

VERA LYGIA EL ID

**Análise do efeito inibitório de fitotoxinas  
liberadas por *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. em  
espécies de diferentes estágios sucessionais**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2016

VERA LYGIA EL ID

**Análise do efeito inibitório de fitotoxinas  
liberadas por *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. em  
espécies de diferentes estágios sucessionais**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. NELSON AUGUSTO DOS SANTOS JUNIOR

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

El Id, Vera Lygia

E37a Análise do efeito inibitório de fitotoxinas liberadas por *Sesbania virgata* (Cav.)  
Pers. em espécies de diferentes estágios sucessionais / Vera Lygia El Id – São Paulo,  
2016.

94p. il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio  
Ambiente, 2016.

Bibliografia.

1. Alelopatia. 2. Catequina. 3. Processo germinativo.

I. Título.

CDU: 581.524.13

*À minha amada e compreensiva  
avó D<sup>a</sup> Edith, que sempre me apóia e que me  
despertou o gosto pela leitura, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

*Ao meu querido orientador Dr. Nelson Augusto por toda a compreensão, pelos ensinamentos científicos, pelos conselhos para a vida, por ser sempre tão solícito e principalmente pela paciência. Muito obrigada pelo voto de confiança e por me permitir desenvolver esse trabalho!*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa concedida.*

*Ao Programa de Pós- Graduação do Instituto de Botânica pela oportunidade de realizar este trabalho.*

*Ao Núcleo de Pesquisa em Sementes pela infraestrutura oferecida para a condução desse trabalho.*

*Aos profissionais do Núcleo de Pesquisa em Sementes: José Marcos, Marina, Adriana, Claudio, Lilian, Waldete, Waldyr e Mônica. Agradeço pelo modo como me receberam, além do enorme conhecimento adquirido com todos vocês. Agradeço também por tornarem nossa seção um lugar tão agradável. Muito obrigada!*

*Ao Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica e à Dr<sup>a</sup> Marília Gaspar por permitir o uso dos equipamentos e do laboratório para as análises bioquímicas.*

*À Dr<sup>a</sup> Márcia Regina Braga pela colaboração, por todo o conhecimento que me foi passado e por ser sempre tão prestativa quando precisei. Obrigada.*

*Ao Dr. Rodrigo Sant'Ana Cabral pelo auxílio nas análises de catequina e pelas ótimas conversas científicas.*

*Ao Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais e à Dr<sup>a</sup> Vivian Tamaki pela infraestrutura cedida da casa de vegetação e por permitir o uso do HPLC para a quantificação de catequina.*

*Ao Sr. José Carlos e ao Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras pelo auxílio na coleta do material vegetal de sesbania, pela identificação das espécies em campo e pela estrutura cedida para o beneficiamento das sementes de *S. virgata*.*

*À Mônica Cachenco e ao José pelo auxílio na coleta e beneficiamento das espécies florestais utilizadas nesse estudo.*

*Aos membros da minha banca de Qualificação: Dr. Claudio Barbedo, Dr. Danilo Centeno e Dr<sup>a</sup> Marília Gaspar, pelas ótimas sugestões e idéias fornecidas para a melhoria desse trabalho.*

*Às amigas Daniela e Vanessa (Kauã) pela ajuda com os vasos e pela amizade.*

*Aos amigos Rodrigo Sanches e Camila Barbosa pela ajuda na aberturas das covas do ensaio em campo. À Andréa pela ajuda nos experimentos em campo.*

*À Dr<sup>a</sup> Luanda Soares pela ajuda na finalização desse manuscrito.*

*Às meninas da fisiologia: Daiane, Marina, Juliana e Kelly por todas as conversas científicas e ensinamentos. Muito obrigada pela ajuda.*

*Aos meus queridos e amados pais, Samir e Adalva, por todo o apoio e incentivo durante essa e outras fases da minha vida. E ao meu irmão Samir Filho pelos momentos de descontração.*

*Às minhas avós, D<sup>a</sup> Rosa e D<sup>a</sup> Edith, por todo carinho e afeto de sempre.*

*Aos meus amigos de infância e aos meus familiares, que estão sempre presentes nos meus dias de alguma forma. Muito obrigada pela compreensão e paciência. Amo todos vocês.*

*Às amigas Adriana, Tatiana e Julie por sempre estarem do meu lado, pela paciência, por sempre me ouvirem e pelos ótimos conselhos. Obrigada por essa amizade.*

*Aos companheiros sementeiros: Roseli, Ana Clara, Marília, Cibelle, Talita, Débora, Lamarca, Marcio, Marcia, Paulo, Juliana, Sandra, Carmem, Aline, Marcelo, Camila, Mariane, Aline, Isabela e Giovanna Obrigada pelas ricas conversas nesses anos de botânico.*

*Às amigas Marília, Roseli, Ana Clara, Aline e Laís pelas conversas, confidências e amizade.*

*Ao Hakuna Matata por todas as loucas conversas, conselhos, festas, viagens, companheirismo, brigas, amor. Karina, Joyce, Noemi, Mayra, Tassinha e Aline, vocês são essenciais para mim. Muito obrigada!!*

*Aos meus grandes amigos biólogos Nara, Michele, Luíza e Daniel por todo o companheirismo nos anos de Unifesp. Obrigada por permanecerem presentes em minha vida. Vocês não são apenas colegas de profissão, são irmãos para a vida.*

*Aos meninos fofos de Jundiá pelos bons momentos juntos, pelas risadas e por todos os momentos de descontração.*

*À família Alof pela ajuda nessas etapas finais, pela acolhida, pela amizade formada, pelas noites em claro, pelas conversas, pelas risadas e pelos choros. Com vocês vivi o significado da palavra irmão, com vocês dividi todos os tipos de sentimentos e momentos. Levarei cada um de vocês como se fossem uma parte de mim. Amo todos: Laura, Talita, Jennifer, Camilas A, B e C, Andréa (Kanis, Carin, Luanda, Tiago, Sanches, Jadson, Leandro, Higor. Para sempre!*

*Ao Higor por ser tão especial para mim, por ser tão companheiro, querido e principalmente por nunca ter desistido da nossa amizade, mesmo depois dos meus momentos insanos. Obrigada meu querido!!!*

*Enfim a todos que contribuíram para a realização desse trabalho. Jamais conseguiria sozinha.*

## RESUMO

*Sesbania virgata* (Cav.) Pers. é uma Fabaceae, pioneira e nativa da América do Sul, que ocorre em vegetações ciliares, principalmente no Cerrado e na Mata Atlântica. Estudos indicam a espécie como boa opção para restauração de áreas degradadas, devido ao seu crescimento acelerado e à sua alta capacidade de cobertura do solo. Até o momento sabe-se que as sementes de *S. virgata* liberam aleloquímicos durante o processo de embebição, afetando a germinação e o desenvolvimento inicial de outras espécies. Outros estudos, realizados pelo grupo de trabalho no qual esse projeto foi inserido, detectaram a presença de diversos fitoquímicos em suas folhas e em suas sementes, como por exemplo o flavonóide (+)- catequina capaz de afetar a germinação e o crescimento de algumas espécies. A partir do pressuposto de que, plantas que co-ocorrem no mesmo ambiente com espécies que produzem aleloquímicos teriam desenvolvido mecanismos de tolerância a esses fitoquímicos, o objetivo principal do presente trabalho foi avaliar a fitotoxicidade das substâncias encontradas em sementes de *Sesbania* sobre espécies co-ocorrentes com ela no ambiente natural. Para tanto, foram selecionadas três espécies de diferentes estágios sucessionais, co-ocorrentes com *Sesbania*: *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze, *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. e *Copaifera langsdorffii* Desf.. Tais espécies foram submetidas aos experimentos de co-germinação com sementes de *S. virgata* e de irrigação com extratos produzidos a partir de sementes da espécie. Nos ensaios de co-germinação, foram depositadas ao lado de cada uma das sementes das espécies selecionadas, 0 (controle), 5 e 10 sementes de *Sesbania*. Nos ensaios de irrigação, as sementes foram irrigadas com água destilada (controle), com os extratos produzidos a partir de tegumentos de sementes de *Sesbania*, nas concentrações 0,1, 0,5 e 1% (p/v) e com catequina comercial ( $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Ambos os ensaios foram conduzidos em laboratório, em casa de vegetação e em campo, e foram coletados dados referentes ao processo germinativo e ao desenvolvimento inicial das espécies selecionadas. Foi verificado que o processo germinativo de *P. dubium* e *C. langsdorffii* não foram afetados, enquanto que sementes de *M. bimucronata* se mostraram mais sensíveis à presença de substâncias oriundas das sementes de *Sesbania*. Já em relação ao desenvolvimento inicial dessas espécies, *M. bimucronata* e *C. langsdorffii* sofreram redução significativa na maioria dos parâmetros utilizados para a análise de crescimento, enquanto que *P. dubium* apresentou maior tolerância à presença dos fitoquímicos de *Sesbania*. Os dados obtidos permitiram concluir que substâncias oriundas de sementes de *S. virgata* não foram capazes de inibir o processo germinativo das espécies florestais que co-ocorrem com ela no ambiente. Porém tais fitoquímicos se mostraram mais efetivos quanto ao desenvolvimento, reduzindo significativamente o crescimento inicial das espécies florestais, o que demonstrou que os mesmos permanecem no ambiente durante um determinado tempo. Os dados encontrados

também sugerem que a inibição gerada por sementes de sesbania pode ter sido provocada por outras substâncias, além da catequina encontrada em suas sementes.

**Palavras-Chave:** alelopatia, catequina, processo germinativo, desenvolvimento inicial.

## ABSTRACT

*Sesbania virgata* (Cav.) Pers is a tropical Fabaceae, pioneer and native to South America, that occurs in riparian forest, especially in the Cerrado and Atlantic Forest. It has been used to restore degraded areas, by their accelerated growth and ability to cover ground. Recently, it was verified that the seeds of *S. virgata* release allelochemicals during the imbibition process, affecting the germination and initial growth of other species. Some studies developed by the work group in which this project was inserted, have detected the presence of different phytochemicals in its leaves and its seeds, such as the flavonoid (+)- catechin. These substances are able to affect the germination and growth of some species. The aim of this study was to evaluate the phytotoxicity of substances in sesbania seeds in the species that co-occurring with it in the natural environment. They were selected three species of different successional stages, co-occurring with sesbania: *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze, *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. and *Copaifera langsdorffii* Desf.. These species were subjected to co-germination experiments with seeds of *S. virgata* and irrigation with extracts produced from seeds of this species. In co-germination tests were deposited next to each seed of selected species 0 (control), 5 and 10 seeds of Sesbania. In the irrigation tests, the seeds were irrigated with distilled water (control), with the extracts produced from sesbania seedcoats at concentrations 0.1, 0.5 and 1% (w / v) and with commercial catechin ( $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Both assays were conducted in the laboratory, in the greenhouse and in the field and data were collected for the germination and initial development of the selected species. It was found that the germination of *P. dubium* and *C. langsdorffii* were not affected, while *M. bimucronata* seeds were more sensitive to the presence of substances derived from sesbania seeds. In relation to the initial development of these species, *M. bimucronata* and *C. langsdorffii* showed significant reduction in most of the parameters used for growth analysis, while *P. dubium* showed higher tolerance to the presence of phytochemicals sesbania. The data showed that substances derived from *S. virgata* seeds were not able to inhibit the germination of forest species that co-occur with it in the environment. However such phytochemicals were more effective for the development, significantly reducing the initial growth of forest species, which demonstrated that they remain in the environment for a specific time. The data also suggest that inhibition generated by Sesbania seeds may have been caused by other substances besides catechin found in the seeds.

**Keywords:** allelopathy, catechin, germination, initial development.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Estrutura química do flavonóide (+) e (-) catequina respectivamente.....16
- Figura 2:** Aspecto da árvore (A e B), da flor (C), do fruto e da folha (D), do fruto e da semente (E) e da semente (F) de *Sesbania virgata*.....19
- Figura 3:** Sementes das espécies selecionadas, depositadas em Placas de Petri (A), em vasos (B) e em covas no solo (C).....25
- Figura 4:** Preparação dos extratos com tegumento de sementes de *S. virgata*, onde o tegumento em pó foi pesado (A), dissolvido em água destilada (B) e diluído (C) nas concentrações 0,1, 0,5 e 1% (I, II e III, respectivamente). O extrato com padrão de (+)-catequina foi preparado na concentração de  $1\text{mg.mL}^{-1}$  (IV).....27
- Figura 5:** Esquema demonstrando a distribuição dos tratamentos dos ensaios de co-germinação (0, 5 e 10 sementes de *S. virgata*-Sv) e de irrigação com extratos (Catequina Comercial, 0,0, 0,1, 0,5 e 1,0%).....30
- Figura 6:** Valores médios de comprimento radicular (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em laboratório. Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....34
- Figura 7:** Valores médios de altura (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (A) e em campo (B). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....35

**Figura 8:** Valores médios de diâmetro (mm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (**A**) e em campo (**B**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....37

**Figura 9:** Valores médios de pesos fresco e seco de raiz (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (peso fresco: **A**; peso seco: **B**) e em campo (peso fresco: **C**; peso seco: **D**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....38

**Figura 10:** Valores médios de pesos fresco e seco de parte aérea (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (peso fresco: **A**; peso seco: **B**) e em campo (peso fresco: **C**; peso seco: **D**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....39

**Figura 11:** Quantificação de catequina por HPLC ( $\lambda=280$  nm) em extratos aquosos preparados com tegumentos extraídos de sementes de *Sesbania virgata* ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), oriundas de três matrizes no município de Lavras, MG.....41

**Figura 12:** Quantificação de catequina por HPLC ( $\lambda=280\text{nm}$ ) de exsudatos de sementes de *Sesbania virgata*, embebidas em água destilada, coletados em intervalo de seis horas. As barras representam o desvio padrão das médias ( $n=3$ ).....42

**Figura 13:** Valores médios de comprimento radicular (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera*, obtidos no ensaio de irrigação em laboratório, no

qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e por espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....45

**Figura 14:** Valores médios de altura (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios, realizados em casa de vegetação (**A**) e em campo (**B**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....47

**Figura 15:** Valores médios de diâmetro (mm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios foram realizados em casa de vegetação (**A**) e em campo (**B**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....48

**Figura 16:** Valores médios de pesos fresco e seco de raiz (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios realizados em casa de vegetação (peso fresco: **A**; peso seco: **B**) e em campo (peso fresco: **C**; peso seco: **D**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....49

**Figura 17:** Valores médios de pesos fresco e seco de parte aérea (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de

irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios realizados em casa de vegetação (peso fresco: **A**; peso seco: **B**) e em campo (peso fresco: **C**; peso seco: **D**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Relação das espécies encontradas após levantamento florístico, nas áreas georreferenciadas de ocorrência de populações de <i>Sesbania virgata</i> (locais 1, 2 e 3) no município de Lavras, estado de Minas Gerais.....	24
<b>Tabela 2:</b> Valores médios de Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE), obtidos nos ensaios de co-germinação com sementes de <i>Sesbania virgata</i> (Sv), em laboratório, em casa de vegetação e em campo.....	32
<b>Tabela 3:</b> Resumo dos parâmetros afetados para as três espécies nos ensaios de co-germinação, pelo acréscimo de 5 e 10 sementes de <i>S. virgata</i> , onde: Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE), Comprimento radicular (CR), Altura, Diâmetro, Peso Fresco (PFR) e Seco de Raiz (PSR), Peso Fresco (PFPA) e Seco de Parte Aérea (PFPA).....	40
<b>Tabela 4:</b> Valores médios de Porcentagem de Germinação (%G) e de Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE) dos bioensaios irrigados com água destilada (0,0%), com os extratos produzidos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.), realizados em laboratório, casa de vegetação e campo.....	44
<b>Tabela 5:</b> Resumo dos parâmetros afetados para as três espécies nos ensaios aplicação de extratos, nas concentrações 0,1, 0,5 e 1,0% e catequina comercial (C.C.), onde: Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE), Comprimento radicular (CR), Altura, Diâmetro, Peso Fresco (PFR) e Seco de Raiz (PSR), Peso Fresco (PFPA) e Seco de Parte Aérea (PFPA).....	51

## SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1. Degradação florestal, restauração ecológica e sucessão secundária.....	5
2.2. Alelopatia .....	10
2.3. Aleloquímicos.....	12
2.4. Catequina.....	16
2.5. <i>Sesbania virgata</i> .....	18
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo Geral .....	22
3.2. Objetivos Específicos .....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1. Obtenção do material biológico.....	23
4.2. Ensaio de co-germinação com sementes de <i>S. virgata</i> .....	24
4.3. Ensaio de irrigação com extratos de sementes de <i>S. virgata</i> .....	26
4.3.1. Preparação dos extratos com sementes de <i>S. virgata</i> e quantificação de catequina.....	26
4.3.2. Implantação dos bioensaios de irrigação com extratos aquosos .....	28
4.4. Delineamento experimental e análise estatística .....	30
5. RESULTADOS .....	31
5.1. Ensaio de co-germinação: Processo Germinativo .....	31
5.2. Ensaio de co-germinação: Desenvolvimento Inicial .....	33

5.3. Identificação e quantificação de catequina.....	41
5.4. Ensaio de irrigação com extratos: Processo Germinativo .....	42
5.5. Ensaio de irrigação com extratos: Desenvolvimento Inicial .....	45
6. DISCUSSÃO .....	53
6.1. Exsudados e extratos de sementes de <i>S. virgata</i> afetam o processo germinativo de espécies arbóreas co-ocorrentes?.....	53
6.2. O desenvolvimento inicial das espécies arbóreas, co-ocorrentes com <i>S. virgata</i> , é afetado por fitoquímicos oriundos de suas sementes?.....	57
7. CONCLUSÃO.....	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, grandes áreas de vegetação nativa vêm sofrendo constante redução e diminuição de sua resiliência (Cardoso *et al.* 2011), devido principalmente às ações antrópicas (Rocha *et al.* 2014). Frente a esse cenário, iniciou-se um processo de reação no qual objetivaram-se a conservação dos remanescentes florestais e restauração desses sistemas degradados (Martins *et al.* 2014). Esse processo de restauração de áreas que passaram por perturbações antrópicas se baseia em modelos que garantam alta diversidade de espécies de diversos grupos ecológicos além da garantia de que os processos ecológicos serão contínuos, para que assim seja alcançado o intuito de tornar a área afetada ecologicamente viável e sustentável (Brançalion *et al.* 2010, Aronson *et al.* 2011).

Para o sucesso dos processos de restauração, é interessante que se conheça as características fisiológicas naturais das espécies (Rodrigues e Gandolfi 2001) que serão introduzidas no campo, pois durante o processo de sucessão secundária, a relação espécie-ambiente será responsável pelas modificações que ocorrerão no meio, pela disponibilidade de recursos e pelo aumento da complexidade estrutural (Odum 1988, Longhi *et al.* 2006, Gurevitch *et al.* 2009). Assim, as espécies utilizadas de todos os estágios sucessionais devem estar presentes em uma abundância e distribuição espacial adequadas, para que o dossel seja continuamente refeito através de um processo de substituição sucessional, o que aumenta as chances do processo de sucessão secundária ocorrer localmente (Brançalion *et al.* 2010).

Em relação ao sucesso no estabelecimento de novas espécies vegetais em novos ambientes, a alelopatia tem sido reconhecida como um mecanismo ecológico, que influencia a dominância e a sucessão de plantas, a formação de comunidades, a vegetação clímax e o manejo (Chou 1986, Goldfarb *et al.* 2009). Estas interações são

responsáveis pelo estabelecimento e sobrevivência de certas espécies no meio ambiente e representam mecanismos adquiridos ao longo de um processo evolutivo (Gatti 2008, Nicolini *et al.* 2012).

Há uma hipótese que sugere que o sucesso de uma espécie invasora pode ser devido à produção de aleloquímicos, os quais afetam espécies nativas que não possuem a mesma história evolutiva da planta invasora. Sendo assim, supõe-se que as plantas que co-ocorrem em mesmo ambiente teriam desenvolvido mecanismos de tolerância a esses aleloquímicos (Veronesi 2013).

O termo alelopatia, descrito por Molisch em 1937, vem do grego *allelon* = de um para o outro, *pathós* = sofrer (Ferreira e Aquila 2000, Rodrigues e Lopes 2001). O conceito é definido como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta ou de microrganismo sobre outra planta, mediante produção de compostos químicos que são liberados no ambiente (Goldfarb *et al.* 2009). Mais recentemente, o termo foi designado como qualquer processo que envolva a produção e a ação de metabólitos secundários e que influencie o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos em geral (Sociedade Internacional de Alelopatia, Saldanha 2013).

A interferência de plantas em outras da mesma espécie ou de espécies diferentes pode ser ocasionada por meio de substâncias denominadas fitotoxinas ou aleloquímicos (Silva *et al.* 2007). Tais substâncias, quando liberadas no meio, podem inibir a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas, com efeitos na produção de metabólitos, na fotossíntese, na respiração, no transporte de membrana e na sinalização química intracelular (Perry *et al.* 2007, Fabricante *et al.* 2013).

Os compostos alelopáticos são produtos do metabolismo secundário vegetal e são liberados para o meio ambiente por volatilização, lixiviação, exsudação da raiz e decomposição de resíduos destas plantas no solo (Weir *et al.* 2004, Pang *et al.* 2007).

Estes metabólitos, tais como compostos fenólicos, flavonóides, alcalóides, terpenóides e glicosídeos cianogênicos despertam interesse no que concerne as relações entre suas estruturas e atividades biológicas (Pedrol *et al.* 2006) e sua produção sofre influência de fatores ambientais, físicos e químicos, podendo variar até mesmo entre populações (Gobbo-Neto e Lopes 2007).

A liberação dessas substâncias pode ser considerada como uma estratégia de plantas invasoras para garantir sucesso na competição e no domínio de comunidades vegetais (Larcher 2000). Algumas espécies podem ser relativamente resistentes a esses metabólitos, podendo essas terem tido alguma relação co-evolutiva com aquelas e desenvolvido tal resistência. No entanto, essa situação não é tão comum, o que garante o sucesso de muitas espécies invasoras produtoras de aleloquímicos (Bais *et al.* 2006).

Um exemplo é o estudo sobre *Centaurea maculosa* (Asteraceae), uma espécie nativa da Eurásia que afeta a germinação e desenvolvimento de gramíneas nativas dos Estados Unidos. Esse efeito provavelmente está relacionado ao fato de suas raízes exsudarem uma mistura racêmica de (+) e (-)-catequina (Bais *et al.* 2002, He *et al.* 2009), capaz de conferir vantagens para *C. maculosa* em períodos críticos do desenvolvimento. Ensaios laboratoriais mostraram que a catequina tem efeitos fitotóxicos sobre uma grande variedade de plantas, porém seu nível de toxicidade varia de acordo com a espécie ensaiada e com as condições experimentais (Inderjit *et al.* 2008). Bais *et al.* (2003) relataram que os efeitos fitotóxicos da catequina em raízes devem-se à rápida produção de espécies reativas de oxigênio, seguida por aumento de cálcio e diminuição do pH citoplasmático, o que leva à condensação do citoplasma e morte celular.

Certos metabólitos, como os compostos fenólicos, foram encontrados também no tegumento de sementes, como aquelas pertencentes ao gênero *Sesbania* (Fabaceae),

sendo liberados rapidamente durante o processo de embebição. Em *S. drummondii* (espécie perene), a molécula de (+)-catequina foi encontrada em quantidade superior à quantidade de (-)-catequina e em *S. vesicaria* (espécie anual) houve predomínio de (-)-catequina (Ceballos *et al.* 1998). Tais substâncias conferem vantagens às espécies citadas em seus respectivos ciclos de vida.

Alguns autores, ao aplicarem catequina isolada em sementes de espécies florestais nativas e em sementes de espécies cultivadas, verificaram que a mesma afetou o crescimento radicular de todas as espécies testadas (Simões *et al.* 2008, Veronesi, 2013, Coelho 2014). Segundo Mignoni (2015), são poucos os trabalhos que até o momento discutem o efeito da ( $\pm$ )-catequina exsudada por espécies nativas e por sementes.

*Sesbania virgata* (Cav.) Pers., material biológico neste estudo, pertence à família Fabaceae e é uma espécie nativa da América do Sul, pioneira, que ocorre em vegetações ciliares (Araújo *et al.* 2004), principalmente no Cerrado e na Mata Atlântica. *Sesbania virgata* é uma espécie indicada para restauração de áreas degradadas pelo seu alto e rápido índice de germinação e desenvolvimento e pelo seu potencial de cobertura, que é capaz de promover no solo. Devido a esta eficiência, é considerada uma planta superdominante, com comportamento de planta invasora (Matos e Pivello 2009), a qual muitas vezes é capaz de inibir a competição com outras espécies vegetais, reduzindo significativamente a regeneração do sub-bosque florestal.

Recentemente foi demonstrado que o flavonóide (+)-catequina é a principal fitotoxina exsudada pelas sementes da espécie, encontrada em seu tegumento, sendo liberada em altas concentrações (235  $\mu\text{g}$  /semente) após 24 horas de embebição (Simões *et al.* 2008). Foi relatado que ela inibe o desenvolvimento de plântulas de *Arabidopsis*

*thaliana* (L.) Heynh. e *Oryza sativa* L., retardando também a germinação de outras espécies cultiváveis, como alface e tomate (Simões 2008).

Resultados similares foram encontrados por El Id *et al.* (2015), que verificaram que exsudatos de sementes de *S. virgata* afetaram consideravelmente o processo germinativo e o desenvolvimento inicial das espécies cultivadas. Nesse mesmo estudo, a germinação e o desenvolvimento das espécies florestais não- pioneiras, que poderiam co-ocorrer com sesbania em seu ambiente natural, também foram afetados, porém de maneira mais amena. Além disso, os ensaios realizados nesse trabalho com extratos foliares de *S. virgata* mostraram que a taxa germinativa e o desenvolvimento inicial das espécies arbóreas e agronômicas não foram afetados negativamente. Tais resultados sugerem que a maior fonte de aleloquímicos de *S. virgata* não esteja nas folhas e ramos, mas sim nas sementes.

Contudo, existem poucas informações sobre alvos fisiológicos dessa fitotoxina no metabolismo de sementes e sobre o efeito em espécies que co-ocorrem no ambiente com *S. virgata* (Coelho 2014, El Id *et al.* 2015), além da escassez de análises realizadas em condições não controladas.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Degradação florestal, restauração ecológica e sucessão secundária

Um dos acontecimentos que marcaram o século passado, foi a maneira como a extensão das florestas tropicais diminuiu rapidamente (Lamb *et al.* 2005). Estima-se que 350 milhões de hectares de florestas tropicais primárias e secundárias foram desmatadas (Campoe 2008). A intervenção humana tem um efeito desestabilizador sobre os ecossistemas naturais, perturbando seu equilíbrio dinâmico (Kageyama *et al.* 2008).

No cenário brasileiro, grandes áreas de vegetação nativa vêm sofrendo constante redução devido às ações antrópicas (Rocha *et al.* 2014). A Mata Atlântica, um dos ecossistemas mais ameaçados do planeta, abrangia uma área equivalente a 1.315.460 km<sup>2</sup> restando nos dias atuais cerca de 8,5% de remanescentes florestais acima de 100 hectares do que existia originalmente (Andrade e Santos 2014, Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, 2014). O Cerrado, por sua vez, apresentava originalmente a área de 2.039.386 km<sup>2</sup>, no entanto atualmente, a área remanescente da vegetação, encontra-se bastante fragmentada, com cerca de 1.036.877 km<sup>2</sup>, correspondendo a 51% da cobertura original (CRS/IBAMA 2009, 2011).

A partir da década de 1980, iniciou-se no Brasil uma frente de reação ao processo de degradação ambiental, na qual o principal objetivo foi a restauração dos ecossistemas já degradados (Martins *et al.* 2014). Pode-se definir como ecossistema degradado, aquele que sofreu perturbações geradas por atividades humanas, levando-o à diminuição drástica de sua resiliência e a perda de espécies e de interações, mas mantendo meios possíveis de regeneração (Carpanezzi *et al.* 1990).

Nessas condições os ecossistemas passam a ter sua estabilidade comprometida quando ocorrem mudanças em seu regime de distúrbios característicos, por razões ambientais ou antrópicas, que diminuem sua predisposição de retornar à sua capacidade de resistir a novos distúrbios (Engel e Parrota 2008). Em florestas tropicais, como os distúrbios antrópicos geralmente são de maior escala, maior intensidade e frequência do que os distúrbios naturais sob os quais essas evoluíram, a recuperação do ecossistema torna-se lenta ou incerta (Engel e Parrota 2008, Uhl *et al.* 1990).

Mesmo nesses casos, ainda é possível trazer de volta para uma área espécies características da região, direcionando os processos naturais para características desejáveis em sistemas futuros (Goosem e Tucker 1995). Dentro dessas possibilidades,

a restauração ecológica visa recriar comunidades ecologicamente viáveis, protegendo e garantindo a capacidade natural de mudanças no ecossistema (Engel e Parrota 2008), através da introdução no campo de uma determinada composição de espécies, para que a nova comunidade tenha maior probabilidade de se desenvolver, de se auto-renovar e de se tornar sustentável (Pereira *et al.* 2015).

No início da restauração, a característica mais importante é o auxílio na formação de uma cobertura vegetal, para evitar processos erosivos e dar início à formação de uma camada orgânica e de solo (Reis e Kageyama 2008). Esse ambiente criará condições para que outras espécies se estabeleçam (Pereira *et al.* 2015). Assim, a restauração inicia-se com a criação de condições que impulsionam os processos ecológicos (Anand e Desrochers 2004) e com a escolha correta das espécies que iniciarão esse processo.

A base conceitual mais forte da restauração ecológica tem sido o estabelecimento de uma comunidade vegetal viável e de alta diversidade, capaz de manter em constante funcionamento seus processos ecológicos, como o processo de sucessão ecológica (Young 2000, Anand e Desrochers 2004, Pickett *et al.* 2009), o qual envolve a substituição natural ordenada no decorrer do tempo de uma comunidade vegetal por outra (Pereira *et al.* 2015). No processo de sucessão, ocorrem variações na composição das espécies e na estrutura da comunidade ao longo do tempo, envolvendo modificações no ambiente, na disponibilidade de recursos, aumentando a complexidade estrutural (Odum 1988, Longhi *et al.* 2006, Gurevitch *et al.* 2009).

Entende-se por sucessão em áreas degradadas a sucessão secundária, cujo processo ocorre quando plantas colonizam uma superfície, previamente ocupada por uma comunidade viva, após a ocorrência de perturbação antrópica ou natural (Pereira *et al.* 2015). É comum que o distúrbio, seja ele qual for, gere modificações estruturais e

florísticas na floresta primária (Reis 2007). No Brasil, a formação das florestas secundárias é atribuída à expansão da fronteira agrícola, aos projetos de urbanização e de industrialização e à mineração (Neto *et al.* 2000).

Segundo Brow e Lugo (1990), a floresta secundária se forma em uma área perturbada pela ação antrópica. Chokklingam e De Jong (2001) afirmam que as florestas secundárias são aquelas em regeneração natural, após significantes distúrbios humanos e/ou naturais na vegetação da florestal original, podendo ter ocorrido uma única vez ou, progressivamente por longos períodos. A Resolução nº 10, de 1º outubro de 1993, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), define vegetação secundária ou em regeneração, como a resultante de processos naturais de sucessão, após supressão total ou parcial da vegetação primária, por ações antrópicas ou causas naturais (Reis 2007).

O funcionamento de áreas em processo de restauração baseia-se no restabelecimento dos processos ecológicos que propiciarão a auto-perpetuação da comunidade vegetal. A implantação de espécies que garantam o restabelecimento desses processos junto com a escolha de espécies que garantam um padrão de alta diversidade, têm sido usados para desenvolver esquemas de plantio para prever se os objetivos da restauração serão alcançados (Davide e Botelho 1999, Gandolfi *et al.* 2015). Devido à interação espécie-ambiente, as espécies podem apresentar comportamentos contrastantes quando plantadas em diversos ambientes (Pereira *et al.* 2015). Por isso, para a distribuição das espécies no campo é importante considerar as características naturais das espécies, principalmente aquelas que são adaptativas, com a finalidade de garantir que a restauração siga a estrutura e a dinâmica das florestas (Kageyama *et al.* 2008, Rodrigues e Gandolfi 2001). Rodrigues e Gandolfi (1996) enfatizam a necessidade de uma lista de espécies da floresta que se almeja recompor, procurando respeitar padrões da adaptabilidade das espécies. É muito comum no Brasil, casos onde

espécies exóticas ou agressivas são as principais barreiras a serem superadas no processo de restauração (Pereira *et al.* 2015). Além da riqueza, boa parte dos padrões funcionais que caracterizam o ecossistema, tal como a estrutura das comunidades, as interações ecológicas, a composição funcional e os processos biogeoquímicos, estão fortemente correlacionados com a riqueza de espécies presentes na floresta restaurada (Brancalion *et al.* 2010).

A tentativa de separação de espécies em diferentes grupos quanto a sucessão secundária foi defendida por alguns autores (Denslow 1980, Whitmore 1982). Swaine e Withmore (1988) categorizam as espécies arbóreas em pioneiras e clímax, sendo este último grupo subdividido em clímax exigente de luz e clímax tolerante à sombra. De acordo com esses autores, as espécies pioneiras estabelecem-se após perturbações que expõem o solo à luz, sendo que as espécies clímax exigentes de luz também e com um ciclo de vida maior do que as pioneiras. Já as espécies clímax tolerantes à sombra desenvolvem-se lentamente, à sombra das espécies pioneiras e clímax exigentes de luz, até atingirem o dossel.

Além da exigência ou não de luz para o restabelecimento, as espécies também dispõem de estratégias de adaptação que facilitam a sobrevivência e a reprodução dentro da sucessão de ambientes (Piña-Rodrigues *et al.* 1990). O sucesso da conquista do ambiente depende de fatores, como a amplitude geográfica da espécie, abundância da mesma na fase de chegada, características genéticas e fenotípicas, bem como a associação entre estes e o meio ambiente (Williamson e Fitter, 1996).

Em relação ao sucesso de conquista de ambientes, a alelopatia tem sido reconhecida como um importante mecanismo ecológico que influencia a dominância e a sucessão de plantas, a formação de comunidades, a vegetação clímax e o manejo (Chou,

1986, Goldfarb *et al.* 2009). Estas interações alelopáticas são responsáveis pelo estabelecimento e sobrevivência de certas espécies no meio ambiente e representam mecanismos adquiridos ao longo de um processo evolutivo (Gatti 2008, Nicolini *et al.* 2012). Por essas razões mecanismos alelopáticos podem influenciar direta ou indiretamente no sucesso de implantação de processos de restauração ecológica.

## 2.2. Alelopatia

O termo alelopatia vem do grego *allelon* = de um para o outro, *pathós* = sofrer (Ferreira e Aquila, 2000, Rodrigues e Lopes 2001, Weir *et al.* 2004, Bhadoria 2011) e foi introduzido pela primeira vez pelo botânico Hans Molisch em 1937 como a influência de uma planta no crescimento e estabelecimento de outra planta, através da liberação de compostos químicos no ambiente (Rice 1984, Weston 2005, Teasdale *et al.* 2012, Saldanha 2013). Mais recentemente, a Sociedade Internacional de Alelopatia a definiu como: “qualquer processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e vírus que influencia no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e na agricultura; estudo das funções de metabólitos e seus significados na organização dos sistemas biológicos, a origem e evolução dos mecanismos envolvendo interações planta-planta, planta-microorganismos, planta-vírus, planta-inseto, planta-solo” (Mallik e Inderjit 2002).

Desde a antiguidade, sabe-se que algumas espécies vegetais podem prejudicar o crescimento de outras (Gatti 2003). As primeiras observações, de plantas que causavam impacto no crescimento de outras espécies vegetais, foram relatadas por Democritus (500 a.C.) e Theophrastus (300 a.C.) (França 2007). Estes observaram que espécies como grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.) não revigoravam o solo, ao contrário, o exauria, além de eliminarem outras plantas invasoras (Rice 1984, Weston 2005).

De Candolle, um dos primeiros a realizar ensaios de toxicidade associada a exsudatos de raízes (Rice 1984, Singh *et al.* 2001, Weston 2005, França 2007), sugeriu, em 1823, que o "cansaço" das terras na agricultura, era decorrente de exsudados liberados pela própria cultura (Rice 1984, Gatti 2003).

Lee e Monsi (1963) relatam um documento japonês de autoria de Banzan Kumazawa, escrito a cerca de 300 anos, no qual descrevem que a chuva e o orvalho arrastavam para o solo produtos químicos contidos nas folhas de pinheiro (*Pinus densiflora* Siebold e Zucc.), os quais prejudicavam as culturas localizadas embaixo da copa das árvores.

Com o crescente interesse nesta área, as relações estabelecidas por interações alelopáticas em ecossistemas naturais vêm sendo largamente discutidas, principalmente devido à existência de muitas questões não respondidas, porém essenciais para a compreensão desse fenômeno (Scognamiglio *et al.* 2013).

Do ponto de vista ecológico, a alelopatia é reconhecida pelo seu papel facilitador na conquista de novos ambientes por espécies consideradas invasoras. Tais espécies usam compostos químicos contra plantas vizinhas, as quais em geral são sensíveis a esses metabólitos (Callaway e Ridenour 2004). Por influenciar o desenvolvimento de outras espécies, a alelopatia é capaz de alterar o equilíbrio ecológico, representando uma estratégia de proteção natural contra "inimigos" e plantas competidoras (Prince e Pohnert 2010).

Embora a alelopatia possa ser verificada entre todos os organismos, é nas plantas que ela é mais comum e evidente. É um mecanismo de defesa contra patógenos, pragas, herbívoros e outras plantas. Mesmo depois de mortas, as substâncias alelopáticas ainda se mantêm nos seus tecidos, podendo ser lançadas para o meio (Neves 2005).

De acordo com Whittaker e Feeny (1971), os efeitos alelopáticos de uma planta são aceitos desde que sejam comprovados: (a) que um inibidor químico efetivo esteja sendo produzido e ocorra numa concentração potencialmente efetiva no solo e (b) que a inibição não seja por efeito de competição da planta por luz, água e nutrientes, nem por uma atividade animal.

Rimando *et al.* (2001) sugerem que o isolamento de bioensaios controlados é uma das formas para se descobrir fitotoxinas naturais e novos locais de ação, quando um composto ativo ainda é desconhecido.

Várias observações surgiram após a definição desse fenômeno, constatando-se que plantas podem interferir sobre outra da mesma espécie ou de espécies diferentes (Silva *et al.* 2007), causando efeitos nocivos sobre as mesmas (Herrera 1995). Tal interferência baseia-se na liberação de compostos químicos, provenientes de metabolismo secundário, que agem isoladamente ou em conjunto (Rice 1977, Taiz e Zeiger 2009).

### 2.3. Aleloquímicos

As plantas produzem um amplo espectro de metabólitos secundários, com uma grande diversidade química. Muitos destes compostos são alelopáticos na natureza possuindo uma grande papel na defesa vegetal (Tomar *et al.* 2015), além de estarem envolvidos em muitos processos metabólicos e ecológicos (Oliveira *et al.* 2006), como proteção, quelação de nutrientes e regulação da biota do solo, afetando a decomposição e a fertilidade do solo (Inderjit *et al.* 2011).

Até a década passada, mais de 10 mil produtos químicos foram classificados como alelopáticos, pertencentes a vários grupos de substâncias (Piña Rodrigues e Lopes 2001). Os compostos secundários incluem as principais classes de quinonas, fenóis,

ácidos cinâmicos, cumarinas, flavonóides, taninos, terpenos, esteróides, alcalóides entre outras (Gatti 2003, Herrera 1995). Estes podem ser encontrados em todas as partes dos vegetais, como caules, folhas, raízes, inflorescências e flores, frutos e sementes (Gatti *et al.* 2004) e sua produção sofre influência de fatores ambientais, físicos e químicos, podendo variar até mesmo entre populações (Gobbo-Neto e Lopes 2007, Bhadoria 2011).

Os produtos do metabolismo secundário podem atingir o ambiente por diversos modos, como através de degradação de partes vegetais, de volatilização, de lixiviação de folhas e de exsudação de raízes (Rice 1984, Rizvi *et al.* 1992, Piña Rodrigues e Lopes 2001, Weir *et al.* 2004, Albuquerque *et al.* 2010). Sementes também possuem a capacidade de liberar aleloquímicos após o início do processo de embebição, os quais podem contribuir para o comportamento invasivo de algumas espécies (Ndakidemi e Dakora 2003, Iqbal e Fry 2012). Sob as condições ambientais adequadas, estas fitotoxinas podem ser liberadas no meio em quantidades suficientes para afetar o crescimento das plantas vizinhas (Weston 1996, Weston 2005).

As fitotoxinas podem ser sintetizadas em concentrações variáveis, de acordo com a espécie produtora, idade e condições edafoclimáticas do ambiente (Alves 2003, França 2007), que podem diminuir ou aumentar a intensidade de seus efeitos (Bauer *et al.* 2012). Da mesma forma, partes da planta como folha, casca e galhos podem apresentar diferentes efeitos alelopáticos, dependendo da planta receptora (Sartor *et al.* 2015).

O modo de ação dos aleloquímicos pode ser dividido em ação direta e indireta (Ferreira e Aquila 2000) sobre a planta alvo. A ação indireta pode incluir alterações nas propriedades do solo, de suas condições nutricionais e alterações de populações e/ou atividade dos microorganismos, podendo então afetar a planta alvo. Os efeitos diretos,

que são mais estudados, incluem alterações no crescimento e no metabolismo vegetal, ocorrendo quando o aleloquímico liga-se às membranas da planta ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo (França 2007).

Para Einhelling (1996) a inibição alelopática é fruto da ação combinada de grupos de aleloquímicos, que interferem nos mais variados processos fisiológicos. Esses fitoquímicos podem inibir a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas (Alves *et al.* 2004, Perry *et al.* 2007), produzindo efeitos na produção de metabólitos, em estruturas citológicas e ultra-estruturais, hormônios, membranas e sua permeabilidade, absorção de nutrientes, movimento dos estômatos, síntese de pigmentos e fotossíntese, respiração, síntese de proteínas, atividade enzimática, relações hídricas e alterações do DNA e RNA (Rice 1984, Einhelling 1986, Rizvi *et al.* 1992, Inderjit e Dakshini 1995, Spiassi *et al.* 2015). No solo, combinam-se de várias maneiras e, embora não se conheça todas as suas funções e substâncias, as que se conhecem podem interferir fortemente no metabolismo de outros organismos (Medeiros e Lucchesi 1993).

A interferência das substâncias alelopáticas dificilmente é provocada por um único fator isolado, mas sim pela união e ação sinérgica conjunta de várias destas substâncias somadas às condições ambientais (Almeida 1988). A falta geral de compreensão das dinâmicas qualitativas e quantitativas de aleloquímicos na rizosfera é um dos fatores que dificulta o entendimento desse processo (Weidenhamer 1996). É necessário provar que uma substância tóxica é produzida e se acumula, ou persiste o tempo suficiente no ambiente, em concentrações capazes de inibir o desenvolvimento de outras plantas (Radosevich e Holt 1984, Weidenhamer 2005). Segundo White *et al.* (1989) citado por Rosa *et al.* (2013), o efeito da alelopatia obtido em bioensaio é de difícil caracterização, pois não são levados em consideração fatores como o solo, alterações moleculares, clima, microorganismos e planta, sendo difícil extrapolar os

resultados para as condições naturais. Goetze e Thomé (2004) afirmam que os processos utilizados para demonstrar o efeito alelopático que determinados extratos possuem, não provam mais do que a existência de aleloquímicos no material vegetal, não podendo inferir que em condições de campo elas se manifestem. No ambiente, o efeito pode se mostrar de diferente intensidade aos de testes de laboratório (Rosa *et al.* 2011).

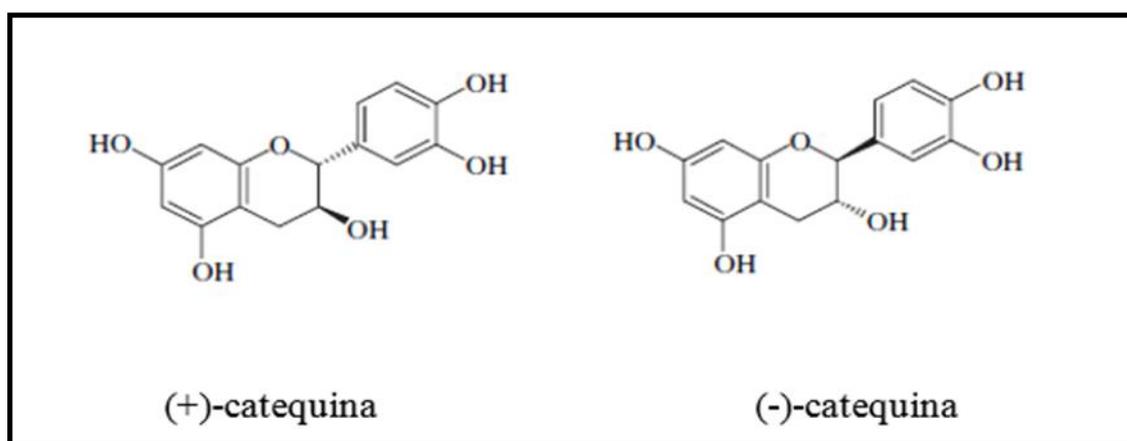
A produção desses aleloquímicos representa um importante mecanismo ecológico, utilizado por plantas nativas ou exóticas, para competir e dominar as comunidades vegetais, modificando a estrutura, a composição das comunidades vegetais e afetando o recrutamento de espécies nativas durante o processo de sucessão em florestamentos (Larcher 2000, Scrivanti *et al.* 2003, Rosa *et al.* 2013). Assim, a vegetação de uma determinada área pode ter um modelo de sucessão condicionado às plantas pré-existentes e às substâncias químicas que elas liberaram no meio (Ferreira e Aquila 2000).

Dentro dessa dinâmica ecológica, sabe-se que as fitotoxinas produzidas por espécies consideradas invasoras são eficazes sobre as espécies nativas das áreas invadidas em relação àquelas com as quais a planta invasora co-ocorre naturalmente (Perry *et al.* 2005, Inderjit *et al.* 2008, He *et al.* 2009, Thorpe *et al.* 2009). Porém, algumas espécies compartilham do mesmo ambiente e não produzem tais aleloquímicos, podendo ser relativamente resistentes a esses metabólitos. Em geral são espécies que co-evoluíram e provavelmente desenvolveram mecanismos de resistência a esses fitoquímicos (Veronesi 2013). Como essa situação não é muito comum, a espécie invasora tem maior vantagem competitiva em uma nova região quando comparada à sua região nativa, garantindo seu sucesso na invasão (Bais *et al.* 2006).

## 2.4. Catequina

Catequinas são substâncias pertencentes ao grupo dos fenóis, que podem ter origem nas vias do ácido chiquímico ou mevalônico, sendo reguladas por fatores ambientais como níveis de nutrientes do solo, intensidade luminosa e infecções por patógenos (Novaes 2011). As catequinas, estão localizadas no subgrupo dos flavonóides, que ocorre amplamente nas plantas, sugerindo ser um estratégia evolutiva dos vegetais, podendo ser armazenadas ou liberadas no ambiente (Chobot e Huber 2009).

Esses metabólitos estão presentes em diversas plantas na forma de dois enantiômeros, a (-) e a (+)-catequina (Figura 1) e são conhecidos por sua fitotoxicidade (Buta e Lusby 1986, Bais *et al.* 2002, 2003). Ensaio laboratoriais mostraram que a catequina tem efeitos fitotóxicos sobre uma grande variedade de plantas, porém seu nível de toxicidade varia de acordo com a espécie ensaiada e com as condições experimentais (Inderjit *et al.* 2008). Em raízes de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. essa substância levou à produção de espécies reativas de oxigênio, seguida de um aumento nos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  e acidificação do citoplasma, com a conseqüente morte celular (Bais *et al.* 2003).



**Figura 1:** Estrutura química do flavonóide (+) e (-) catequina respectivamente (Adaptado de Pang *et al.* 2007).

Foi verificado que *Centaurea maculosa* (Asteraceae), uma espécie nativa da Eurásia, afeta a germinação e desenvolvimento de gramíneas nativas dos Estados Unidos (Bais *et al.* 2002, He *et al.* 2009). De acordo com esses autores, esse efeito provavelmente está relacionado ao fato de suas raízes exsudarem uma mistura racêmica de (+) e (-)-catequina, capaz de conferir vantagens para *C. maculosa* em períodos críticos do desenvolvimento.

Um outro estudo, realizado por Lôbo *et al.* (2008), sobre o efeito alelopático da catequina, mostrou que a substância possui poder inibitório. No estudo foram preparados extratos foliares de *Tachigali myrmecophyla* (Ducke) Ducke, nos quais foi detectada a presença de catequina. As avaliações dos efeitos potencialmente alelopáticos da substância isolada e identificada nos extratos foram realizadas frente à germinação de sementes, bem como ao desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas daninhas malícia (*Mimosa pudica* Benth.) e mata pasto (*Senna obtusifolia* (L.) H.S. Irwin e Barneby). Os resultados mostraram que a catequina afetou negativamente a germinação das sementes das espécies de plantas invasoras de pastagens analisadas, porém seu efeito foi mais expressivo no desenvolvimento.

Ceballos *et al.* (1998) verificaram a exsudação de catequinas, proantocianidinas e luteolina por duas espécies de sesbania. Em *Sesbania drummondii* (Rydb) Cory (espécie perene), o flavonóide (+)-catequina foi encontrado em quantidade superior à de (-)-catequina e em *Sesbania vesicaria* (Jacq.) Ell. (espécie anual) houve o predomínio de (-)-catequina. O trabalho indicou que segunda espécie é mais suscetível a ataque de fungos e que os exsudatos de suas sementes não causam inibição do crescimento destes microrganismos.

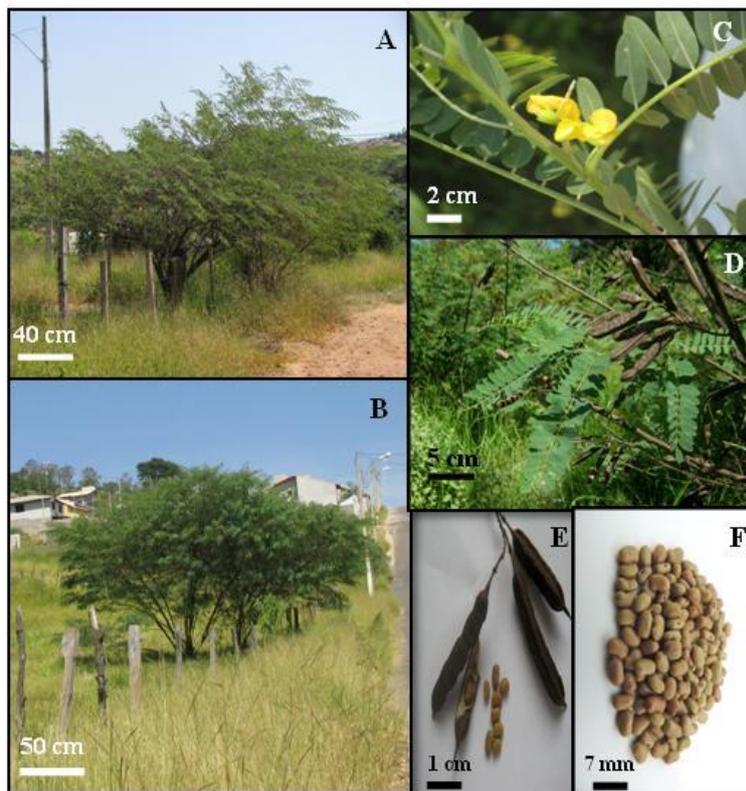
Estudos recentes relatam que catequina isolada, quando aplicada em sementes de espécies florestais nativas e em sementes de espécies cultivadas, afetou negativamente o

crescimento radicular de todas as espécies testadas (Simões *et al.* 2008, Veronesi 2013, Coelho 2014). Atualmente, são poucos os trabalhos que discutem o efeito da ( $\pm$ )-catequina exsudada por espécies nativas, principalmente por sementes (Mignoni 2015).

### 2.5. *Sesbania virgata*

*Sesbania virgata* (Cav.) Pers., material biológico neste estudo, pertence à família Fabaceae e é uma espécie pioneira, nativa da América do Sul (Araújo *et al.* 2004), encontrada nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, além de já ter sido documentada no Paraguai, Argentina e Uruguai (Pott e Pott 1994). Apresenta aproximadamente três metros de altura e habita freqüentemente beira de rios, lagoas, banhados, solos alagados, arenosos e argilosos (Souza *et al.* 2011) (Figura 2). Possui um alto e rápido índice de germinação e de desenvolvimento, o que faz com que a espécie apresente um alto potencial de cobertura do solo (Coutinho *et al.* 2005). Por causa dessa facilidade de conquista de ambientes, as vezes considerados inóspitos para algumas espécies, *sesbania* é uma espécie indicada e utilizada para restauração de áreas degradadas por mineração (Coutinho *et al.* 2005, Florentino *et al.* 2009, Souza *et al.* 2010).

Apesar de ser uma planta nativa do Brasil, *S. virgata* é considerada como uma espécie invasora. No nordeste brasileiro, por exemplo, *sesbania* vem ocupando áreas às margens de rios e de reservatórios, mostrando-se capaz de provocar impactos ambientais em matas ciliares, onde a mesma é capaz de suprimir a regeneração natural e de formar maciços populacionais dominantes (Andrade 2006).



**Figura 2:** Aspecto da árvore (A e B), da flor (C), do fruto e da folha (D), do fruto e da semente (E) e da semente (F) de *Sesbania virgata*. Foto: El Id 2014.

Sementes de *S. virgata* apresentam alta longevidade, o que favorece a formação de bancos transitórios de sementes no solo (Souza *et al.* 2011), e apresentam dormência tegumentar, o que as tornam impermeáveis à água. Isso garante sua sobrevivência até que encontrem condições favoráveis para os processos de germinação e estabelecimento das plântulas (Pott e Pott 1994, Silva *et al.* 2011). Há acúmulo de galactomanano nas células do endosperma, um polissacarídeo de reserva que é mobilizado após a germinação, e cujos produtos de degradação são utilizados para o desenvolvimento do embrião (Buckeridge e Dietrich 1996). Parte dos açúcares gerados durante a mobilização do galactomanano é exsudada para o meio de embebição, justamente com substâncias fitotóxicas e antifúngicas, sugerindo a existência de estratégias competitivas e de defesa que garantem o estabelecimento inicial da plântula (Simões 2008).

Recentemente foi demonstrado por Simões (2008) que o flavonóide (+)-catequina é a principal fitotoxina exsudada por essas sementes e que ela inibe o desenvolvimento de plântulas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. e *Oryza sativa* L., retardando também a germinação de outras espécies cultiváveis, como alface e tomate. A (+)-catequina foi encontrada no tegumento das sementes de *S. virgata*, sendo liberada em altas concentrações (235 µg /semente) após 24 horas de embebição (Simões *et al.* 2008).

Em outros trabalhos realizados pelo grupo no qual esse estudo está inserido, foi demonstrado que os exsudatos de sementes de sesbania causam atraso na germinação, no desenvolvimento e na mobilização dos carboidratos de reserva em espécies cultivadas. Foi observado por Veronesi (2013) um efeito mais intenso dos exsudatos de sementes de *S. virgata* sobre a radícula e o metabolismo de carboidratos de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, (espécie secundária), em relação ao crescimento de *Peltophorium dubium* (Spreng.) Taub. (espécie pioneira). Os resultados obtidos demonstraram que espécies co-ocorrentes também sofrem influência dos exsudatos de *S. virgata*, entretanto, esta é menos intensa que aquela observada para espécies cultivadas. Coelho (2014) demonstrou que sementes de sesbania apresentaram efeito alelopático sobre sementes de tomate e arroz causando inibição ou atraso da germinação respectivamente, e reduzindo o desenvolvimento inicial das plântulas.

El Id *et al.* (2015) verificaram que, em ensaios de co-germinação com sementes de *S. virgata*, o número crescente de sementes de sesbania (0, 5 e 10 sementes) causou diminuição do processo germinativo de espécies cultiváveis e arbóreas, sendo essa diminuição mais acentuada nas cultiváveis. Em relação ao desenvolvimento inicial, tanto as espécies arbóreas quanto as espécies agrônômicas foram afetadas quando em contato com sementes de *S. virgata*. Neste mesmo trabalho, ensaios realizados com

extratos foliares de sesbania nas concentrações (peso/volume) 0,1, 0,5 e 1% mostraram que a taxa germinativa e o desenvolvimento inicial das espécies arbóreas e agrônômicas não foram afetados negativamente, sugerindo que a maior fonte de aleloquímicos de sesbania não esteja nas folhas e ramos, mas sim nas sementes.

Mignoni (2015) relatou que sementes de *Leucaena leucocephala* (leucena), uma espécie exótica, foram sensíveis às fitotoxinas de sementes de sesbania. Ao analisar a co-germinação de sesbania com leucena foi observado atraso na germinação das sementes e inibição no desenvolvimento inicial da espécie exótica. O estudo também relatou que ocorreram alterações no metabolismo dos carboidratos ao longo da germinação de leucena quando na presença das sementes e dos exsudatos de sesbania. Segundo a autora, é possível que *S. virgata* seja capaz de causar inibição no crescimento de *L. leucocephala*, causando desvantagens para esta espécie em estágios iniciais de colonização no ambiente ao ter contato com as substâncias liberadas por sesbania.

De acordo com a hipótese de que fitoquímicos produzidos por espécies invasoras conferem maiores vantagens sobre as espécies nativas das áreas invadidas contra aquelas com as quais a invasora naturalmente ocorre, plantas que co-ocorrem com espécies que secretam fitotoxinas desenvolveram mecanismos de resistência a esses aleloquímicos (Perry *et al.* 2005, Inderjit *et al.* 2008, He *et al.* 2009, Thorpe *et al.* 2009, Veronesi 2013). Contudo, existem poucas informações sobre alvos fisiológicos dessa fitotoxina no metabolismo de sementes e sobre o efeito em espécies que co-ocorrem com *S. virgata*, (Coelho 2014, El Id *et al.* 2015) além da escassez de análises realizadas em condições não controladas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

- Analisar o efeito inibitório das sementes de *Sesbania virgata* sobre espécies co-ocorrentes com ela no ambiente natural.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Verificar se a catequina é o principal aleloquímico exsudado por sementes de *S. virgata*, em condições controladas e não controladas, para correlacionar com sua real dinâmica em ambiente natural.

- Verificar qual o estágio do desenvolvimento das espécies co-ocorrentes com *Sesbania* é afetado pelo potencial inibitório de suas sementes.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Obtenção do material biológico

Os frutos maduros de *S. virgata* foram coletados de diferentes matrizes, de três populações previamente conhecidas e analisadas quanto à presença de catequina. Tais populações estavam localizadas na Estrada do Madeira, no município de Lavras, Estado de Minas Gerais, nas seguintes coordenadas geográficas: UTM 7652792 23K 0499291 (local 1-M1), UTM 7652965 23K 0499306 (local 2-M2) e UTM 7653549 23K 0498864 (local 3-M3). Após coletados, os frutos foram levados para o Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram despulpados com auxílio de martelo de borracha e de sacos de rafia. As sementes extraídas foram então separadas dos frutos quebrados com auxílio de peneiras.

Basicamente se pretendeu analisar o efeito das sementes de *S. virgata*, quando co-germinadas com espécies com as quais convive em seu ambiente natural, assim como de extratos produzidos a partir das sementes sobre as mesmas espécies. Para tanto, foram selecionadas espécies arbóreas que co-existiam com *S. virgata* nos locais indicados acima. Foi realizado um levantamento florístico nesses locais, através do qual foram identificadas as espécies existentes com altura igual ou superior a 1,20 metros e localizadas em um raio de 10 metros ao redor de cada população. Foram identificadas 23 espécies (Tabela 1), das quais três espécies, de diferentes estágios sucessionais, foram selecionadas de acordo com a disponibilidade de sementes. As sementes de *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze (pioneira) e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (clímax exigente de luz) foram obtidas de lotes do banco de sementes do Núcleo de Pesquisa em Sementes e as sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (clímax tolerante a sombra) (Ferreira *et al.* 2008) foram coletadas de diversas matrizes, localizadas no Jardim Botânico de São Paulo.

**Tabela 1:** Relação das espécies encontradas após levantamento florístico, nas áreas georreferenciadas de ocorrência de populações de *Sesbania virgata* (locais 1, 2 e 3) no município de Lavras, estado de Minas Gerais.

<b>Espécie</b>	<b>Família</b>	<b>Local</b>
<i>Alchornea triplinervia</i> (Spreng.) Müll.Arg.	Euphorbiaceae	2
<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	Cannabaceae	2 e 3
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Fabaceae	2*
<i>Croton urucurana</i> Baill.	Euphorbiaceae	3
<i>Dendropanax cuneatus</i> (DC.) Decne. e Planch.	Araliaceae	1
<i>Ficus gomelleira</i> Kunth	Moraceae	1
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Malvaceae	3
<i>Lithraea molleoides</i> (Vell.) Engl.	Anacardiaceae	3
<i>Machaerium nyctitans</i> (Vell.) Benth.	Fabaceae	2 e 3
<i>Mimosa bimucronata</i> (DC.) Kuntze	Fabaceae	1, 2 e 3*
<i>Myrsine umbellata</i> Mart.	Primulaceae	1
<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.	Fabaceae	3*
<i>Platypodium elegans</i> Vogel	Fabaceae	2
<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae	1 e 3
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Anacardiaceae	1
<i>Solanum granuloseprosum</i> Dunal	Solanaceae	1, 2 e 3
<i>Solanum lycocarpum</i> A.St.-Hil.	Solanaceae	2
<i>Solanum paniculatum</i> L.	Solanaceae	1 e 3
<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	2 e 3
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	Anacardiaceae	1 e 2
<i>Tapirira obtusa</i> (Benth.) J.D.Mitch.	Anacardiaceae	2
<i>Vernonia polyanthes</i> Less.	Asteraceae	3
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Lam.	Rutaceae	2

Obs.: (\*) espécie selecionada para a condução dos bioensaios.

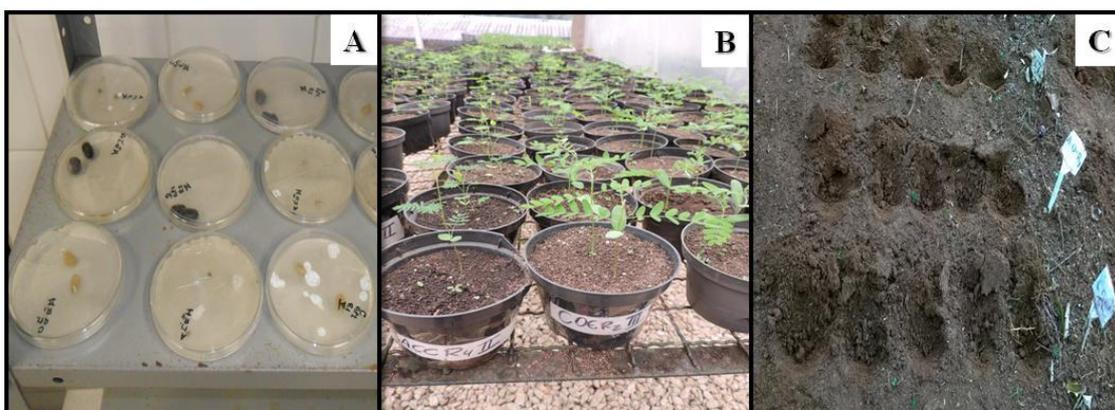
#### 4.2. Ensaio de co-germinação com sementes de *S. virgata*

Os bioensaios de co-germinação foram conduzidos em laboratório, em casa de vegetação e em solo de mata. Para a instalação dos experimentos, as sementes de *S. virgata*, de *P. dubium* e de *C. langsdorffii* foram escarificadas manualmente com lixa (folha P60) na região oposta ao hilo e, juntamente com *M. bimucronata*, foram desinfetadas com hipoclorito de sódio comercial a 10% por 10 minutos e lavadas posteriormente com água destilada em abundância.

Nos ensaios em laboratório, uma semente de cada espécie selecionada foi depositada em placa de Petri de acrílico (9 cm), com duas folhas de papel filtro e

irrigada inicialmente com 5 mL de água destilada (Figura 3A). Ao lado das sementes dessas espécies foram depositadas 0 (controle), 5 e 10 sementes de *S. virgata*, constituindo três tratamentos de co-germinação por espécie testada. Os tratamentos foram alocados em câmara de germinação à 25°C, com luz contínua, irrigados com água destilada a cada 48 horas e avaliados diariamente. Ao final do processo germinativo foram avaliados a taxa (%) e o índice de velocidade de germinação (IVG) e após 15 dias do início da germinação de cada espécie, foi avaliado o comprimento radicular das mesmas.

Os três tratamentos citados acima com as espécies testadas foram aplicados em casa de vegetação e em solo, onde as placas de Petri foram substituídas por vasos (415 mL) e por sementeira em covas de aproximadamente 15 cm de diâmetro, respectivamente (Figura 3B e 3C).



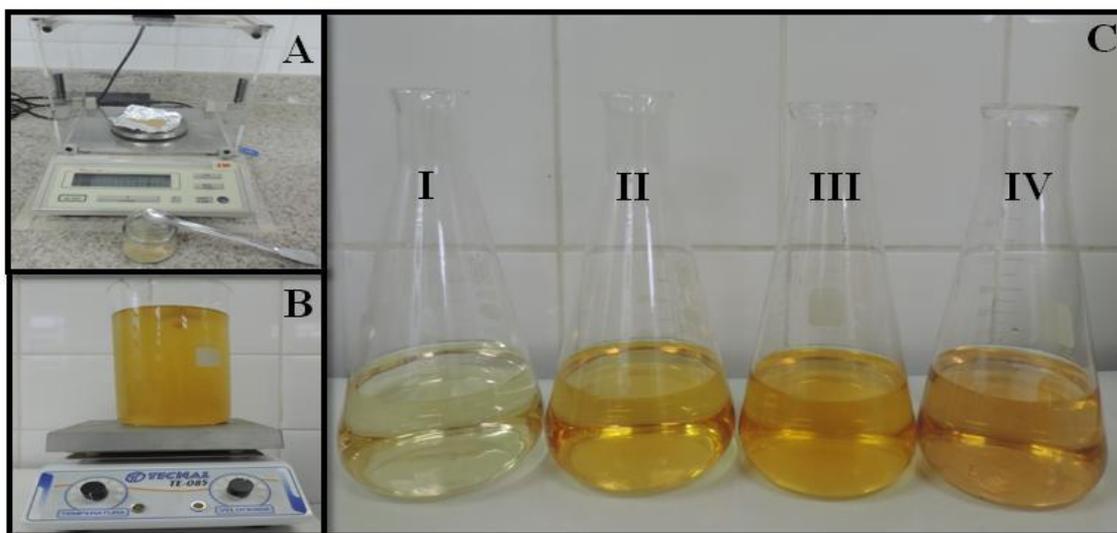
**Figura 3:** Sementes das espécies selecionadas, depositadas em Placas de Petri (A), em vasos (B) e em covas no solo (C). Foto: El Id 2015.

Tanto na casa de vegetação como no solo de mata, os tratamentos foram irrigados com água e avaliados diariamente, sendo considerada como germinação a emergência da parte aérea. Foram avaliados a taxa de germinação (%) e o índice de velocidade de emergência (IVE) das espécies testadas. Ao final de três meses, a partir da emergência da parte aérea de cada espécie, foram coletados dados de altura da parte aérea, de diâmetro do colo e de massa fresca e seca da parte aérea e da raiz.

### 4.3. Ensaio de irrigação com extratos de sementes de *S. virgata*

#### 4.3.1. Preparação dos extratos com sementes de *S. virgata* e quantificação de catequina

Para a produção dos extratos aquosos, utilizados para irrigação dos bioensaios, 1000 sementes coletadas das populações de *S. virgata* foram escarificadas manualmente na região oposta ao hilo, com auxílio de lixa (folha P60) e colocadas para embeber em 300 mL de água destilada em caixas plásticas escuras do tipo gerbox (11x11x3,5cm), durante oito horas em câmara climatizada a 25°C. Após esse período, os tegumentos das sementes foram extraídos com lâmina de bisturi, armazenados em envelopes de papel alumínio e congelados. O material congelado foi liofilizado por 48 horas e macerado em moinho de bolas. Após pesado, o material foi então dissolvido em água destilada, filtrado e diluído nas seguintes concentrações (peso/volume): 0,1, 0,5 e 1,0% (Figura 4) (El Id *et al.* 2015). Para a irrigação dos bioensaios também foram produzidos extratos aquosos com padrão de (+)- catequina (Sigma- Aldrich), na concentração de  $1\text{mg.mL}^{-1}$ .



**Figura 4:** Preparação dos extratos com tegumento de sementes de *S. virgata*, onde o tegumento em pó foi pesado (A), dissolvido em água destilada (B) e diluído (C) nas concentrações 0,1, 0,5 e 1% (I, II e III, respectivamente). O extrato com padrão de (+)-catequina foi preparado na concentração de  $1\text{mg.mL}^{-1}$  (IV).

Os extratos utilizados para a quantificação de catequina foram produzidos a partir de 250 sementes de cada população de sesbania. Para essas análises de quantificação, foram realizados os mesmos procedimentos citados para a confecção da extratos com tegumento das sementes oriundas dos locais 1, 2 e 3. No entanto, o material proveniente de cada população, após macerado e pesado, foi dissolvido em água destilada, filtrado e diluído na concentração de  $1\text{mg.mL}^{-1}$ . Para as análises, foram retiradas alíquotas de 15 mL de cada um dos três extratos, as quais foram submetidas à partições líquido-líquido por três vezes em o dobro de volume com acetato de etila (Simões *et al.* 2008). A fração de acetato de etila foi filtrada com sulfato de sódio anidro e evaporada até a secura em rota-evaporador.

Para a quantificação de catequina, também foram coletados exsudatos de sementes de *S. virgata* em intervalos de seis horas durante um período de 48 horas (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 horas). Para isso, foram utilizadas três repetições para cada intervalo, com 50 sementes por repetição. As sementes foram escarificadas

manualmente com lixa (folha P60) e colocadas para embeber em 250 mL de água destilada dentro de placas de Petri de vidro (9 cm). As placas foram colocadas em caixas pretas do tipo gerbox (11x11x3,5cm) e alocadas dentro de câmara climatizada a 25°C. Após cada intervalo de seis horas, o material líquido foi coletado das placas de Petri e armazenado em freezer, em recipientes envoltos em papel alumínio. Para a extração, alíquotas de 15 mL foram retiradas e submetidas à partições líquido-líquido por três vezes em o dobro de volume com acetato de etila. A fração de acetato de etila foi filtrada com sulfato de sódio anidro e evaporada até a secura em rota-evaporador.

As frações secas de acetato de etila, obtidas dos três procedimentos mencionados anteriormente, foram solubilizadas com 2 mL de metanol e purificadas com filtro Millipore de 0,45 µm. Foram retiradas alíquotas de 20 µL para aplicação em coluna C<sub>18</sub> em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) Agilent 1220 Infinity System DAD. A separação foi realizada em gradiente linear com metanol e água destilada acidificados com 0,1% de ácido acético (20% a 100% de metanol, vazão de 0,8 mL min<sup>-1</sup>). A detecção foi realizada no comprimento de onda de 280 nm e a identificação e a quantificação de catequina foram determinadas com a construção de uma curva padrão utilizando as seguintes concentrações de padrão de (+)-catequina (Sigma- Aldrich): 0,0625, 0,125, 0,025, 0,5 e 1,0 mg.mL<sup>-1</sup>), obtendo-se a equação de reta:  $y=2676x-903,3$ ;  $R^2: 0,982$ .

#### 4.3.2. Implantação dos bioensaios de irrigação com extratos aquosos

Os experimentos de irrigação com os extratos aquosos foram realizados em laboratório, em casa de vegetação e em solo de mata. Para a montagem, as sementes de *P. dubium* e de *C. langsdorffii* foram escarificadas manualmente com lixa (folha P60) na região oposta ao hilo e, juntamente com *M. bimucronata*, foram desinfetadas com

hipoclorito de sódio comercial a 10% por 10 minutos e lavadas posteriormente com água destilada em abundância.

Em laboratório, uma semente de cada espécie selecionada foi depositada em placa de Petri de acrílico (9 cm) sobre duas folhas de papel filtro. Esta foi inicialmente irrigada com 5 mL de água destilada (grupo controle), dos extratos concentrados produzidos a partir dos tegumentos de *S. virgata* e de extrato de (+)- catequina comercial (item 4.3.1), totalizando cinco tratamentos de irrigação por espécie. Os tratamentos foram alocados em câmara de germinação à 25°C, com luz contínua, irrigados a cada 48 horas e avaliados diariamente. Ao final do processo germinativo foram avaliados a taxa (%) e o índice de velocidade de germinação (IVG) e após 15 dias do início da germinação de cada espécie, foi avaliado o comprimento radicular das mesmas.

Em casa de vegetação, os cinco tratamentos citados acima foram alocados em vasos (415 mL) e, em solo de mata, foram instalados por meio de semeadura em covas de aproximadamente 10 cm de diâmetro. Esses dois últimos ensaios foram irrigados com água e avaliados diariamente, sendo considerada como germinação a emergência da parte aérea. Foram avaliados a taxa de germinação (%) e o índice de velocidade de emergência (IVE) das espécies testadas. Ao final de três meses, a partir da emergência da parte aérea de cada espécie, foram coletados dados de altura da parte aérea, de diâmetro do colo e de massa fresca e seca da parte aérea e da raiz.

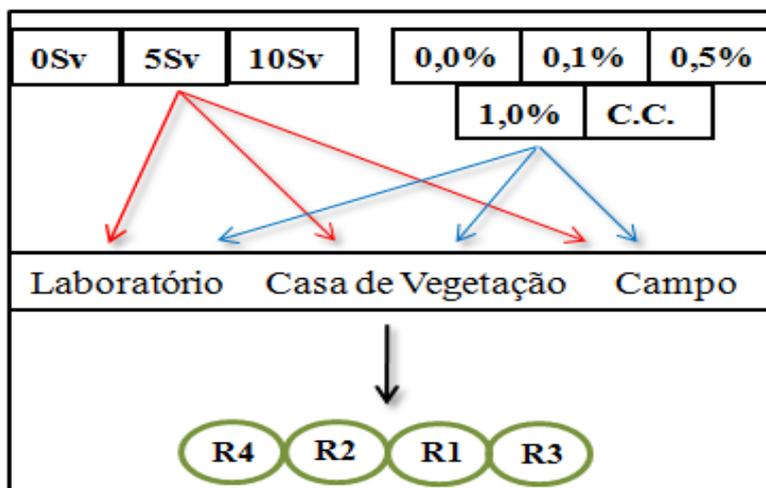
O índice de velocidade de germinação (IVG) dos bioensaios realizados em laboratório, citados nos itens 4.2 e 4.3.2., foi calculado segundo Maguire (1962), de acordo com a expressão:

$$IVG = N_1/1 + N_2/2 + N_3/3 + \dots N_n/n,$$

onde  $N_1$ ,  $N_2$ ,  $N_3$  e  $N_n$  são o número de sementes germinadas no primeiro, segundo, terceiro e enésimo dias após a semeadura, respectivamente. O índice de velocidade de emergência (IVE) dos bioensaios realizados em casa de vegetação e em solo de mata foi calculado através dessa expressão, porém em  $N_1$ ,  $N_2$ ,  $N_3$  e  $N_n$  considerou-se o número de plântulas emergidas no primeiro, segundo, terceiro e enésimo dia, após a semeadura.

#### 4.4. Delineamento experimental e análise estatística

Todos os tratamentos foram constituídos de quatro repetições cada, com cinco indivíduos por repetição (Figura 5) e dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Com o encerramento dos experimentos, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias Tukey com nível de significância de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), através do programa estatístico SISVAR 5.3 (Ferreira 2010). Para os dados referentes ao desenvolvimento das espécies ao longo do tempo, foram ajustadas equações de regressão.



**Figura 5:** Esquema demonstrando a distribuição dos tratamentos dos ensaios de co-germinação (0, 5 e 10 sementes de *S. virgata*-Sv) e de irrigação com extratos (Catequina Comercial, 0,0, 0,1, 0,5 e 1,0%).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Ensaio de co-germinação: Processo Germinativo

Nos ensaios de co-germinação, de acordo com os dados expressos na Tabela 2, o aumento gradativo do número de sementes de sesbania, colocadas para germinar com as espécies florestais em condições laboratoriais, não causou diminuição significativa na porcentagem de germinação (%G) das mesmas. As sementes de *M. bimucronata* e *P. dubium* obtiveram germinação de 100% em todos os tratamentos, enquanto que as sementes de *C. langsdorffii* germinaram 85% no grupo controle (0Sv) e 70 e 65% nos tratamentos com 5 e 10 sementes de sesbania, respectivamente. Ainda de acordo com os dados apresentados na Tabela 2, referentes à porcentagem de germinação dos ensaios conduzidos em casa de vegetação demonstraram que o acréscimo de sementes de *S. virgata* não reduziu a germinação das três espécies em relação aos grupos controles. Os grupos controles de *M. bimucronata* e *P. dubium* germinaram 100% nessa condição experimental, enquanto que as sementes de *C. langsdorffii* germinaram 90%. Com o acréscimo de 5 sementes de *S. virgata*, as sementes de *M. bimucronata*, *P. dubium* e *C. langsdorffii* germinaram 95, 100 e 85%, respectivamente. Nos ensaios realizados em campo, a porcentagem de germinação de *M. bimucronata* e *P. dubium* não foi reduzida significativamente. No tratamento controle, a germinação dessas espécies foi registrada em 60 e 75% para tais espécies. Na presença de 10 sementes de sesbania, a germinação de *P. dubium* se manteve em 75% , enquanto que a %G de *M. bimucronata* aumentou para 75%. Já a germinação de *C. langsdorffii*, não sofreu alterações, sendo a germinação nos três tratamentos registrada em 75%. Nota-se que os tratamentos utilizados nessa condição experimental não foram significativos.

**Tabela 2:** Valores médios de Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE), obtidos nos ensaios de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv), em laboratório, em casa de vegetação e em campo.

Laboratório	0Sv	5Sv	10Sv
	% G		
<i>M. bimucronata</i>	100a	100a	100a
<i>P. dubium</i>	100a	100a	100a
<i>C. langsdorffii</i>	85a	70a	65a
	IVG		
<i>M. bimucronata</i>	0,45a	0,38ab	0,31b
<i>P. dubium</i>	0,31a	0,30a	0,31a
<i>C. langsdorffii</i>	0,12a	0,06a	0,05a
Casa de Vegetação	% G		
<i>M. bimucronata</i>	100a	95a	85a
<i>P. dubium</i>	100a	100a	85a
<i>C. langsdorffii</i>	90a	85a	80a
	IVE		
<i>M. bimucronata</i>	0,17a	0,15a	0,14a
<i>P. dubium</i>	0,15a	0,14a	0,11b
<i>C. langsdorffii</i>	0,04a	0,03a	0,03a
Campo	% G		
<i>M. bimucronata</i>	60a	60a	75a
<i>P. dubium</i>	75a	40a	75a
<i>C. langsdorffii</i>	75a	75a	75a
	IVE		
<i>M. bimucronata</i>	0,08a	0,08a	0,11a
<i>P. dubium</i>	0,08a	0,03a	0,08a
<i>C. langsdorffii</i>	0,02a	0,02a	0,02a

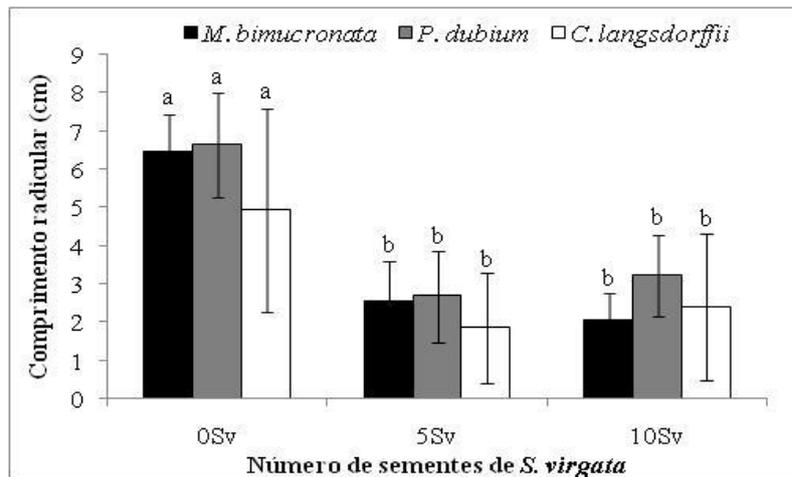
Obs.: Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Em relação aos dados coletados, em laboratório, do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) das espécies citadas acima, houve diminuição significativa deste parâmetro para as sementes de *M. bimucronata*, onde o grupo controle apresentou o IVG de 0,45, valor que foi reduzido para 0,38 e 0,31, conforme o aumento do número de sementes de *Sesbania* co-germinadas com sementes da espécie em questão (Tabela 2). Nesta condição experimental, as outras duas espécies não se mostraram sensíveis à presença dos exsudados das sementes de *S. virgata*, liberados durante o processo de

embebição. Nos ensaios realizados em casa de vegetação, o Índice de Velocidade de Emergência (IVE) de *M. bimucronata*, de *P. dubium* e de *C. langsdorffii* sofreu redução, em comparação ao tratamento controle, quando as sementes destas estiveram em contato com sementes de *S. virgata*, (Tabela 2). Contudo, essa diminuição foi significativa apenas para *P. dubium*, onde o contato com 10 sementes de sesbania reduziu o IVE da espécie, de 0,15 do grupo controle, para 0,11. Nos ensaios conduzidos em campo, não houve correlação significativa entre o aumento do número de sementes de sesbania e a diminuição do IVE das espécies em questão. O IVE das sementes de *M. bimucronata* aumentou em relação ao grupo controle e para as sementes de *C. langsdorffii*, o IVE se manteve o mesmo nos três tratamentos.

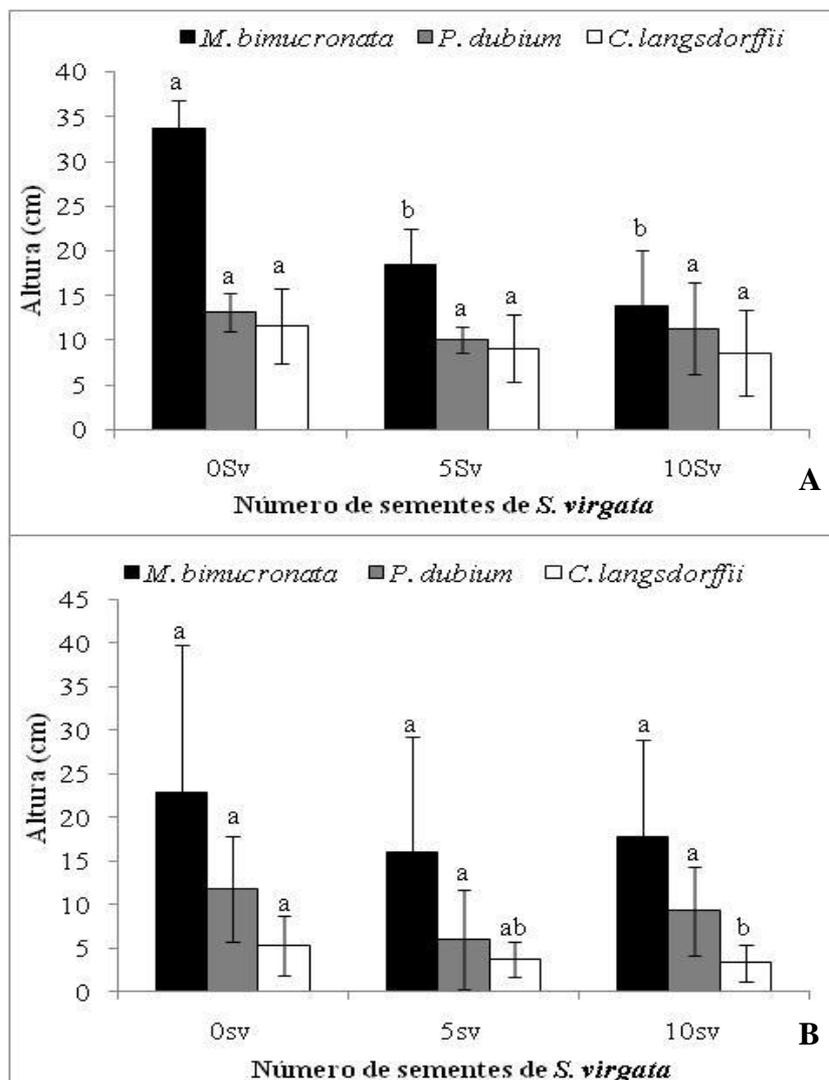
#### 5.2. Ensaio de co-germinação: Desenvolvimento inicial

O comprimento radicular das três espécies sofreu redução significativa com o acréscimo no número de sementes de sesbania (Figura 6). O grupo controle de *M. bimucronata*, *P. dubium* e *C. langsdorffii* apresentou comprimento radicular de 6,45, 6,64 e 4,94 cm, respectivamente. Os menores valores de comprimento radicular foram registrados para *P. dubium* e *C. langsdorffii*, no tratamento de co-germinação com 5 sementes de *S. virgata*. Para *M. bimucronata*, os menores valores foram registrados no tratamento com 10 sementes de sesbania.



**Figura 6:** Valores médios de comprimento radicular (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em laboratório. Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Os dados referentes à altura mostraram que, o aumento gradativo do número de sementes de sesbania co-germinadas, em vasos com sementes de *P. dubium* e *C. langsdorffii*, não causou redução significativa para essas espécies (Figura 7A). No entanto, de acordo com a Figura 7A, para as sementes de *M. bimucronata*, a altura foi reduzida significativamente, onde quanto maior o número de sementes de *S. virgata*, maior foi a diminuição desse parâmetro.

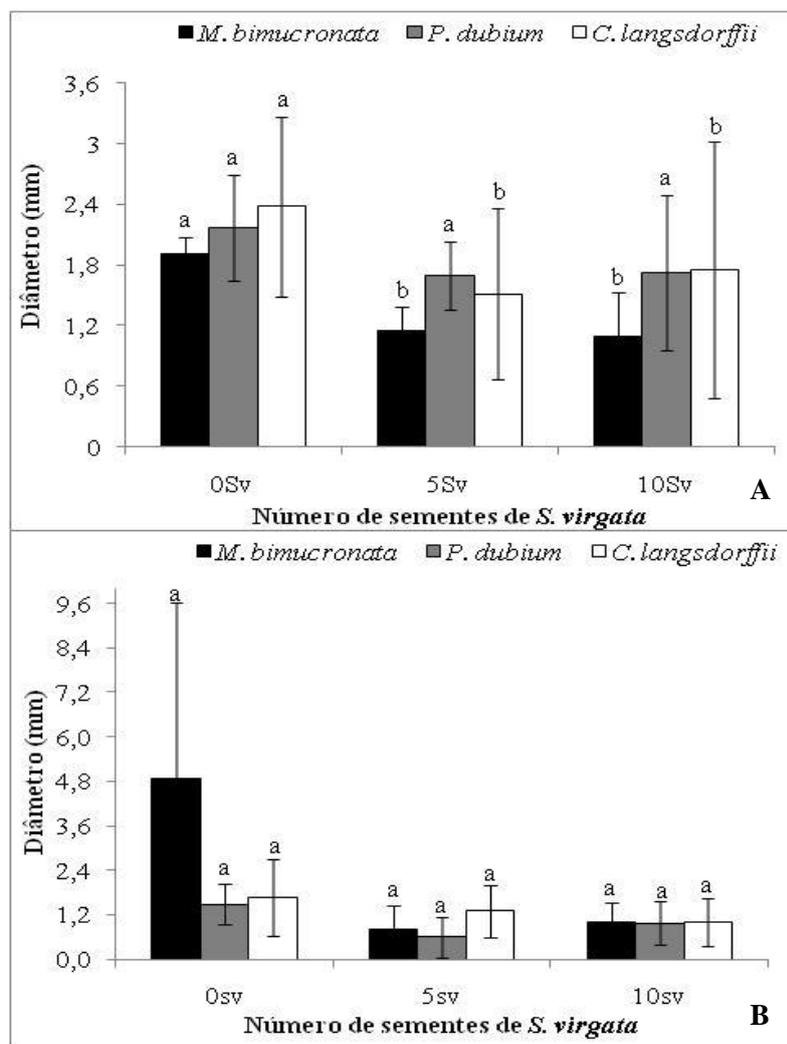


**Figura 7:** Valores médios de altura (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (A) e em campo (B). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao diâmetro das espécies co-germinadas em casa de vegetação, *M. bimucronata* e *C. langsdorffii* foram sensíveis às substâncias exsudadas por sesbania. O diâmetro de ambas foi reduzido significativamente conforme o aumento de sementes de *S. virgata* (Figura 8A). Ainda sobre o diâmetro das plântulas do ensaio em casa de

vegetação, os dados apresentados na Figura 8A mostram que não houve diminuição significativa desse parâmetro para as plântulas de *P. dubium*.

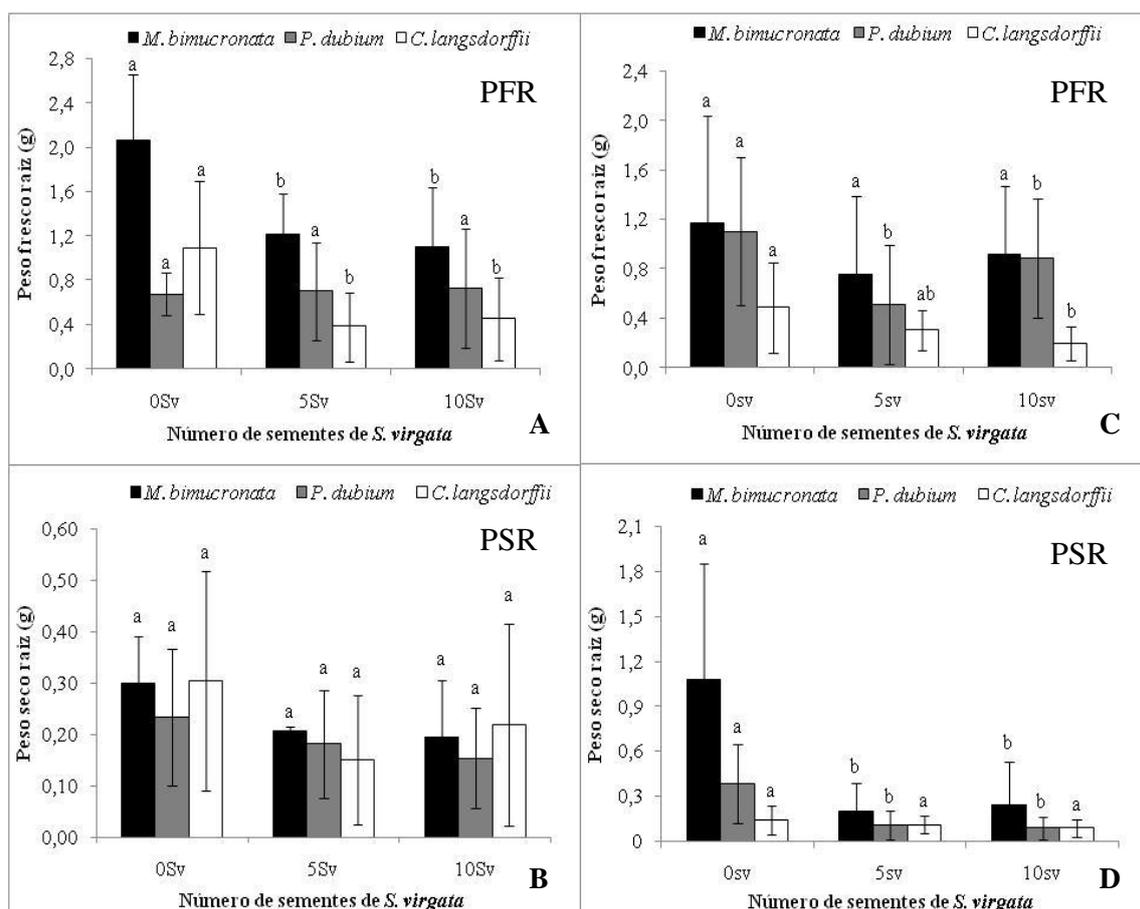
Os dados referentes à altura das espécies co-germinadas em campo, ilustrados na Figura 7B, mostraram que, apesar desse parâmetro ter sido reduzido em todas as espécies, quando comparado com o grupo controle, só houve diminuição significativa para as plântulas de *C. langsdorffii*. O diâmetro das plântulas germinadas nessa condição experimental também não foi afetado significativamente pelo contato com as sementes de sesbania (Figura 8B).



**Figura 8:** Valores médios de diâmetro (mm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (A) e em campo (B). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Sobre o acúmulo de massa da raiz, pelas espécies testadas nos experimentos realizados em casa de vegetação, os dados da Figura 9A demonstram que o peso fresco de raiz de *P. dubium* foi o único a não ser afetado significativamente. Através dessa mesma figura, pode-se afirmar que, para *M. bimucronata* e *C. langsdorffii*, o peso fresco de raiz sofreu redução significativa para ambas as espécies, quando estas foram co-germinadas com sementes de sesbania. Os peso seco de raiz das espécies testadas (Figura 9B) não sofreu redução significativa com a aplicação dos tratamentos. Já nos

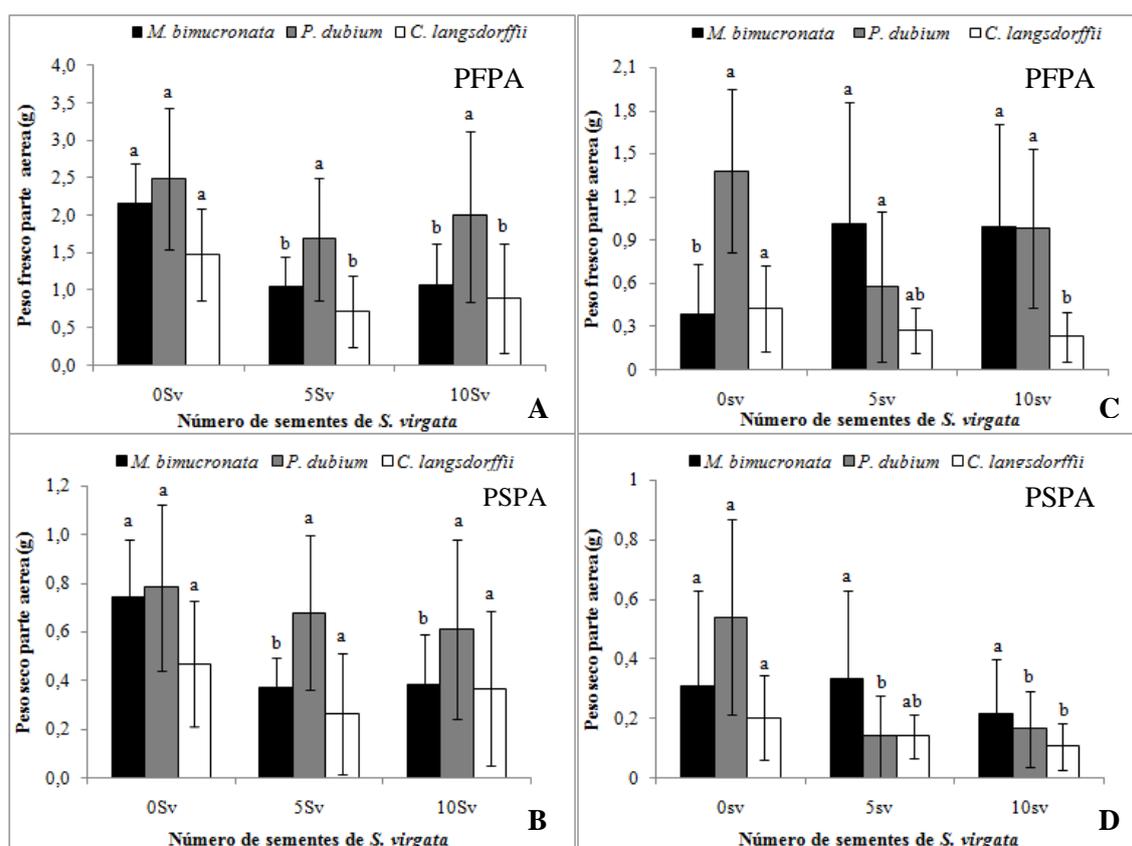
experimentos em campo, o peso fresco de raiz foi diminuído com o acréscimo de sementes de sesbania para *P. dubium* e *C. langsdorffii* (Figura 9C). Nesse mesmo ensaio o peso seco de raiz de *M. bimucronata* e *P. dubium* foram reduzidos significativamente, em relação ao grupo controle (Figura 9D).



**Figura 9:** Valores médios de pesos fresco e seco de raiz (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (Peso Fresco: A; Peso Seco: B) e em campo (Peso Fresco: C; Peso Seco: D). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

De acordo com os dados da Figura 10A, os resultados obtidos nos ensaios em casa de vegetação indicaram que o peso fresco de parte aérea de *M. bimucronata* e *C. langsdorffii* sofreu redução significativa com o acréscimo de sementes de *S. virgata*, já o peso seco de parte aérea nesse mesmo bioensaio foi reduzido significativamente

apenas para *M. bimucronata* (Figura 10B). No ensaio conduzido em campo, o peso fresco de parte aérea de *M. bimucronata* sofreu redução significativa com os tratamentos aplicados (Figura 10C). Para *C. langsdorffii* essa diminuição ocorreu de maneira significativa e gradual (Figura 10C). Em relação ao peso seco de parte aérea, a espécie que não foi afetada com os tratamentos de co-germinação foi *M. bimucronata* (Figura 10D), enquanto que para *P. dubium* e *C. langsdorffii* houve redução drástica para esses parâmetros.



**Figura 10:** Valores médios de pesos fresco e seco de parte aérea (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos após o encerramento do ensaio de co-germinação com sementes de *Sesbania virgata* (Sv) em casa de vegetação (Peso Fresco: **A**; Peso Seco: **B**) e em campo (Peso Fresco: **C**; Peso Seco: **D**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Os dados coletados nos experimentos de co-germinação referentes ao processo germinativo e ao desenvolvimento inicial das três espécies ensaiadas encontram-se

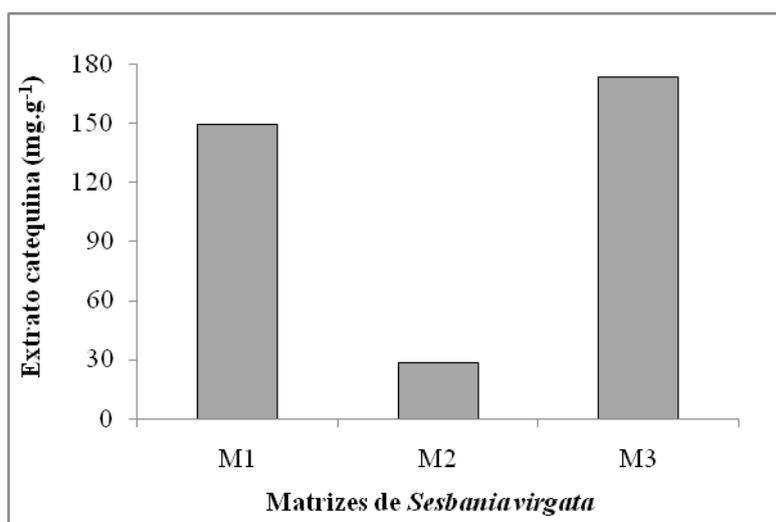
resumidos na Tabela 3, onde estão evidenciados os efeitos (ou a ausência de efeitos) gerados pelos tratamentos nas condições experimentais citadas. Os símbolos (0), (\*), (\*\*), (-) indicam que não houve efeito significativo, houve pouco efeito significativo, houve aumento do efeito significativo e o parâmetro não foi avaliado na condição experimental em questão, respectivamente.

**Tabela 3:** Resumo dos parâmetros analisados para as três espécies nos ensaios de co-germinação, com acréscimo de 5 e 10 sementes de *S. virgata*, onde: Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE), Comprimento radicular (CR), Altura, Diâmetro, Peso Fresco (PFR) e Seco de Raiz (PSR), Peso Fresco (PFPA) e Seco de Parte Aérea (PSPA).

		Parâmetros									
Co-germinação-Laboratório		%G	IV G	IV E	CR (cm)	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	PF R	PS R	PF PA	PS PA
5	<i>M. bimucronata</i>	0	*	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>P. dubium</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>C. langsdorffii</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
10	<i>M. bimucronata</i>	0	**	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>P. dubium</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>C. langsdorffii</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
Co-germinação-Casa de Vegetação											
5	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	**	**	**	0	**	**
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	0	**	**	0	**	0
10	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	**	**	**	0	**	**
	<i>P. dubium</i>	0	-	**	-	0	0	0	0	0	0
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	0	**	**	0	**	0
Co-germinação-Campo											
5	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	0	0	0	**	**	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	**	**	0	**
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	*	0	*	0	*	*
10	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	0	0	0	**	**	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	**	**	0	**
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	**	0	**	0	**	**

### 5.3. Identificação e quantificação de catequina

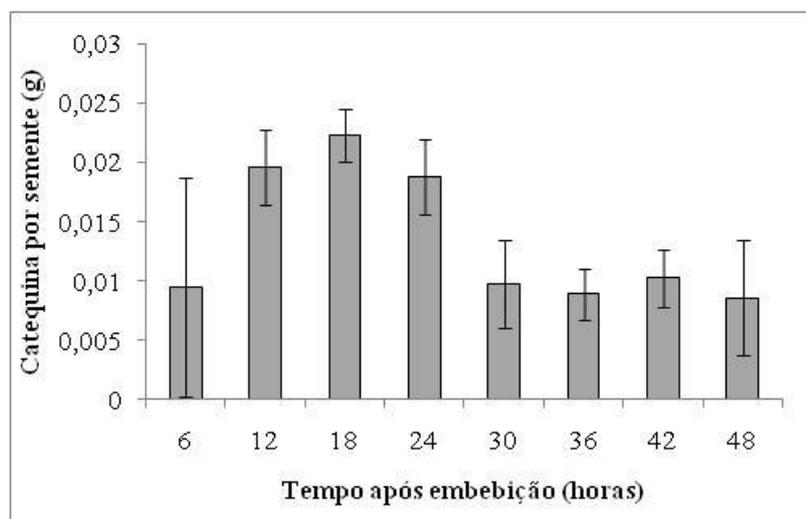
Segundo identificação por HPLC, pela comparação com o tempo de retenção de padrão de catequina comercial, foi constatado que as três matrizes produziram sementes que apresentaram (+)- catequina nos tegumentos das mesmas (Figura 1). El Id *et al.* (2015) detectaram através de análise cromatográfica, que os extratos foliares de sesbania, produzidos a partir de material vegetal proveniente dessas mesmas matrizes, também apresentaram catequina. Dentre as três matrizes analisadas desse estudo, a matriz denominada M2 foi a que apresentou menor quantidade de catequina, assim como ocorreu com a quantificação ilustrada na Figura 11, expressa em mg de catequina por grama de massa seca de semente de sesbania referente a cada local.



**Figura 11:** Quantificação de catequina por HPLC ( $\lambda=280$  nm) em extratos aquosos preparados com tegumentos extraídos de sementes de *Sesbania virgata* ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), oriundas de três matrizes no município de Lavras, MG.

Ao analisar o perfil geral da exsudação dos compostos liberados por sementes de sesbania no período de 48 horas de embebição, verificou-se que o maior pico de liberação desse material ocorreu após 18 horas (Figura 12). Após esses períodos, a quantidade de catequina exsudada por sementes de sesbania foi reduzida. A

quantificação dos exsudados também foi realizada através da curva padrão já mencionada. Simões *et al.* (2008) e Zerlin (2015) encontraram um padrão similar de exsudação, onde grandes quantidades de catequina foram liberadas após um período de 24 horas de embebição.



**Figura 12:** Quantificação de catequina por HPLC ( $\lambda=280\text{nm}$ ) de exsudatos de sementes de *Sesbania virgata*, embebidas em água destilada, coletados em intervalo de seis horas. As barras representam o desvio padrão das médias ( $n=3$ ).

#### 5.4. Ensaio de irrigação com extratos: Processo Germinativo

Os dados analisados em laboratório, referentes ao efeito dos extratos nas três espécies selecionadas, mostraram que, em relação ao processo germinativo, não houve alterações significativas. As sementes de *M. bimucronata* e *P. dubium* apresentaram germinação total, tanto nos tratamentos com água destilada (grupo controle), como nos tratamentos de irrigação com os extratos produzidos a partir dos tegumentos de *S. virgata*. Ambas as espécies germinaram 95% quando irrigadas com catequina comercial (Tabela 4). As sementes de *C. langsdorffii* não germinaram completamente nos tratamentos aplicados, não ocorrendo correlação entre o aumento das concentrações utilizadas e a diminuição na germinação destas. As porcentagens de germinação (%G) das três espécies variaram entre 65 e 100%, o que também demonstrou alta capacidade

de germinação dos lotes utilizados. Ainda para os ensaios em laboratório, nota-se que o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *P. dubium* e *C. langsdorffii* não foi afetado negativamente com a irrigação dos extratos produzidos. Já para *M. bimucronata*, as sementes da espécie foram mais sensíveis, ocorrendo diminuição significativa do IVG, conforme as mesmas foram irrigadas com os extratos de maiores concentrações e com catequina comercial, ambos em relação ao grupo controle.

Nos ensaios realizados em casa de vegetação, a porcentagem de germinação de *P. dubium* foi de 100% no grupo controle e em todos os outros tratamentos (Tabela 4). A porcentagem de germinação de *C. langsdorffii* também não sofreu redução significativa. No entanto, de acordo com os dados apresentados na Tabela 4, os extratos nas concentrações 0,5 e 1,0% reduziram a germinação de *M. bimucronata*, de 100% do grupo controle e da irrigação com extrato na concentração 0,1%, para 80 e 85%, respectivamente. O tratamento com catequina comercial também não causou diminuição na germinação, a qual foi de 100%. Assim como foi observado nos experimentos em laboratório, o Índice de Velocidade de Emergência (IVE) das plântulas de *M. bimucronata* sofreu diminuição significativa conforme o aumento da concentração dos extratos, sendo que o IVE para o grupo controle foi de 0,24, enquanto que para grupo que foi irrigado com o extrato a 0,1% foi de 0,22 e para os grupos irrigados com os extratos a 0,5 e 1,0 % foi de 0,17. Ainda em relação ao grupo controle, o IVE para o tratamento com catequina comercial foi de 0,17.

**Tabela 4:** Valores médios de Porcentagem de Germinação (%G) e de Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE) dos bioensaios irrigados com água destilada (0,0%), com os extratos produzidos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.), realizados em laboratório, casa de vegetação e campo.

	0,0%	0,1%	0,5%	1,0%	C.C.
<b>Laboratório</b>	<b>%G</b>				
<i>M. bimucronata</i>	100a	100a	100a	100a	95a
<i>P. dubium</i>	100a	100a	100a	100a	95a
<i>C. langsdorffii</i>	100a	65a	95a	95a	80a
	<b>IVG</b>				
<i>M. bimucronata</i>	0,39a	0,31b	0,32b	0,26b	0,29b
<i>P. dubium</i>	0,22a	0,27a	0,23a	0,20a	0,19a
<i>C. langsdorffii</i>	0,16a	0,04a	0,07a	0,07a	0,06a
<b>Casa de Vegetação</b>	<b>%G</b>				
<i>M. bimucronata</i>	100a	100a	80b	85b	100a
<i>P. dubium</i>	100a	100a	90a	100a	100a
<i>C. langsdorffii</i>	90a	75a	90a	80a	80a
	<b>IVE</b>				
<i>M. bimucronata</i>	0,24a	0,22ab	0,17b	0,17b	0,17b
<i>P. dubium</i>	0,16a	0,15a	0,15a	0,15a	0,14a
<i>C. langsdorffii</i>	0,03a	0,03a	0,04a	0,03a	0,03a
<b>Campo</b>	<b>%G</b>				
<i>M. bimucronata</i>	65a	40a	55a	50a	35a
<i>P. dubium</i>	60a	40a	85a	55a	80a
<i>C. langsdorffii</i>	80a	75a	75a	80a	75a
	<b>IVE</b>				
<i>M. bimucronata</i>	0,08a	0,06a	0,08a	0,06a	0,05a
<i>P. dubium</i>	0,07a	0,04a	0,09a	0,06a	0,09a
<i>C. langsdorffii</i>	0,02a	0,02a	0,02a	0,02a	0,02a

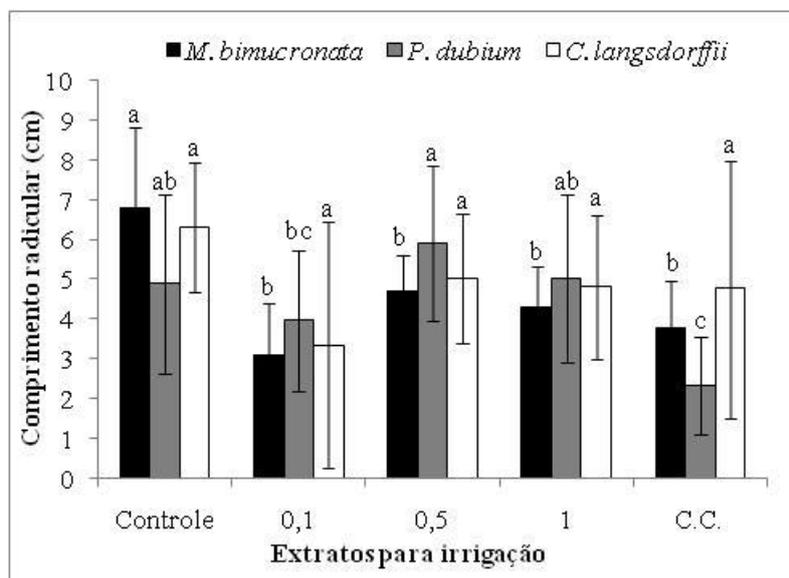
Obs.: Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Nos ensaios conduzidos em campo, a aplicação dos extratos de tegumentos de sesbania e de catequina comercial também não causaram diminuição significativa na porcentagem de germinação das três espécies. Apesar disso, conforme os dados da Tabela 4, a germinação de *M. bimucronata* diminuiu quando as sementes foram irrigadas com os extratos, sendo a maior porcentagem de germinação pertencente ao grupo irrigado com água (65%) e a menor, ao grupo irrigado com catequina comercial (35%). Não houve co-relação entre o aumento das concentrações dos extratos e a

diminuição das porcentagens de germinação das três espécies testadas. Ainda na mesma tabela, os valores referentes ao IVE das espécies mostram que a irrigação com os extratos não causou diminuição nesse parâmetro. Para *C. langsdorffii*, o IVE do grupo irrigado com água foi de 0,02, sendo o mesmo valor para os grupos irrigados com os outros extratos produzidos.

### 5.5. Ensaio de irrigação com extratos: Desenvolvimento Inicial

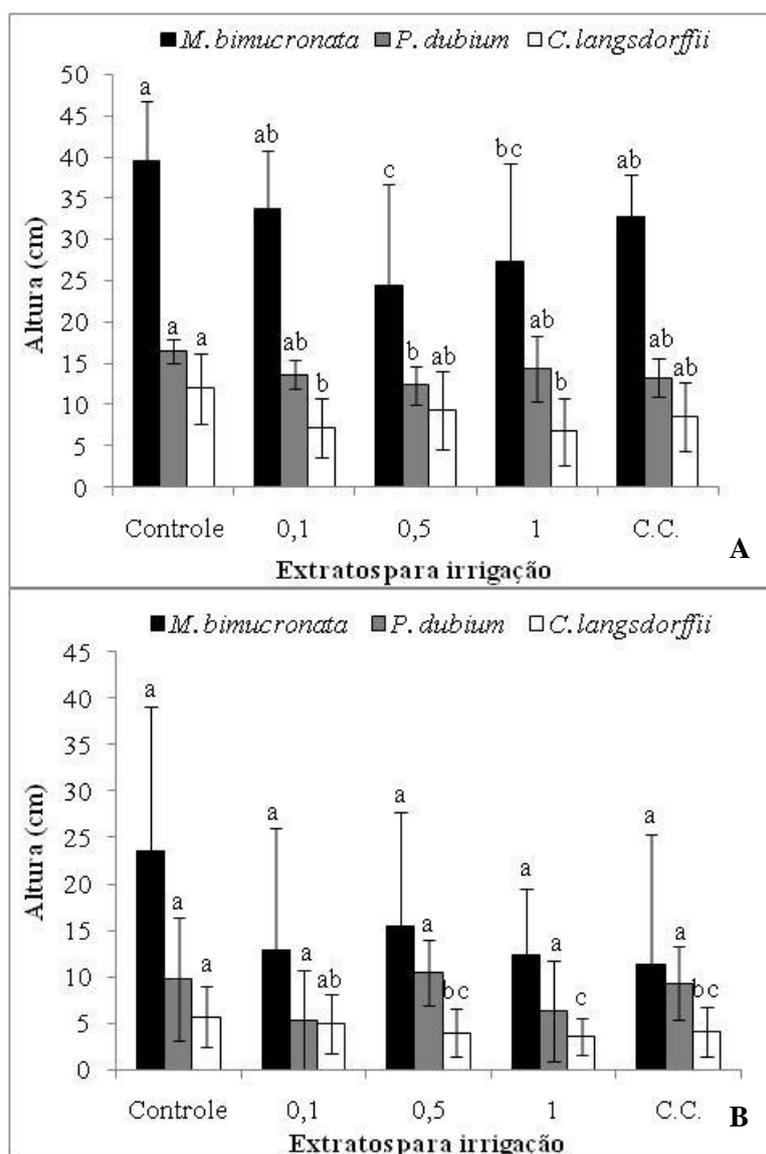
No encerramento do ensaio realizado em laboratório, de irrigação com extratos produzidos com tegumentos de sementes de *S. virgata*, com água destilada (grupo controle) e com catequina comercial, é possível observar que o comprimento da raiz de *M. bimucronata* e de *P. dubium* foi afetado negativamente em relação ao grupo controle (Figura 13). De acordo com esse dados, nota-se que o extrato que mais causou interferência nesse parâmetro, foi o extrato na concentração de 0,1%, seguido pelo extrato a 1,0%.



**Figura 13:** Valores médios de comprimento radicular (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera*, obtidos no ensaio de irrigação em laboratório, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Médias seguidas pela mesma letra, entre

tratamentos e por espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

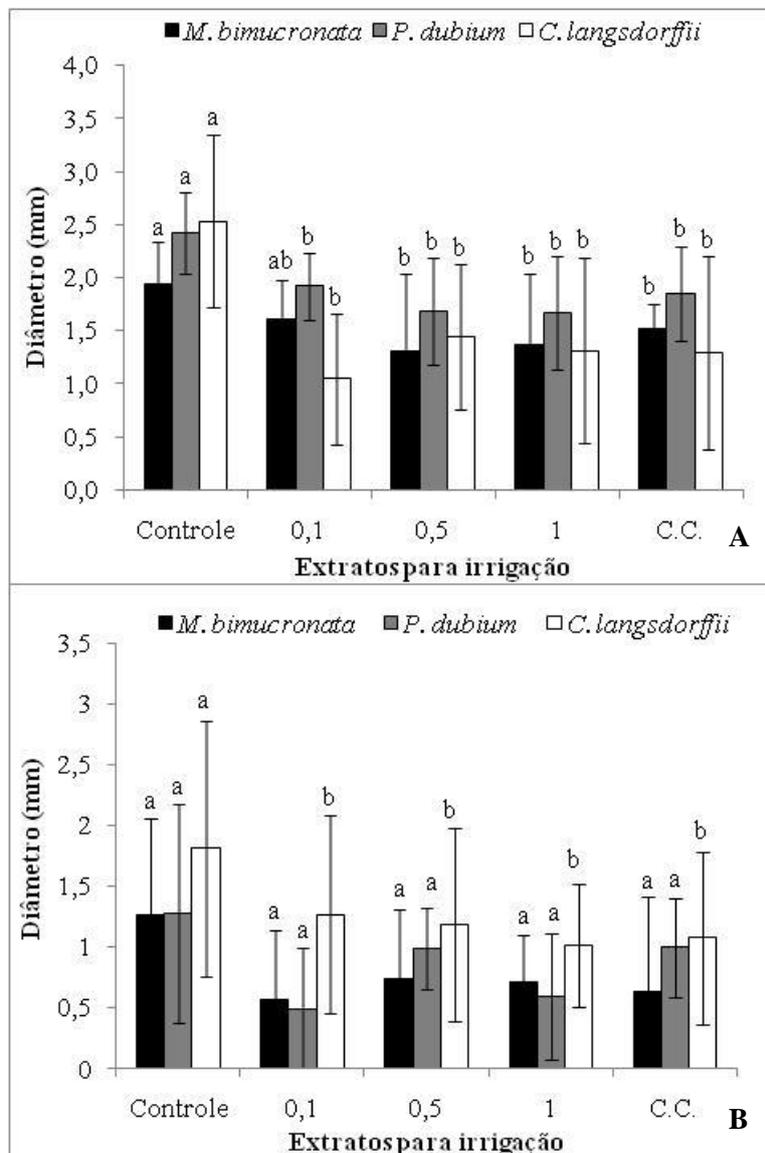
Já nos dados apresentados na Figura 14A, que ilustram a altura das três espécies em casa de vegetação, nota-se que todas as espécies foram afetadas significativamente. Os extratos que causaram efeitos mais agressivos para *M. bimucronata* foi o extrato a 0,5%, assim como para *P. dubium*, enquanto que para *C. langsdorffii*, os valores mais afetados negativamente foram registrados para os tratamentos à 0,1 e 1,0%. Nos experimentos conduzidos em campo, os extratos reduziram significativamente apenas os dados de altura de *C. langsdorffii* (Figura 14B). Nos ensaios em casa de vegetação os extratos de catequina comercial geraram diminuição significativa da altura para todas as espécies, em relação ao grupo controle, irrigado apenas com água destilada (Figura 14A). Já nos ensaios em campo, segunda a Figura 14B, a única espécie afetada pela irrigação com catequina comercial foi *C. langsdorffii*.



**Figura 14:** Valores médios de altura (cm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios, realizados em casa de vegetação (A) e em campo (B). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

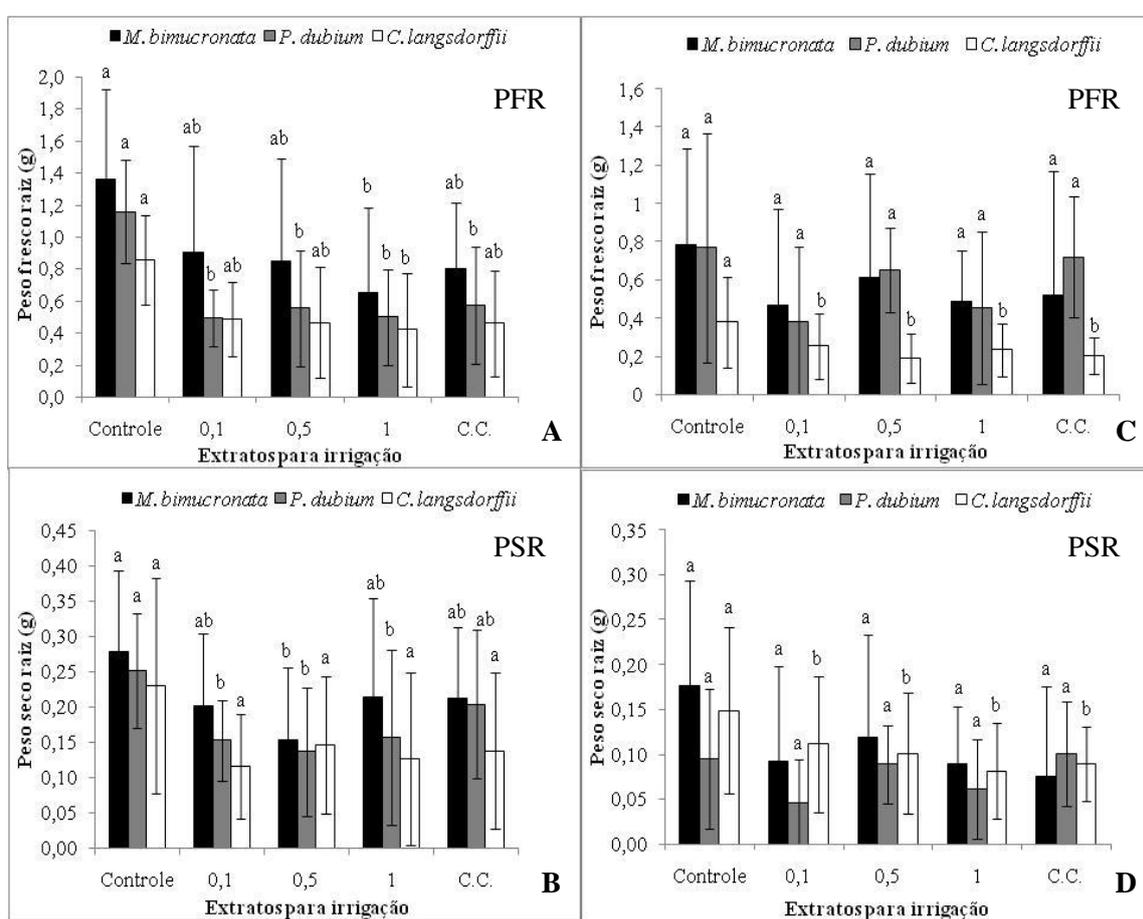
Os dados referentes ao diâmetro, coletados após o término do bioensaio conduzido em casa de vegetação (Figura 15A), mostraram que todas as espécies foram afetadas negativamente e significativamente, quando irrigadas com extratos de tegumentos e com catequina comercial, em comparação com o grupo controle. No

ensaio realizado em campo, o mesmo efeito só foi verificado para *C. langsdorffii*. Em campo, o diâmetro das outras duas espécies não sofreu alterações significativas, quando em contato com os extratos mencionados (Figura 15B).



**Figura 15:** Valores médios de diâmetro (mm) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios foram realizados em casa de vegetação (A) e em campo (B). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

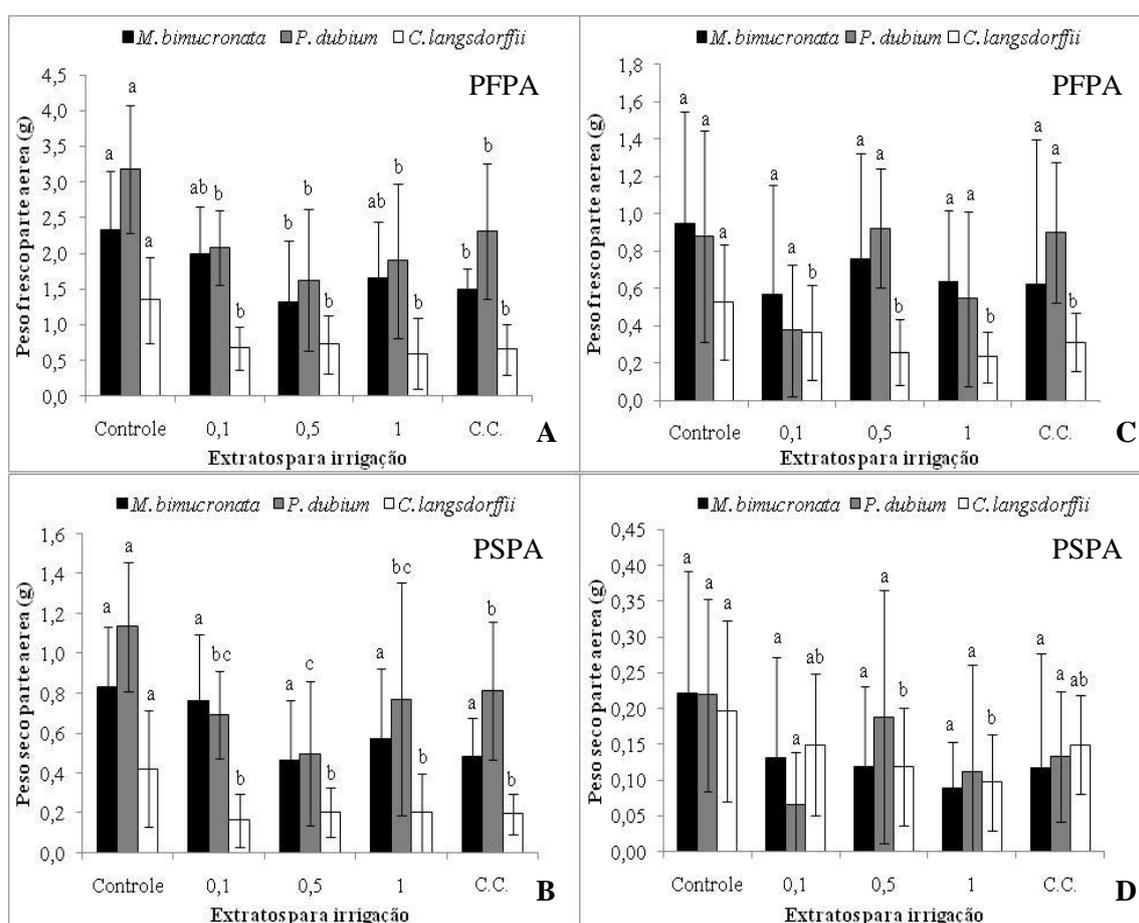
Também nos ensaios realizados em casa de vegetação, houve redução significativa do peso fresco de raiz e do peso fresco de parte aérea, em relação ao grupo controle, para todas as espécies testadas (Figura 16A e 17A, respectivamente). Nessa mesma condição experimental, o peso seco de raiz só não foi afetado para *C. langsdorffii* (Figura 16B). Para as outras duas espécies, a redução foi mais incisiva com a irrigação do extrato a 0,5%. Em relação ao peso seco de parte aérea, *M. bimucronata* foi a única espécie que sofreu alterações, nos ensaios realizados em casa de vegetação (Figura 17B).



**Figura 16:** Valores médios de pesos fresco e seco de raiz (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios realizados em casa de vegetação (Peso Fresco: A; Peso Seco: B) e em campo (Peso Fresco: C; Peso Seco: D). Médias

seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Nos ensaios conduzidos em campo, os valores de peso fresco e seco de raiz só foram reduzidos devido ao efeito dos tratamentos aplicados para *C. langsdorffii* (Figura 16C e D). O mesmo fenômeno foi observado para os dados de peso fresco e seco de parte aera, onde esses parâmetros não foram significativamente diminuídos para *M. bimucronata* e *P. dubium* (Figura 17C e D).



**Figura 17:** Valores médios de pesos fresco e seco de parte aerea (g) de *Mimosa bimucronata*, *Peltophorum dubium* e *Copaifera langsdorffii*, obtidos no ensaio de irrigação, no qual as espécies foram irrigadas com água destilada (Controle), com os extratos (0,1, 0,5 e 1,0%) e com catequina comercial (C.C.). Os ensaios realizados em casa de vegetação (Peso Fresco: **A**; Peso Seco: **B**) e em campo (Peso Fresco: **C**; Peso

Seco: **D**). Médias seguidas pela mesma letra, entre tratamentos e dentro de uma dada espécie, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Os dados coletados nos experimentos de irrigação com extratos, referentes ao processo germinativo e ao desenvolvimento inicial das três espécies ensaiadas, encontram-se resumidos na Tabela 5, onde estão evidenciados os efeitos (ou a ausência de efeitos) gerados pelos tratamentos nas condições experimentais citadas. Os símbolos (0), (\*), (\*\*), e (-) indicam que não houve efeito significativo, houve pouco efeito significativo, houve aumento do efeito significativo e o parâmetro não foi avaliado na condição experimental em questão, respectivamente.

**Tabela 5:** Resumo dos parâmetros afetados para as três espécies nos ensaios aplicação de extratos, nas concentrações 0,1, 0,5 e 1,0% e catequina comercial (C.C.), onde: Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e de Emergência (IVE), Comprimento radicular (CR), Altura, Diâmetro, Peso Fresco (PFR) e Seco de Raiz (PSR), Peso Fresco (PFPA) e Seco de Parte Aérea (PFPA).

Aplicação de Extrato-Laboratório		Parâmetro									
		%G	IV G	IV E	CR (cm)	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	PF R	PS R	PF PA	PS PA
0,1%	<i>M. bimucronata</i>	0	**	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>P. dubium</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>C. langsdorffii</i>	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-
0,5%	<i>M. bimucronata</i>	0	**	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>P. dubium</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>C. langsdorffii</i>	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-
1,0%	<i>M. bimucronata</i>	0	**	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>P. dubium</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>C. langsdorffii</i>	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-
C.C.	<i>M. bimucronata</i>	0	**	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>P. dubium</i>	0	0	-	**	-	-	-	-	-	-
	<i>C. langsdorffii</i>	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-

Aplicação de Extrato-Casa de Vegetação		%G	IV G	IV E	CR (cm)	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	PF R	PS R	PF PA	PS PA
0,1%	<i>M. bimucronata</i>	0	-	*	-	*	*	*	*	*	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	*	**	**	**	**	**
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	**	**	*	0	**	**
0,5%	<i>M. bimucronata</i>	**	-	**	-	**	**	*	**	**	-
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	*	**	**	**	**	**
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	*	**	*	0	**	**
1,0%	<i>M. bimucronata</i>	**	-	**	-	**	**	**	*	*	-
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	*	**	**	**	**	**
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	**	**	**	0	**	**
C.C.	<i>M. bimucronata</i>	**	-	**	-	*	**	*	*	**	-
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	*	**	**	*	**	**
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	*	**	*	0	**	**
Aplicação de Extrato-Campo											
0,1%	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	*	**	**	**	**	*
0,5%	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	**	**	**	**	**	**
1,0%	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	**	**	**	**	**	**
C.C.	<i>M. bimucronata</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>P. dubium</i>	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0
	<i>C. langsdorffii</i>	0	-	0	-	**	**	**	**	**	*

## 6. DISCUSSÃO

6.1. Exsudados e extratos de sementes de *Sesbania virgata* afetam o processo germinativo de espécies arbóreas co-ocorrentes?

De acordo com os dados apresentados no item 5.1, *M. bimucronata* foi a única espécie afetada significativamente, sendo o IVG o único parâmetro alterado. *P. dubium* também apresentou redução significativa, porém apenas com o acréscimo de 10 sementes de sesbania. Uma das principais formas pelas quais substâncias exsudadas de plantas com propriedades alelopáticas afetam outras plantas, pode ser a inibição da germinação, por isso as sementes são bons organismos para bioensaios (Felix 2012).

Quando passam por processos de reidratação, as sementes dão início à etapa germinativa, sofrendo rápidas mudanças fisiológicas e se tornando altamente sensíveis ao estresse ambiental. No processo de germinação, juntamente com a água, podem penetrar algumas substâncias alelopáticas capazes de inibir ou retardar a multiplicação ou o crescimento das células, podendo também retardar a germinação (Wandscheer e Pastorini, 2008). O conjunto dos dados do item 5.1, nas três condições experimentais, coletados para a avaliação do potencial inibitório de substâncias exsudadas por sementes de *Sesbania virgata*, demonstraram que a presença de sementes de sesbania e de seus exsudados no meio em que as espécies foram germinadas, não causou diminuição significativa na %G e no IVG/IVE das espécies em questão.

O mesmo efeito pôde ser observado nos dados apresentados no item 5.4, que avaliou o efeito de extratos, produzidos com tegumento de sesbania e dos extratos produzidos com catequina comercial, para os mesmos parâmetros e condições experimentais mencionados. Os tratamentos de irrigação foram efetivos apenas para *M. bimucronata*, os quais diminuíram os parâmetros utilizados para avaliar o processo germinativo.

Em relação ao efeito de substâncias oriundas de sesbania, outros trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa, no qual esse estudo está inserido, evidenciaram os efeitos de exsudados de sementes sob o processo germinativo de outras espécies. Veronesi (2013) verificou que, em ensaio de co-germinação com sementes de *S. virgata* e sementes de duas espécies florestais, *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong e *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., houve alterações no processo germinativo dessas, porém a exsudação de substâncias por sementes de *S. virgata* durante a sua embebição afetou positivamente a germinação de ambas as espécies. O trabalho também evidenciou a tendência de aumento no índice de velocidade de germinação das espécies florestais testadas.

Efeitos negativos também foram registrados nos estudos realizados pelo grupo. Coelho (2014) demonstrou que sementes de tomate co-germinadas com *S. virgata* tiveram a germinação negativamente afetada, havendo redução da velocidade do processo. Ainda sobre o efeito negativo de substâncias exsudadas por sementes de *S. virgata*, Mignoni (2015) verificou que, em experimentos de co-germinação com sementes de sesbania e leucena, as substâncias exsudadas pelas sementes de *S. virgata* afetaram negativamente a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) de leucena. Este efeito foi intensificado com o aumento do número de sementes. Os estudos apresentados, sobre a influência de fitotoxinas no processo germinativo, sugerem que as espécies que foram afetadas negativamente pelas substâncias oriundas de sementes de sesbania não são capazes de tolerar tais fitoquímicos e por isso se mostraram mais sensíveis à presença dos mesmos.

Em relação à baixa resposta apresentada na germinação das espécies testadas, alguns autores sugerem que, apesar de muito utilizados, parâmetros como porcentagem e índice de velocidade de germinação, são menos sensíveis do que os parâmetros que

avaliam o desenvolvimento das plântulas, como variação na massa ou no comprimento de raiz e de parte aérea (Ferreira e Áquila 2000).

Em um estudo desenvolvido por Zangh *et al.* (2011), para a avaliação do efeito da co-germinação com número crescente de sementes (5, 10, 20 e 40) de *Ligularia virgaurea* (Maxim.) Mattf. ex Rehder e Kobuski, uma espécie invasora em áreas degradadas na China, foram selecionadas sementes de gramíneas nativas. Os resultados encontrados nesse trabalho sugerem dois grupos de espécies, conforme a sensibilidade diante da toxicidade dos aleloquímicos liberados por sementes de *L. virgaurea*. *Festuca sinensis* Keng e *Agrostis gigantea* Roth, sofreram forte inibição da germinação com o aumento do número de sementes de *L. virgaurea* e como estratégia de sobrevivência, aumentaram o tempo médio de germinação. Já as espécies *Bromus inermis* Leyss. e *Elymus nutans* Griseb. foram mais tolerantes quanto a presença das sementes de *L. virgaurea* e tiveram menor inibição nos parâmetros avaliados. Os autores sugerem que a alta produção de sementes e conseqüente liberação de aleloquímicos pode ser uma estratégia da espécie invasora para reduzir a competição.

Além dos ensaios de co-germinação, estudos realizados com extratos são freqüentes para a verificação do efeito alelopático em plantas. Wandscheer e Pastorini (2006), observaram que sementes de tomate tiveram seus valores de porcentagem de germinação reduzidos e apresentaram atrasos na velocidade de germinação, em resposta ao efeito alelopático causado por extratos foliares de nabiça (*Raphanus sativus* L.). No mesmo trabalho, sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e tomate submetidas aos extratos de folhas e raízes de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) também demonstraram menores valores de IVG e taxa de porcentagem de germinação em relação à testemunha.

Maraschin-Silva e Áquila (2006) verificaram que extratos aquosos foliares de cinco espécies ensaiadas, *Cecropia pachystachya* Trec., *Peltophorum dubium* (Spreng.)

Taub., *Psychotria leiocarpa* Cham. e Schltl., *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax e *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. e Boer, foram responsáveis pelo atraso na germinação bem como pelos efeitos tóxicos no crescimento da planta-alvo (alface).

É comum o uso de sementes de espécies cultivadas para a comprovação do efeito fitotóxico de algumas substâncias (Coelho 2014; El Id *et al.* 2015), já que são espécies sensíveis à vários aleloquímicos (Ferreira e Áquila 2000) pois provavelmente, perderam sua capacidade de tolerância ao longo do processo de melhoramento vegetal. Já as espécies florestais, nem sempre são sensíveis a essas substâncias, o que pode explicar a ausência de efeitos negativos encontrados nos dados referentes ao processo germinativos das espécies estudadas no presente trabalho.

Alta concentração de catequina ( $1\text{mg.mL}^{-1}$ ), aplicada em sementes de *E. contortisiliquum* e *P. dubium* não foi capaz de inibir ou reduzir a germinação de ambas as espécies (Veronesi 2013). El Id *et al.* (2015) verificaram que ensaios de co-germinação, com sementes de sesbania e de espécies florestais de diferentes estágios sucessionais, causaram baixa redução no processo germinativo das espécies arbóreas, enquanto que a aplicação de extratos foliares de *S. virgata* não foram capazes de afetar a germinação de tais espécies. Tais relatos evidenciam que as espécies utilizadas para avaliação do processo germinativo não sofreram reduções significativas de parâmetros, como porcentagem e velocidade de germinação, provavelmente por possuírem algum mecanismo capaz de tolerar tal fitotoxicidade.

No presente estudo, as três espécies florestais selecionadas não se mostraram completamente sensíveis às substâncias que sesbania libera após seu processo de embebição. Isso sugere que, possivelmente, o processo germinativo dessas espécies não seja o mecanismo alvo de ação dos fitoquímicos liberados por sesbania. Além disso, alguns autores afirmam que a resistência ou tolerância aos metabólitos secundários é

uma característica ligada à espécie, existindo aquelas mais sensíveis/tolerantes do que outras (Grisi *et al.* 2011), o que também pode explicar os fenômenos apresentados.

6.2. O desenvolvimento inicial das espécies arbóreas, co-ocorrentes com *Sesbania virgata*, é afetado por fitoquímicos oriundos de suas sementes?

Conforme mencionado no item 6.3, o processo germinativo das espécies arbóreas estudadas nesse trabalho foi pouco afetado. Alguns autores afirmam que essa situação é comum, pois a germinação pode ser menos sensível aos aleloquímicos do que o crescimento de plântulas, pois o fenômeno é discreto, isto é, germina ou não, podendo substâncias alelopáticas induzir o aparecimento de plântulas anormais (Bedin *et al.* 2010). Rice (1979) afirmou que quando sementes de espécies sensíveis são expostas a aleloquímicos, a germinação pode ser inibida, mas caso ela ocorra, as plântulas podem ser afetadas.

No estudo realizado por Mignoni (2015), plântulas de leucena, quando co-germinadas com sementes de sesbania, apresentaram redução no crescimento do hipocótilo, diferenças morfológicas nas raízes primárias e coloração escura, o que não ocorreu com as plântulas do controle. Tais dados indicaram o efeito das substâncias de sesbania sobre o crescimento dos diferentes órgãos, o que também pôde ser verificado nas alterações encontradas nos dados biométricos utilizados no atual estudo, para se analisar o desenvolvimento inicial das três espécies arbóreas selecionadas.

Um experimento relatado por Felix (2012), em condições de casa de vegetação para observar a possível ocorrência de efeito alelopático de 18 espécies de plantas daninhas sobre o crescimento inicial de *Eucalyptus grandis* W. Hill., apresentou alterações relevantes no desenvolvimento das mudas, tais como desaceleração no crescimento em altura, diâmetro do caule, produção de matéria seca e variações no teor de clorofila. As alterações encontradas neste presente estudo evidenciam que, os

parâmetros aqui relacionados ao desenvolvimento, como altura e diâmetro, foram afetados após o contato com substâncias alelopáticas oriundas de *S. virgata*, tanto nos ensaios de co-germinação como nos de aplicação de extratos.

As raízes de *Centaurea maculosa* Lam., uma espécie exótica que mostrou efeito devastador sobre espécies nativas dos Estados Unidos, exsudam uma mistura racêmica de catequina (Bais *et al.* 2002). Os níveis de (+) e (-)-catequina encontrados na rizosfera dessa planta, assim como a atividade fitotóxica dessa substância no solo, têm sido extensivamente discutidos (Blair *et al.* 2006, Perry *et al.* 2007). Essa fitotoxina é possivelmente exsudada em pulsos de alta concentração, capazes de conferir vantagens para *C. maculosa* em períodos críticos do desenvolvimento e sua atividade é dependente da sua estabilidade em diferentes tipos de solo (Blair *et al.* 2005, Perry *et al.* 2007, Inderjit *et al.* 2008).

Durante a germinação, as plantas liberam aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares, flavonóides e diversos metabólitos secundários (Somers *et al.* 2004). Os compostos exsudados por sementes são liberados geralmente durante o processo de embebição e auxiliam no processo de germinação e estabelecimento da plântula no ambiente, atuando em funções biológicas importantes, como na defesa contra patógenos, nas associações simbióticas e também na inibição do crescimento de outras espécies vegetais por efeito alelopático (Ndakidemi e Dakora 2003).

A catequina, encontrada no tegumento de sementes de *S. virgata*, é liberada em grandes quantidades nas primeiras 24 horas de embebição (Simões *et al.* 2008) e exerce toxicidade em várias plantas, entretanto, a intensidade desse efeito varia de espécie para espécie e também com as condições experimentais (Buta e Lusby, 1986; Bais *et al.* 2002; Weir *et al.* 2006). De acordo com Soltys *et al.* (2013), a catequina, substância tóxica para algumas espécies de plantas, age no meristema radicular induzindo o

aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) desencadeando diversas sinalizações incluindo mudanças na expressão gênica e, por vezes, levando a morte celular do tecido e órgão.

De acordo com os dados apresentados no item 5.3, as sementes de *S. virgata* liberam altos picos de (+)-catequina em até 24 horas após o início do processo de embebição. Foi verificado em laboratório, que o processo de protusão da radícula de *M. bimucronata* se encerra quase que completamente em até 24 horas após o início do processo de embebição (dados não demonstrados). Provavelmente, por essa razão, a espécie foi uma das mais afetadas quando em contato com substâncias oriundas de sementes de *S. virgata*, em ambos os ensaios, conduzidos em laboratório e casa de vegetação.

O desenvolvimento inicial foi menos afetado para *P. dubium*. Quando em contato com substâncias exsudadas por sementes de *S. virgata*, nos ensaios de co-germinação, a espécie se mostrou menos sensível a esses metabólitos, porém quando suas sementes foram irrigadas com os extratos produzidos, o desenvolvimento foi alterado negativamente. Isso sugere que substâncias presentes no tegumento de sesbania podem não ser exsudadas, mas mesmo assim podem ser capazes de gerar algum grau de inibição no desenvolvimento dessa espécie.

Simões *et al.* (2008) detectaram a presença de um alcalóide chamado sesbanimida A em sementes de espécies de sesbania, onde também foi verificado o alto potencial fitotóxico dessa substância. Os autores também verificaram a presença do flavonóide quercetina no tegumento de sesbania, porém essa substância não é exsudada para o meio. Coelho (2014) afirmou que o possível efeito alelopático dos exsudados de sementes de *S. virgata* na germinação de sementes de tomate, não pôde ser atribuído à catequina presente no tegumento dessa espécie, e sim à outras substâncias, como

provavelmente sesbanimida A, que é capaz de inibir o crescimento de outras espécies vegetais (van Staden e Grobbelaar 1995). Veronesi (2013) afirma que aumento da atividade fitotóxica dos exsudatos ao longo da germinação das sementes de *S. virgata* deve-se possivelmente ao aumento da exsudação e acúmulo de substâncias inibidoras e/ou liberação de outros compostos, os quais podem potencializar esse efeito, agindo aditiva ou sinergisticamente.

O desenvolvimento das plântulas de *M. bimucronata*, de *P. dubium* e *C. langsdorffi*, quando submetidas aos experimentos de co-germinação e de aplicação de extratos em campo, foram afetados, conforme apresentado nos dados dos item 5.2 e 5.5. No solo, fitoquímicos podem se combinar de várias maneiras e, embora não se conheça todas as suas funções e substâncias, as que se conhecem podem interferir fortemente no metabolismo das plantas-alvo (Medeiros e Lucchesi 1993). No entanto, em relação os experimentos conduzidos em laboratório e em casa de vegetação, esse efeito não foi tão incisivo. Quanto a esse aspecto, Rosa *et al.* (2011) afirmam que, no ambiente, o efeito pode se mostrar de diferente intensidade aos de testes de laboratório.

O baixo efeito dessas substâncias nas sementes de *P. dubium* pode estar relacionado à presença de galactomanano em suas sementes, que além de funcionar como reserva para o crescimento do embrião, tem um papel fundamental no controle da entrada de água na semente, funcionando como uma substância tamponante, protegendo o embrião da falta ou do excesso de água (Veronesi 2013). Buckeridge (2010) relata que a viscosidade do galactomanano, quando hidratado, pode representar uma barreira física de proteção contra patógenos nos estágios iniciais do desenvolvimento da plântula. Sendo assim, o fato de funcionar como um tampão de água e de ser altamente viscoso, o galactomanano no endosperma de sementes de *P. dubium* poderia também regular a entrada dos aleloquímicos exsudados por *S. virgata*, o que também pode ter impedido o

contato inicial com tais substâncias liberadas por sementes de sesbania nas primeiras 24 horas de embebição. No entanto, após a degradação do galactomano presente nas sementes de *P. dubium*, o contato com as substâncias presentes nos exsudados e extratos de sesbania pode ter ocorrido, o que possivelmente gerou os efeitos apresentados nos itens 5.2 e 5.5.

Lôbo *et al.* (2008) verificaram o efeito inibitório de catequina, presente em extratos foliares de *Tachigali myrmecophyla*, na germinação de sementes bem como no desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas daninhas malícia (*Mimosa pudica*) e mata pasto (*Senna obtusifolia*). Os resultados mostraram que a catequina afetou negativamente a germinação das sementes das espécies de plantas invasoras de pastagens analisadas, porém seu efeito foi mais expressivo no desenvolvimento.

Thorpe *et al.* (2009) avaliaram o efeito de ( $\pm$ )- catequina aplicada exogenamente sobre o crescimento de espécies europeias e norte-americanas em casa de vegetação. Os autores observaram forte efeito inibidor da ( $\pm$ )- catequina sobre o desenvolvimento das espécies norte americanas, não sendo observado o mesmo para as espécies europeias. No presente estudo, em relação aos dados referentes à irrigação com extrato de catequina comercial, foi observado que o efeito do mesmo sob o desenvolvimento das espécies foi mais ameno, quando comparado com os extratos produzidos com os tegumentos de sementes de sesbania, ambos na mesma concentração ( $1\text{mg.mL}^{-1}$ ).

A molécula de catequina possui grupos hidroxilas que, lhe conferem alta reatividade. A estabilidade da catequina também é dependente do pH, sendo que em solução alcalina esta substância é muito instável e decompõe-se em poucos minutos, enquanto em solução ácida ela é relativamente estável (Zhu *et al.* 1997). Os flavonóides podem atuar de modo direto no seqüestro de radicais livres, devido à reatividade do grupo hidroxila que pode ser oxidado por radicais, resultando em uma forma mais

estável (Nijveldt *et al.* 2001) Por isso, quando presente em ambientes não controlados podem se modificar e perder seu potencial inibitório. Isso pode explicar os baixos ou ausentes resultados significativos referentes a irrigação das espécies florestais com extratos produzidos com catequina comercial, principalmente em condições de campo.

Ainda sobre o desenvolvimento das espécies testadas, foi demonstrado que o crescimento inicial de *C. langsdorffi* foi reduzido significativamente em praticamente todos os parâmetros utilizados para a análise do desenvolvimento das espécies florestais. No ensaios realizados em laboratório, a germinação da espécie foi registrada entre 18° e o 21° dia, enquanto que em casa de vegetação e em campo, foi registrada entre o 26° e o 30°. Todos os parâmetros analisados em campo, demonstraram que a espécie foi sensível ao extrato aquoso produzido com catequina comercial, aos extratos aquosos produzidos com tegumentos de sesbania e, de forma mais branda, foi sensível à presença de sementes de *S. virgata*.

## 7. CONCLUSÃO

Em relação ao processo germinativo das espécies florestais que co-ocorrem com *Sesbania virgata* em seu ambiente, foi possível verificar que as substâncias presentes em sementes de sesbania não foram capazes de afetar o mecanismo de germinação das espécies mencionadas, apesar da redução significativa do índice de velocidade de germinação e de emergência das sementes de *M. bimucronata*. Isso sugere que, provavelmente, a germinação não seja o processo mais afetado pelos aleloquímicos oriundos de *S. virgata*.

Através dos resultados obtidos nos ensaios de co-germinação e de irrigação, foi observado que o desenvolvimento inicial de *M. bimucronata* e *C. langsdorffii* foi mais sensível do que o desenvolvimento de *P. dubium*. Tal comportamento não parece estar ligado ao estágio sucessional da espécie, mas às suas próprias características que proporcionam sua capacidade tolerar ou não a fitotoxicidade dessas substâncias. Assim, a tolerância a determinadas substâncias deve ser característica de cada espécie.

De acordo com os dados e com as informações apresentadas até o momento, pôde-se sugerir que os metabólitos provenientes de sementes de *S. virgata* são capazes de afetar principalmente o desenvolvimento inicial de algumas espécies. Esses fitoquímicos podem perdurar no meio em que são liberados por um determinado tempo, já que foram capazes de afetar o desenvolvimento de *C. langsdorffii*, que deu início ao seu processo germinativo dias após o início dos bioensaios. Além disso, também é possível sugerir que a presença de (+)-catequina e de outras substâncias nos exsudados e nas sementes (tegumento) de *S. virgata* podem ser consideradas fatores que favorecem em processos de competição com outras espécies.

A produção de tais substâncias juntamente com sua alta capacidade de cobertura do solo, de formação de banco de sementes e de facilidade de ocorrência em solos modificados podem conferir à *S. virgata* vantagens adaptativas na conquista dos mais diversos tipos de ambiente, garantindo seu sucesso em relação às outras espécies.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, M.B., Santos, R.C., Lima, L.M., Melo Filho, P.A., Nogueira, R.J.M.C., Câmara, C.A.G., Ramos, A.R.** 2010. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 31: 379-395.
- Almeida, F.S.** 1988 A alelopatia em plantas. Londrina, IAPAR, Circular, 55: 62p.
- Alves, L.W.R.** 2003. Interferência alelopática da cultura do milho (*Zea mays* L.) sobre a cultura do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) plantada em sucessão. 89f. Tese de Doutorado- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- Alves, M.D.C.S., Medeiros Filho, S., Innecco, R., Torres, S.B.** 2004. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39(11): 1083-1086.
- Anand, M. & Desrochers, R.E.** 2004. Quantification of restoration success using complex systems concepts and models. *Restoration Ecology* 12(1): 117-123.
- Andrade, L.A.** 2006. Espécies exóticas invasoras no Nordeste do Brasil: Impactos nos ecossistemas locais. *Sociedade Botânica do Brasil* 752 p.
- Andrade, J.R. & Santos, S.C.** 2014. Estudo sobre o desmatamento da mata atlântica na Paraíba. *REBES* 4(2): 24-33.
- Araújo, E., Mendonça, A.V., Barbosa, D.G., Lamonica, K.R., Silva, R.F.** 2004. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 105-110.
- Aronson, J., Durigan, G., Brancalion, P.H.S.** 2011. Conceitos e definições correlatos à ciência e à prática da restauração ecológica. *Instituto Florestal Série Registros* 44: 1-38.
- Bais, H.P., Walker, T.S., Stermitz, F.R., Hufbauer, R.A., Vivanco, J.M.** 2002. Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of (+)-catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiology* 128:1173-1179.
- Bais, H.P., Vepachedu, R., Gilroy, S., Callaway, R.M., Vivanco, J.M.** 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science* 301: 1377-1380.

- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M.** 2006 The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57: 233-266.
- Bauer, J.T., Shannon, S.M., Stoops, R.E., Reynolds, H.L.** 2012. Context dependency of the allelopathic effects of *Lonicera maackii* on seed germination. *Plant Ecology* 213: 1907-1916.
- Bedin, C., Mendes, L.B., Trecente, V.C., Silva, J.M.S.** 2010. Efeito alelopático de extrato de *Eucalyptus citriodora* na germinação de sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.). *Revista Científica Eletônica de Agronomia* 5 (10). Disponível em: < <http://www.revista.inf.br/agro10/artigos/anov-edic10-art05.pdf>> Acesso em: 16 de Abril de 2015.
- Bhadoria, P.B.S.** 2011 Allelopathy: A Natural Way towards Weed Management. *American Journal of Experimental Agriculture* 1(1): 7-20.
- Blair, A.C., Hanson, B.D., Brunk, G.R., Marrs, R.A., Westra, P., Nissen, S.J., Hufbauer, R.A.** 2005. New techniques and finds in the study of a candidate allelochemical implicated in invasion success. *Ecology Letters* 8:1039-1047.
- Blair, A.C., Nissen, S.J., Brunk, G.R., Hufbauer, R.A.** 2006. A lack of evidence for an ecological role of the putative allelochemical ( $\pm$ )-catechin in spotted knapweed invasion success. *Journal of Chemical Ecology* 32:2327-2331.
- Brancalion, P.H.S., Rodrigues, R.R., Gandolfi, S., Kageyama, P.Y., Nave, A.G., Gandara, F.B., Barbosa, L.M., Tabarelli, M.** 2010. Instrumentos legais podem contribuir para a restauração de florestas tropicais biodiversas. *Revista Árvore* 34 (3): 455-470.
- Brow, S. & Lugo, A.E.** 1990. Tropical Secondary Forests. *Journal of Tropical Ecology*, 6: 1-32.
- Buckeridge, M.S. & Dietrich, S.M.C.** 1996 Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae- Faboideae). *Plant Science* 117: 33-43.
- Buckeridge, M.S.** 2010. Seed cell wall storage polysaccharides: models to understand cell wall biosynthesis and degradation. *Plant Physiology* 154: 1017–1023.
- Buta, J.G. & Lusby, W.R.** 1986. Catechins as germination and growth inhibitors in *Lespedeza* seeds. *Phytochemistry* 25: 93-95.

- Callaway, R.M. & Ridenour, W.M.** 2004. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecology Environmental* 2: 436–443.
- Campoe, O.C.** 2008. Efeito de práticas siveiculturais sobre a produtividade primária líquida de madeira, o índice de área foliar e a eficiência do uso da luz em plantios de restauração da Mata Atlântica. 120f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.
- Cardoso, E.L., Silva, M.L.N., Nilton Curi,N., Mozart Martins Ferreira, M.M., Freitas, D.A.F.** 2011. Qualidade química e física do solo sob vegetação arbórea nativa e pastagens no Pantanal Sul-Mato-grossense. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 35:613-622.
- Carpanezzi, A.A., Costa, L.G.S., Kageyama, P.Y., Castro, C.F.A.** 1990. Espécies pioneiras para recuperação de áreas degradadas: a observação de laboratórios naturais. In: CONGRESSO BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, Anais. São Paulo: SBS/SBEF, pp. 329-336.
- Ceballos, L., Hossaert-Mckey, M., Mckey, D. e Andary, C.** 1998. Rapid deployment of allelochemicals in exudates of germinating seeds of *Sesbania* (Fabaceae): roles of seed anatomy and histolocalization of polyphenolic compounds in anti-pathogen defense of seedlings. *Chemoecology*, 8: 141-151.
- Chobot, V. & Huber, C.** 2009. (±)- Catechin: Chemical weapon, antioxidant, or stress regulator? *Journal of Chemical Ecology* 35: 950-996.
- Chokkalingam, U. & De Jong, W.** 2001. Secondary forest: a working definition and typology. *The International Forestry Review* 3(1): 19-26
- Chou, C.H.** 1986. The role of allelopathy in subtropical agroecosystems of Taiwan. pp. 57-73. In: Putnam, A.R.; Tang, C.S. *The science of allelopathy*. New York: John Wiley e Sons
- Coelho, L.C.S.** 2014. Potencial alelopático in vitro dos exsudatos de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. sobre tomate e arroz e em fungos micorrízicos arbusculares na fase simbiótica. 96f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Coutinho, M.P., Carneiro, J.G.A., Barroso, D.G., Rodrigues, L.A., Figueiredo, F.A.M.M.A., Mendonça, A.V.R., Novaes, A.B.** 2005. Crescimento de mudas

de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. plantadas em uma área degradada por extração de argila. *Floresta* 35: 231-239.

**CRS/IBAMA** (Centro de Sensoriamento Remoto/Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). Relatório técnico de monitoramento do desmatamento no bioma cerrado, 2002 a 2008: Dados Revisados. 2009. Disponível em [http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/relatorio\\_tecnico\\_monitoramento\\_desmate\\_bioma\\_cerrado\\_csr\\_rev\\_72\\_72.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatorio_tecnico_monitoramento_desmate_bioma_cerrado_csr_rev_72_72.pdf). Acesso em: 09 de Janeiro de 2016.

\_\_\_\_\_. Monitoramento do Bioma Cerrado 2009-2010. 2011b. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/relatoriofinal\\_cerrado\\_2010\\_final\\_72\\_1.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatoriofinal_cerrado_2010_final_72_1.pdf). Acesso em: 09 de Janeiro de 2016

**Davide, A.C. & Botelho, S.A.** 1999. Análise crítica dos programas de reposição de Matas Ciliares em Minas Gerais. In: Simpósio Mata Ciliar, 1., Belo Horizonte, MG. Anais... Belo Horizonte, Ciência e Tecnologia. Belo Horizonte: UFLA, 1999. 172-188p.

**Denslow, J.S.** 1980. Gap partitioning among tropical rainforest trees. *Biotropica* 12(2): 47-55.

**Einhellig, F.A.** 1986. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. pp.171-188. In: A.R. Putnan; C.S. Tang. The science of allelopathy. John Wiley e Sons, New York. 317p.

**Einhellig, F.A.** 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal* 88: 886-893.

**El Id, V.L., Costa, B.V., Mignoni, D.S.B., Veronesi, M.B., Simões, K., Braga, M.R., Santos-Junior, N.A.** 2015. Phytotoxic effect of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. on seeds of agronomic and forestry species. *Journal of Forestry Research* 26: 339-346.

**Engel, V.L. & Parrota, J.A.** 2008. Definindo a restauração ecológica: Tendências e perspectivas mundiais. pp.01-26. In: Kageyama, P.Y.; Oliveira, R.E.; Moraes, L.F.D.; Engel, V.L.; Gandara, F.B. Restauração ecológica de ecossistemas naturais. 2008. 1ed. FEPAF: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais. Botucatu, SP. 340p.

- Fabricante, J.R., Oliveira, M.N.A., Siqueira-Filho, J.A.** 2013. Aspectos da ecologia de *Calotropis procera* (Apocynaceae) em uma área de Caatinga alterada pelas obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco em Mauriti, CE. *Rodriguésia* 64(3): 647-654.
- Felix, R. A. Z.** 2012. Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith sobre a germinação e emergência de plântulas. 90f. Tese de Doutorado- Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A.** 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 175-204.
- Ferreira, W.C, Soraya Alvarenga Botelho,S.A., Davide, A.C., Faria, J.M.R.** 2007. Avaliação do crescimento do estrato arbóreo de área degradada revegetada à margem do Rio Grande, na Usina Hidrelétrica de Camargos, MG. *Revista Árvore* 31(1): 177-185.
- Ferreira, D.F.** 2010. SISVAR-Sistema de análise de variância. *Universidade Federal de Lavras*, Lavras, 1 CD.
- Florentino, L.A., Guimarães, A.P., Rufini, M., da Silva, K., Moreira, F.M.S.** 2009. *Sesbania virgata* stimulates the occurrence of its microsymbiont in soils but does not inhibit microsymbionts of other species. *Scientia Agricola* 66: 667-676.
- França, A.C.** 2007. Potencial alelopático de híbridos de milho no desenvolvimento inicial de cafeeiros (*Coffea arabica* L.). 69f. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA / INPE.** Atlas dos remanescentes florestais e ecossistemas associados da Mata Atlântica no período de 2000-2005. São Paulo: INPE, 2006. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/> Acesso em: 07 de Fevereiro de 2016.
- Gandolfi, S., Rodrigues, R.R., Barbosa, L.M., Viani, R.** 2015. Restauração ecológica de florestas tropicais: Estágio Atual. pp.13-20. In: Barbosa, L.M. Restauração ecológica: novos rumos e perspectivas: VI Simpósio de Restauração Ecológica. 2015. São Paulo: Instituto de Botânica, 436p.
- Gatti, A.B.** 2003. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Ktze e *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer na germinação e crescimento de

- Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. 148f. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Gatti, A.B., Perez, S.C.J.G.D., Lima, M.I.S.** 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasilica*, 18(3): 459-472.
- Gatti, A.B.** 2008. Atividade alelopática de espécies do cerrado. 136 f. Tese de Doutorado-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Gobbo-Neto, L. & Lopes, N.P.** 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova* 30(2): 374-381.
- Goetze, M. & Thomé, G.C.H.** 2004. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. *Revista Brasileira de Agrociência* 10(1): 43-50.
- Goldfarb, M., Pimentel, L.W., Pime, N.W.** 2009. Alelopatia: relações no agroecossistemas. *Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária* 3(1): 23-28.
- Goosem, S. & Tucker, N.I.J.** 1995. Repairing the rain forest. Cairns: Wet Tropics Management Authority, 72p.
- Grisi, P.U., Gualtieri, S.C.J., Ranal, M.A., Santana, D.G.** 2011. Efeito alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas daninhas e de hortaliças. *Planta Daninha* 29 (2): 311-322.
- Gurevitch, J., Scheiner, S.M., Fox, G.A.** *Ecologia Vegetal*. 2009. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. pp283-305.
- He, W-M., Feng, Y., Ridenour, W.M., Thelen, G.C., Pollock, J.L., Diaconu, A., Callaway, R.M.** 2009. Novel weapons and invasion: biogeographic differences in the competitive effects of *Centaurea maculosa* and its root exudates ( $\pm$ )-catechin. *Oecologia* 159: 803-815.
- Herrera, R.S.** 1995. Alelopatia. *Ciência e Educação* 2(1): 84-70.
- Inderjit & Dakshini, K.M.M.** 1995. On laboratory bioassays in allelopathy. *Botanical Review* 61(1): 28-44.
- Inderjit, Pollock, J.L., Callaway, R.M., Holben, W.** 2008. Phytotoxic effects of ( $\pm$ )catechin in vitro, in soil, and in the field. *Plos One* 3: 1-11

- Inderjit, Wardle, D.A., Karban, R., Callaway, R.M.** 2011. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution* 26: 655-662.
- Iqbal, A. & Fry, S.** 2012. Potent endogenous allelopathic compounds in *Lepidium sativum* seed exudate: effects on epidermal cell growth in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Journal of Experimental Botany* 63: 2595–2604
- Kageyama, P., Gandara, F.B., Oliveira, R.E.** 2008. Biodiversidade e Restauração da Floresta Tropical. pp. 29-48. In: Kageyama, P.Y.; Oliveira, R.E.; Moraes, L.F.D.; Engel, V.L., Gandara, F.B. Restauração ecológica de ecossistemas naturais. 1ed. FEPAF: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais. Botucatu, SP. 340p.
- Kissmann, K. G. & Groth, D.** Plantas infectantes e nocivas. 1ed. São Paulo: BASF. 1992. pp. 770-776.
- Lamb, D., Erskine, P.D., Parrota, J.A.** 2005. Restoration of degraded tropical forest landscapes. *Science* 310: 1628-1632.
- Larcher, W.** 2000. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: RiMa. p. 531
- Lee, I.K. & Monsi, M.** 1963. Ecological studies on *Pinus densiflora* forest. I- Effects of plant substances on the floristic composition of the undergrowth. *Botanical Magazine* 76: 400-413.
- Lôbo, L.T., Castro, K.C.F., Arruda, M.S.P., Silva, M.N., Arruda, A.C., Müller, A.H., Arruda, G.M.S.P., Santos, A.S.** 2008. Potencial alelopático de catequinas de *Tachigali myrmecophyla* (Leguminosae). *Química Nova* 31:493-497.
- Longhi, S.J., Brena, D.A., Gomes, J.F., Narvaes, I.S., Berger, G., Soligo, A.J.** 2006. Classificação e caracterização de estágios sucessionais em remanescentes de floresta ombrófila mista na flona de São Francisco de Paula, RS, Brasil. *Ciência Florestal* 16(2): 113-125.
- Maguire, J.D.** 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2: 176-177.
- Mallik, A.U. & Inderjit,** 2002. Problems and prospects in the study of plant allelochemicals: a brief introduction. pp.1-5. In: Inderjit; Mallik A.U.;

Birkhäuser Verlag (Eds.), Chemical ecology of plants: Allelopathy in aquatic and terrestrial ecosystems, Baser-Boston-Berlin. 260p.

- Maraschin-Silva, F. & Áquila, M.E.A.** 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica* 20:61-69.
- Martins, S.V., Sartori, M., Raposos Filho, F.L., Simoneli, M., Dadaltoo, G., Pereira, M.L., Silva, A.E.S.** 2014. Manual de procedimentos gerais para a restauração florestal no estado do Espírito Santo. CEDAGRO-Centro de Desenvolvimento de Agronegócio. Vitória, ES. 23p.
- Matos, D.M.S. & Pivello, V.R.** 2009. O impacto das plantas invasoras nos recursos naturais de ambientes terrestres- Alguns casos brasileiros. *Ciência e Cultura* 61 (1): 27-30.
- Medeiros, A.R.M. & Lucchesi, A.A.** 1993. Efeitos alelopáticos da ervilhaca (*Vicia sativa* L.) sobre a alface em testes de laboratório. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 28(1): 9-14.
- Mignoni, D.S.B.** 2015. Potencial fitotóxico de sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. sobre a germinação de sementes e o crescimento inicial de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. 89f. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP.
- Ndakidemi, P.A. & Dakora, F.D.** 2003. Legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signals and protectants in early seedling development. *Functional Plant Biology* 30: 729-745.
- Neto, R.M.R., Botelho, S.A., Fontes, M.A.L., Davide, A.C., Faria, J.M.R.** 2000. Estrutura e composição florística da comunidade arbustivo-arbórea de uma clareira de origem antrópica, em uma floresta estacional semidecídua montana, Lavras-MG, Brasil. *Cerne* 6(2): 79-94.
- Neves, R.** 2005. Potencial alelopático da cultura da canola (*Brassica napus* L. var. oleifera) na supressão de picão-preto (*Bidens* sp.) e soja.. 77f. Dissertação de Mestrado- Universidade de Passo Fundo- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, RS.

- Nicolini, J.T., Bido, G.S., Zonetti, P.C.** 2012. Efeito do extrato aquoso de *Passiflora edulis* Sims sobre a germinação e crescimento inicial de alface. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente* 5(1): 191-203.
- Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A.M.** 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74: 418–25.
- Novaes, P.** 2011. Alelopatia e bioprospecção de *Rapanea ferruginea* e de *Rapanea umbellata*. 112f. Tese de Doutorado-Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP.
- Oliveira, F.X.** 2006. Impactos da invasão da Algaroba - *Prosopis juliflora* (sw.) DC. sobre o componente arbustivo-arbóreo da caatinga nas microrregiões do Curimataú e do Seridó nos estados da Paraíba e do Rio Grande do Norte. 138f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- Odum, E.P.** 1988. Fundamentos da ecologia. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 927p.
- Pang, Y., Peel, G.J., Wright, E., Wang, Z., Dixon, R.A.** 2007. Early steps in proanthocyanidins biosynthesis in the model legume *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* 145: 601-615.
- Pedrol, N., González, L., Reigosa, M.J.** 2006. Allelopathy and abiotic stress. pp. 171–209. In: *Allelopathy: A Physiological Process With Ecological Implications*. Reigosa, M.J.; Pedrol, N.; González, L. (eds). *Springer*, The Netherlands, 564p.
- Pereira, I.M., Botelho, S.A., Davide, A.C.** 2015. Restauração de ecossistemas: bases ecológicas e silviculturais. pp. 369-432. In: *Fundamentos e métodos de restauração de ecossistemas florestais: 25 anos de experiência em matas ciliares*. (Ed.): A.C. Davide, S.A. Botelho- Lavras: UFLA. 636 p.
- Perry, L.G., Johnson, C., Alford, E.R., Vivanco, J.M., Paschke, M.W.** 2005. Screening of grassland plants for restoration after spotted knapweed invasion. *Restoration Ecology* 13: 725-735.
- Perry, L.G., Thelen, G.C., Ridenour, W.M., Callaway, R.M., Paschke, M.W., Vivanco, J.M.** 2007. Concentrations of the allelochemical ( $\pm$ )-catechin in *Centaurea maculosa* soils. *Journal Chemical Ecology* 33: 337-344.

- Pickett, S.T.A., Cadenasso, M.L., Meiners, S.J.** 2009. Ever since Clements: From Succession to Vegetation Dynamics and Understanding to Intervention. *Applied Vegetation Science*, 12(1): 9-21
- Piña-Rodrigues, F.C.M., Costa, L.C.G., Reis, A.** 1990. Estratégias de estabelecimento de espécies arbóreas e o manejo de florestas tropicais. In: Congresso Florestal Brasileiro, 6, 1990. Campos do Jordão. Anais... Sociedade Brasileira de Silvicultura. Campos do Jordão: 3:672-690.
- Piña-Rodrigues, F.C.M & Lopes, B.M.** 2001. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. *Floresta e Ambiente* 8(1): 130 - 136.
- Prince, E.K. & Pohnert, G.** 2010. Searching for signal in the noise: metabolomics in chemical ecology. *Anal Bioanal Chem* 396: 193–197.
- Pott, A. & Pott, V.J.** 1994. Plantas do Pantanal. EMPRAPA/CPAP/SPI, Corumbá, 320p.
- Radosevich, S.R. & Holt, J.S.** 1984. Weed ecology: implications for vegetation management. John Wiley e Sons Inc. 265p.
- Reis, H.** 2007 Florística, estrutura e estádios sucessionais de fragmentos nativos da Mata Atlântica em Minas Gerais. 168f. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Lavras, Lavras-Minas Gerais.
- Reis, A. & Kageyama, P.Y.** 2008. Restauração em áreas degradadas utilizando interações interespecíficas. pp.91-110. In: Kageyama, P.Y.; Oliveira, R.E.; Moraes, L.F.D.; Engel, V.L.; Gandara, F.B. Restauração ecológica de ecossistemas naturais. 2008. 1ed. FEPAF: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais. Botucatu, SP. 340p.
- Rice, E.L.** 1977. Some roles of allelopathic compounds in plant communities. *Biochemical Systematics and Ecology* 5(3): 201-206.
- Rice, E.L.** 1979. Allelopathy. An update. *Botanical Review* 45: 15-109.
- Rice, E. L.** 1984 Allelopathy. Orlando: Academic Press. 422p.
- Rimando, A.M., Olofsdotter, M., Dayan, F.E., Duke, S.** 2001. Searching for rice allelochemicals: an example of bioassay-guided isolation. *Agronomy Journal*, 93: 16–20.

- Rizvi, S.J.H., Haque, H., Singh, V.K., Rizvi, V.** 1992. A discipline called allelopathy. In: Rizvi, S.J.H., Rizvi, V. (Eds.), *Allelopathy: Basic and Applied Aspects*. Chapman e Hall, London, UK, pp.1–10.
- Rocha, G.P., Fernandes, L.A., Cabacinha, C.D., Lopes, I.D.P., Ribeiro, J.M., Frazão, L.A., Sampaio, R.A.** 2014. Caracterização e estoques de carbono de sistemas agroflorestais no Cerrado de Minas Gerais. *Ciência Rural*, Santa Maria, 44(7): 1197-1203.
- Rodrigues, R.P. & Gandolfi, S.** 1996 Recomposição de florestas nativas: princípios gerais e subsídios para uma definição metodológica. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 2(1): 4-15.
- Rodrigues, R.P. & Gandolfi, S.** 2001. Conceitos, tendências e ações para a recuperação de florestas ciliares. p.235-248. In: Rodrigues, R.P.; Leilão Filho, H.de F. (eds). *Matas Ciliares: conservação e recuperação*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo/Fapesp.
- Rodrigues, F.C.M.P. & Lopes, B.M.** 2001. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. *Floresta e Ambiente* 8(1): 130-136.
- Rosa, D.M., Fortes, A.M.T., Mauli, M.M., Marques, D.S., Palma, D.** 2011. Potencial Alelopático de *Panicum maximum* JACQ sobre a Germinação de Sementes de Espécies Nativas. *Floresta e Ambiente* 18(2), 198-203.
- Rosa, J.M., Della Mea, L.G.W., Agostinetto, L., Boff, M.I.C.** 2013. Efeito alelopático de *Salix* spp. sobre a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Raphanus sativus* L. *Revista de Ciências Agroveterinárias* 12(3): 255-263.
- Saldanha, L.L.** 2013 Prospecção química e avaliação das atividades antioxidante e alelopática de *Myrcia bella* Cambess 161f. Dissertação de Mestrado- Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". Botucatu, SP.
- Sartor, L. R., Lopes, L., Martin, T. N., Ortiz, S.** 2015. Alelopatia de acículas de pínus na germinação e desenvolvimento de plântulas de milho, picão preto e alface. *Bioscience Journal* 31(2): 470-480.
- Scognamiglio, M., D'Abrosca, B., Esposito, A., Pacifico, S., Monaco, P., Fiorentino, A.** 2013. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on Mediterranean biomes. *Phytochem Rev* 12: 803–830.

- Scrivanti, L.R., Zunino, M.P., Zygadlo, J.A.** 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. *Biochemical systematics and ecology* 31(6): 563-57.
- Silva, J.P., Duccini, C.S., Souza, E.C., Neves, V.C., Pasin, L.A.P.** 2007. Efeito alelopático *in vitro* de *Malva sylvestris* e *Artemisia camphorata* na germinação e desenvolvimento de sementes de petúnia (*Petunia integrifolia*). 2007. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil., 2007, Caxambu. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, MG.
- Silva, P.E.M., Santiago, E.F., Daloso, D.M., Silva, E.M., Silva, J.O.** 2011. Quebra de dormência em sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. *Idesia* 29:39-45.
- Simões, K.** 2008. Substâncias fitotóxicas e antifúngicas em sementes de leguminosas que acumulam galactomanano e xiloglucano como carboidratos de reserva de parede celular. 220f. Tese de Doutorado-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Simões, K., Du, J., Kretzschmar, F.S., Broeckling, C.D., Stermitz, F.R., Vivanco, J.M., Braga, M.R.** 2008. Phytotoxic catechin leached by seeds of the tropical weed *Sesbania virgata*. *Journal of Chemical Ecology* 34: 681-687.
- Singh H.P., Batish D.R., Kohli R.K.** 2001. Allelopathy in agroecosystems: an overview. In: R.K. Kohli; H.P. Singh; D.R. (eds.). *Batish Allelopathy in Agroecosystems*, The Haworth Press, New York. pp. 1-41.
- Somers, E., Vanderleyden, J., Srinivasan, M.** 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology* 30: 205-240.
- Soltys, D., Gniazdowska, A., Bogatek, R.** 2013. Inhibition of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) root growth by cyanamide is not always accompanied with enhancement of ROS production. *Plant Signaling e Behavior* 8:5: e23994-1-e23994-3.
- Souza, V.C., Agra, P.F.M., Andrade, L.A., Oliveira, I.G.; Oliveira, L.S.** 2010. Germinação de sementes da invasora *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. sob efeito de luz, temperatura e superação de dormência. *Ciências Agrárias* 4: 889-889.
- Souza, V.C., Andrade, L.A., Bezerra, F.T.C., Fabricante, J.R., Feitosa, R.C.** 2011. Avaliação populacional de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Fabaceae Lindl.), nas margens do rio Paraíba. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 6(2): 314-320.

- Spiassi, A., Nóbrega, L.H.P., Rosa, D.M., Pacheco, F.P., Senem, J., De Lima, G.P.** 2015. Allelopathic effects of pathogenic fungi on weed plants of soybean and corn crops= Alelopatia de fungos fitopatogênicos sobre plantas invasoras da cultura da soja e milho. *Bioscience Journal* 31(4): 1037-1048.
- Swaine, M.D. & Whitmore, T.C.** 1988. On the definition of ecological species groups in tropical forests. *Vegetatio* 75: 81-86.
- Taiz L. & Zeiger E.** 2009 *Fisiologia vegetal*. 3ed. Porto Alegre: Editora Artmed; 819 p.
- Teasdale, J.R., Rice, C.P., Cai, G., Mangum, R.W.** 2012. Expression of allelopathy in the soil environment: soil concentration and activity of benzoxazinoid compounds released by rye cover crop residue. *Plant Ecology*, 213: 1893-1905.
- Thorpe, A.S., Thelen, G.C., Diaconu, A., Callaway, R.M.** 2009. Root exudate is allelopathic in invaded community but not in native community: field evidence for the novel weapons hypothesis. *Journal of Ecology* 97: 641-645.
- Tomar, N.S., Sharma, M., Agarwal, R.M.** 2015. Phytochemical analysis of *Jatropha curcas* L. during different seasons and developmental stages and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L) as affected by extracts/leachates of *Jatropha curcas* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 21(1): 83-92.
- Uhl, C., Nepstad, D., Buschbacher, R., Clark, K., Kauffman, B., Subler, S.** 1990. Studies of ecosystem response to natural and anthropogenic disturbances provide guidelines for designing sustainable land-use systems in Amazonia. pp. 24-42. In.: Anderson, A.B (ed.). *Alternatives to deforestation: steps towards sustainable use of the Amazon rain forest*. Columbia University Press. New York, 281p.
- van Staden, J. & Grobbelaar, N.** 1995. The effect of sesbanimide and Sesbania seed extracts on germination and seedling growth of a number of plant species. *Environmental and Experimental Botany* 35:321-329.
- Veronesi MB.** 2013 Avaliação da tolerância de duas espécies nativas às fitotoxinas exsudadas por *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. 81f. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP.
- Wandscheer, A.C.D. & Pastorini, L.H.** 2006. Efeito alelopático de plantas invasoras sobre a germinação de sementes de alface e tomate. In: *II Jornada de Iniciação Científica-Meio Ambiente*, 2006, Porto Alegre. **II Jornada de Iniciação Científica-Meio Ambiente**,.

- Wandscheer, A.C.D. & Pastorini, L.H.** 2008. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. *Ciência Rural* (UFSM. Impresso) 38: 949-953.
- Weidenhamer, J.D.** 1996. Distinguishing resource competition and chemical interference: Overcoming the methodological impasse. *Agronomy Journal* 88: 866–875.
- Weidenhamer, J.D.** 2005. Biomimetic measurement of allelochemical dynamics in the rhizosphere. *Journal of Chemical Ecology* 31: 221-236.
- Weir, T.L., Park, S-W., Vivanco, J.M.** 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 472- 479.
- Weir, T.L., Bais, H.P., Stull, V.J., Callaway, R.M., Thelen, G.C., Ridenour, W.M., Bhamidi, S., Stermitz, F.R., Vivanco, J.M.** 2006. Oxalate contributes to the resistance of *Gaillardia grandiflora* and *Lupinus sericeus* to a phytotoxin produced by *Centaurea maculosa*. *Planta* 223: 785-795
- Weston, L.A.** 1996. Utilization of Allelopathy for Weed Management in Agroecosystems. *Agronomy Journal* 88(6): 860-866.
- Weston, L.A.** 2005. History and current trends in the use of allelopathy for weed management. *HortTechnology* 15: 529–534.
- White, R.H., Worsham, A.D., Blum, U.** 1989. Allelopathic potential of legume debris and aqueous extracts. *Weed Science* 37: 674-679.
- Whitmore, T.C.** 1982. On pattern and process in forest. In: Newman, E.T. (Ed.). *The plant community as a working mechanism*. Oxford: Blackwell. pp.45-59.
- Whittaker, R.H. & Feeny, P.P.** 1971. Allelochemicals: chemical interaction between species. *Science* 171 (3973): 757-770.
- Williamson, M.H. & Fitter, A.** 1996. The characters of successful invaders. *Biological Conservation* 78: 163-170.
- Young, T.P.** 2000. Restoration ecology and conservation biology. *Biological Conservation* 92: 73-83.
- Zerlin, J.K.** 2015 Mecanismos de proteção de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. contra espécies reativas de nitrogênio e oxigênio. 109f. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, São Paulo.

- Zhang, S., Liu, J., Bao, X., Niu, K.** 2011. Seed-to-seed potential allelopathic effects between *Ligularia virgaurea* and native grass species of Tibetan alpine grasslands. *Ecological Research* 26: 47-52.
- Zhu, Q.Y., Zhang, A., Tsang, D., Huang, Y., Chen, Z.Y.** 1997. Stability of green tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 4624–462.