowerPoint.

Tables and Figures should be appropriately cited in the manuscript.

Disclosure of conflict of interest

Authors should disclose all financial/relevant interest that may have influenced the study.

Acknowledgments

Acknowledgement of people, funds etc should be brief.

References

References should be listed in alphabetical order at the end of the paper. DOI links to referenced articles should be stated wherever available. Names of journals should be presented in full and not abbreviated.

Examples:

Alpaslan M, Gunes A (2001). Interactive effects of boron and salinity stress on the growth, membrane permeability and mineral composition of tomato and cucumber plants. *Plant and Soil* 236:123-128. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1011931831273>

Ayvaz M, Koyuncu M, Guven A, Fagerstedt KV (2012). Does boron affect hormone levels of barley cultivars? *EurAsian Journal of BioSciences* 6:113-120. <http://dx.doi.org/10.5053/ejobios.2012.6.0.14>

Bonilla I, El-Hamdaoui A, Bolanos L (2004). Boron and calcium increase *Pisum sativum* seed germination and seedling development under salt stress. *Plant and Soil* 267:97-107. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-005-4689-7>

Folorunso, A. E., & Adelalu, K. F. (2015). Crude protein electrophoresis of *Ludwigia* (L.) species in Nigeria and its taxonomic implications. *African Journal of Plant Science*, 9(9), 339-345. <https://doi.org/10.5897/AJPS2015.1320>

Acceptance Certificate

Authors are issued an Acceptance Certificate for manuscripts that have been reviewed and accepted for publication by an editor.

Before Submission

Please read about the publication process, peer review process, editorial policies, publication ethics and copyright information. See also step by step process on how to submit your manuscript.