Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2015;36(3):445-452
ISSN 1808-4532

Potencial fitotóxico com enfoque alelopático de *Bauhinia ungulata* L. sobre sementes e plântulas de alface e cebola

Cristiane da Silva Paula[1,*]; Vanessa Cristina Dias Canteli[1]; Cristiane Bezerra da Silva[1]; Obdúlio Gomes Miguel[1]; Marilis Dallarmi Miguel[1]

[1]Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Curitiba, PR, Brasil.

RESUMO

O presente trabalho avaliou o efeito do extrato etanólico e diferentes frações das folhas de *Bauhinia ungulata* L. sobre a germinação, crescimento, respiração e conteúdo de clorofila de plântulas de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola). Sementes de alface e cebola foram mantidas em contato com solução das amostras e colocadas em câmara de germinação. Realizaram-se contagens diárias para avaliar a interferência sobre a germinação e crescimento, e verificou-se possíveis interferências sobre a respiração radicular e o conteúdo de clorofila total das folhas das plântulas. Não foi observada nenhuma interferência das amostras sobre a porcentagem de germinação e massa seca das duas espécies. Com relação ao IVG, houve um atraso da germinação das sementes de alface quando em contato com o EB. O crescimento radicular das duas espécies foi inibido principalmente pelas frações EB e FR, sem nenhuma interferência sobre o crescimento do hipocótilo da alface e estímulo do crescimento do coleóptilo da cebola. Redução nos teores de clorofila total da alface e aumento na cebola, assim como estímulo da respiração das raízes. Conclui-se que o extrato e as frações de *Bauhinia ungulata* L. apresentam compostos químicos com atividade fitotóxica sobre o desenvolvimento de plântulas de alface interferindo principalmente no crescimento radicular, teor de clorofila e respiração radicular das espécies avaliadas.

Palavras-chave: Fabaceae. Germinação. Clorofila. Sementes. Pata de Vaca.

Autor correspondente: Cristiane da Silva Paula, Departamento de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná, Av. Pref. Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, 80210-170, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: crisspaula@onda.com.br

INTRODUÇÃO

Plantas do gênero *Bauhinia* pertencem à família Fabaceae (Leguminosae) e são conhecidas popularmente como "pata de vaca" em alusão ao formato de suas folhas que lembram o rastro de bovinos. Apresentam grande importância econômica, principalmente alimentar e medicinal (Lewis & Schrire, 2005). A espécie *Bauhinia ungulata* L., também conhecida como mororó, é nativa no Brasil e encontrada principalmente nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (Vaz, 2010) sendo utilizada popularmente no tratamento do diabetes (Morais *et al*., 2005).

Ensaios sobre a presença de compostos alelopáticos realizados com plantas do gênero *Bauhinia* mostraram influências sobre a germinação e o desenvolvimento das espécies-alvo utilizadas (Mourão Júnior & Souza, 2010; Manoel *et al*., 2009). A alelopatia é definida pela Sociedade Internacional de Alelopatia como a ciência que estuda "qualquer processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas" (IAS, 1996; Oliveros-Bastidas *et al*., 2009). Estes metabólitos secundários são conhecidos como aleloquímcos e podem ser encontrados nas raízes, rizomas, folhas, caules, pólen, sementes e flores, sendo liberados no ambiente por exsudação radicular, lixiviação de parte aérea e volatilização ou pela decomposição de material vegetal (De Almeida *et al*., 2008).

Os estudos sobre efeito alelopático podem fornecer informações sobre estratégias alternativas para manejo de plantas daninhas, reduzindo a dependência de herbicidas tradicionais na produção agrícola. Além disso, alguns autores sugerem que estes compostos com atividade alelopática podem ser mais seletivos, biodegradáveis e menos poluentes que os herbicidas tradicionais (Macias *et al*., 2000).

Bioensaios realizados em laboratório avaliando o potencial fitotóxico destes compostos secundários sobre espécies comerciais vêm sendo realizados (Trevisan

et al., 2012) pois estas apresentam como vantagem a homogeneidade genética, germinação uniforme e fácil disponibilidade, ao contrário das espécies silvestres que são geneticamente mais heterogêneas e apresentam variada sensibilidade, além de falta de homogeneidade na germinação (Macias *et al*., 2000; Trevisan *et al*., 2012).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi investigar *in vitro*, o potencial fitotóxico de diferentes concentrações do extrato etanólico e diferentes frações obtidas de folhas de *Bauhinia ungulata* L. sobre a germinação de sementes, e o crescimento, respiração e teor de clorofila de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e cebola (*Allium cepa* L.) tendo em vista a inexistência de estudos prévios sobre o assunto com esta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas da espécie *Bauhinia ungulata* L. foram coletadas em janeiro de 2007 na cidade de Campo Grande – MS coordenadas geográficas 20º30`37,5" S e 54º36`46,6" W, 545 metros. A identificação botânica foi realizada por um especialista na área, e uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS (CGMS 19.754).

O material coletado foi seco em temperatura ambiente e triturado em moinho de facas/martelo. O extrato bruto (EB) foi obtido utilizando aparelho de Soxhlet a partir de 1,5 kg do material vegetal em etanol, e posteriormente utilizado para a obtenção das frações por partição líquido/líquido com solventes de polaridades crescente (n-hexano, clorofórmio e acetato de etila). A partir do EB, foram obtidas as frações hexano (FH), clorofórmio (FCL), acetato de etila (FAE) e hidro-alcoólica residual (FR) empregadas nos ensaios propostos.

Cinquenta sementes de alface (*Lactuca sativa* cv. Grand Rapids) e cebola (*Allium cepa* cv. Baia Periforme) foram colocadas em placas de petri contendo papel de filtro umedecido com 5,0 mL das soluções do extrato bruto e frações de B.ungulata L. preparados em quadruplicatas nas concentrações de 250 $mg.mL^{-1}$, 500 $mg.mL^{-1}$ e 1000 $mg.mL^{-1}$ e água destilada como controle. As placas foram mantidas em câmara de germinação (BOD) em condições de luz (160 W), umidade relativa (± 80%) e temperatura constante (25º C). As sementes germinadas de alface foram contadas em intervalos de 12 horas (por sete dias) e as sementes de cebola contadas em intervalos de 24 horas (por 12 dias) (Brasil, 2009), após protrusão radicular de no mínimo 2,0 mm de comprimento (Macias *et al*., 2000). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado através da fórmula:

$$GSI = G1/N1 + G2/N2 + G3/N3 + G4/N4 \ldots + Gn / Nn$$

em que G1, G2, G3... Gn é o número de sementes germinadas e N1, N2, N3...Nn é o número de dias após a semeadura (Hoffmann *et al*., 2007). Após três dias da protrusão radicular, mediu-se o alongamento do hipocótilo/radícula (dez plântulas por placa) (Macias *et al*., 2000). O nível de atividade foi expresso em porcentagem de inibição/estímulo em relação ao controle de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ atividade} = \left[\frac{MT - MC}{MC} \right] \times 100\%$$

em que MT é a média de alongamento dos tratamentos e MC a média de alongamento do controle.

A porcentagem de germinação foi calculada pela fórmula proposta por Labouriau & Valadares (1976):

$$\%G = \frac{NG \times 100\%}{NT}$$

em que NG é o número de sementes germinadas e NT o número de sementes colocadas para germinar.

A determinação da respiração das raízes foi realizada final do teste do crescimento, utilizando-se 10 plântulas. As raízes cortadas foram transferidas para tubos de ensaio com a adição de 5 mL de cloridrato de trifeniltetrazólio (TTC) 0,6% (p/v) e 1 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,0). Os tubos foram mantidos em temperatura ambiente por 2 horas e posteriormente em estufa a 40 ºC (15 horas). Ao final desse tempo, as soluções dos tubos foram drenadas e as raízes lavadas com água destilada com posterior adição de 7 mL de etanol 95% (v/v) e aquecimento em banho-maria (± 100 ºC) até secura. Após arrefecimento dos tubos adicionou-se 10 mL de etanol 95% (v/v) e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 530 nm (Steponkus & Lanphear, 1967).

Para avaliação do teor de clorofila total, folhas foram retiradas das plântulas ao final do teste do crescimento e transferidas para tubos de ensaio, contendo 5,0 mL de DMSO (dimetilsulfóxido). Os tubos foram embrulhados em papel alumínio e deixados em temperatura ambiente por 24 horas. Após este período foram realizadas as leituras da absorbância da clorofila A (645 nm) e B (663 nm) em espectrofotômetro. O teor de clorofila total foi calculado de acordo com a equação (Lichtenthaler, 1987):

$$\text{Clorofila total} = 20{,}2 \times Abs\ A + 8{,}02\ Abs\ B$$

em que: AbsA = absorbância da clorofila a e AbsB = absorbância da clorofila b

Análise Estatística

Para cada amostra avaliada, o delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos (controle água destilada, 250, 500 e 1000 $mg\ L^{-1}$) em quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade com auxílio do programa SISVAR.

RESULTADOS

A avaliação do efeito fitotóxico do EB e frações obtidas das folhas de *Bauhinia ungulata* L. sobre o

Tabela 1. Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) de sementes de alface e cebola submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto e frações obtidas das folhas de *Bauhinia ungulata* L.

ALFACE – *Lactuca sativa* L.						
	Índice de Velocidade de Germinação (IVG)			**Porcentagem de Germinação (% G)**		
Tratamento	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**
Amostra						
EB	11,84±0,81a	11,95±0,55a	10,69±1,22b	75,0±1,58a	80,5±0,41a	73,0±2,22a
FH	12,71±0,43a	12,82±1,0a	10,79±1,77b	83,0±0,22a	80,0±1,53a	71,5±1,39a
FCL	12,66±1,18a	11,70±0,96a	11,93±1,68a	80,0±0,66a	75,5±1,12a	72,0±0,83a
FAE	11,48±0,82a	13,02±0,77a	13,75±1,49a	74,0±1,53a	78,0±0,32a	72,0±0,83a
FR	12,69±1,38a	12,82±1,94a	13,39±0,47a	79,5±1,38a	74,0±0,31a	79,0±1,76a
Controle	14,82±1,66a	14,82±1,66a	14,82±1,66a	74,0±0,12a	74,0±0,12a	74,0±0,12a
CEBOLA – *Allium cepa* L.						
	Índice de Velocidade de Germinação (IVG)			**Porcentagem de Germinação (% G)**		
Tratamento	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**
Amostra						
EB	6,71±0,30a	6,59±0,59 a	6,64±0,29 a	88,0±1,89 a	92,0±1,63 a	87,0±0,21 a
FH	6,75±0,57 a	7,16±1,19 a	5,96±0,74 a	90,0±2,32 a	86,0±0,41 a	83,0±1,22 a
FCL	6,56±0,25 a	7,34±0,39 a	6,37±0,74 a	87,5±0,26 a	91,0±1,22 a	83,5±2,51 a
FAE	6,14±0,33 a	6,13±0,97 a	5,68±0,13 a	87,0±1,83 a	84,5±1,37 a	85,0±1,83 a
FR	6,53±0,65 a	6,22±0,31 a	6,16±0,61 a	92,0±2,11 a	88,0±1,63 a	85,55±1,74 a
Controle	6,39±0,27 a	6,39±0,27 a	6,39±0,27 a	86,5±1,41 a	86,5±1,41 a	86,5±1,41 a

EB (Extrato Bruto), FH (Fração Hexano), FCL (Fração Clorofórmio), FAE (Fração Acetato de Etila), FR (Fração Hidroalcoólica Remanescente). Valores são apresentados como a média (±DP). Letra diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 2. Massa Seca de plântulas de alface e cebola submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto e frações obtidas das folhas de *Bauhinia ungulata* L.

Massa Seca						
	Alface– *Lactuca sativa* L.			**Cebola – *Allium cepa* L.**		
Tratmento	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**
Amostra						
EB	0,69±0,09 a	0,72±0,07a	0,69±0,03a	2,72±0,14a	2,94±0,09a	2,97±1,26a
FH	0,72±0,05a	0,68±0,03a	0,74±0,07a	2,98±0,14a	2,91±0,19a	2,93±0,21a
FCL	0,68±0,05a	0,63±0,07a	0,65±0,07a	2,79±0,77a	2,87±0,24a	2,79±0,15a
FAE	0,62±0,06a	0,63±0,12a	0,64±0,07a	2,76±0,21a	2,99±0,14a	2,90±0,15a
FR	0,63±0,05a	0,62±0,07a	0,70±0,06a	2,94±0,13a	2,88±0,11a	3,15±0,52a
Controle	0,71 ±0,07a	0,71 ±0,07a	0,71 ±0,07a	2,92±0,16a	2,92±0,16a	2,92±0,16a

EB (Extrato Bruto), FH (Fração Hexano), FCL (Fração Clorofórmio), FAE (Fração Acetato de Etila), FR (Fração Hidroalcoólica Remanescente). Valores são apresentados como a média (±DP). Letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) de acordo com o teste de Tukey.

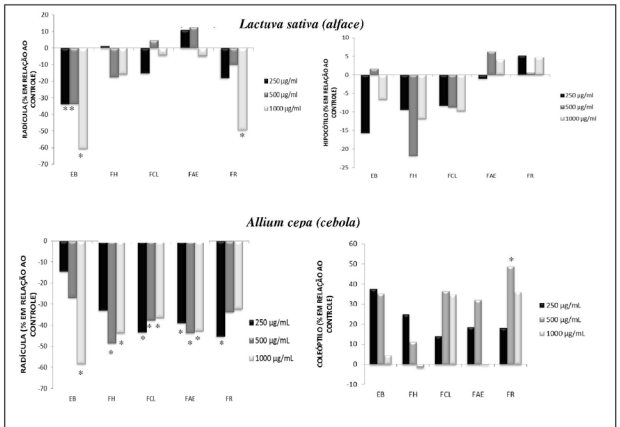

Figura 1 - Avaliação do efeito fitotóxico de *Bauhinia ungulata L.- Crescimento Lactuva sativa e Allium cepa.* EB (Extrato Bruto), FH (Fração Hexano), FCL (Fração Clorofórmio), FAE (Fração Acetato de Etila), FR (Fração Hidroalcoólica Remanescente). Dados expressos em porcentual em relação ao controle. * A média do tratamento difere significativamente ($p<0,05$ em comparação com a média do controle pelo teste de Tukey.

crescimento de *Lactuca sativa* e Alium cepa estão ilustrados na Figura 1.

Os resultados obtidos no bioensaio de germinação da alface e cebola estão apresentados na Tabela 1 que ilustra o efeito fitotóxico do extrato e frações obtidos das folhas de *Bauhinia ungulata* L. sobre a porcentagem e velocidade da germinação das sementes de alface e cebola.

Na Tabela 2 estão apresentadas as massas secas obtidas das plântulas de alface e cebola após contato com as amostras.

A determinação do conteúdo de clorofila total das plântulas de alface e cebola e a avaliação da interferência das diferentes amostras no processo respiratório das raízes são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Conteúdo total de clorofila e respiração de plântulas de alface e cebola submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto e frações obtidas das folhas de *Bauhinia ungulata* L.

CLOROFILA TOTAL (mg/L)						
	ALFACE – *Lactuca sativa* **L.**			**CEBOLA –** *Allium cepa* **L.**		
Tratamento	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**
Amostra						
EB	11,29±0,49fg	10,81±0,21defg	11,06±0,15a6fg	12,20±0,12f	8,66±0,02fg	2,68±0,70a
FH	5,53±0,43a	9,75±0,35bcd	9,84±0,19bcde	4,35±0,03abc	6,24±0,84cde	3,04±0,91a
FCL	10,05±0,57cdef	8,65±0,56ab	8,47±0,16a	5,59±0,06bcd	10,02±0,25g	4,26±0,73abc
FAE	10,80±0,18defg	9,84±0,74bcde	8,96±0,30abc	6,25±0,53cde	7,70±0,87ef	4,58±0,73abc
FR	10,57±0,62defg	11,44±0,39g	10,52±0,37defg	7,67±0,38ef	7,15±0,32def	8,56±1,34fg
Controle	11,20±0,26fg	11,20±0,26fg	11,20±0,26fg	4,15±0,90ab	4,15±0,90ab	4,15±0,90ab
RESPIRAÇÃO (Abs 530nm)						
	ALFACE – *Lactuca sativa* **L.**			**CEBOLA –** *Allium cepa* **L.**		
Tratamento	**250 µg.mL-1**	**500 µg.mL-1**	**1000 µg.mL-1**	**250 µg.mL-1**	**500 µg/mL**	**1000 µg/mL**
Amostra						
EB	0,03±0,01a	0,11±0,04abc	0,12±0,09abc	0,08±0,004a	0,16±0,01a	0,15±0,03a
FH	0,14±0,03bc	0,14±0,01bc	0,12±0,02abc	0,20±0,03a	0,14±0,07a	0,09±0,01a
FCL	0,08±0,05ab	0,13±0,02abc	0,17±0,004bc	0,10±0,03a	0,16±0,05a	0,15±0,02a
FAE	0,17±0,03bc	0,18±0,02bc	0,15±0,03bc	0,23±0,02a	0,26±0,03b	0,21±0,01a
FR	0,11±0,005abc	0,20±0,007c	0,17±0,006bc	0,22±0,01a	0,20±0,02a	0,20±0,003a
Controle	0,03±0,02a	0,03±0,02a	0,03±0,02a	0,14±0,003a	0,14±0,003a	0,14±0,003a

EB (Extrato Bruto), FH (Fração Hexano), FCL (Fração Clorofórmio), FAE (Fração Acetato de Etila), FR (Fração Hidroalcoólica Remanescente). Valores são apresentados como a média (±DP). Letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) de acordo com o teste de Tukey.

DISCUSSÃO

No que diz respeito à porcentagem de germinação (% G) das sementes de alface e cebola apresentados na Tabela 1, não foi observada diferença significativa entre os tipos de extrato de *Bauhinia* e suas concentrações. O fato das concentrações não afetarem a porcentagem de germinação pode ser explicado por Ferreira & Borghetti (2004), os quais relatam que o efeito alelopático não se dá, frequentemente, sobre a porcentagem de germinação final, e que pode estar relacionada a outro parâmetro, como por exemplo, o comprimento médio da raiz primária. Ferreira & Aqüila (2000) também evidenciaram o fato da germinação ser menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas, pois este parâmetro é influenciado por estas substâncias que podem levar ao aparecimento de plântulas anormais, tendo a necrose como um sintoma comum.

Ao verificar a interferência das amostras sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de alface (Tabela 1) observou-se redução na velocidade quando em contato com o EB e FH na maior concentração, quando comparadas ao controle. Com relação a cebola nenhuma interferência foi observada. O IVG é usado para avaliar o vigor das sementes (Maguire, 1962), pois seu enfraquecimento causa perda progressiva na capacidade produtiva, com a redução na uniformidade da germinação (Ferreira & Borghetti, 2004). A partir dos resultados é possível observar a ocorrência de atraso na germinação da alface, quando em contato com o EB e FH na concentração de 1000 $\mu g.mL^{-1}$. Estudo equivalente foi realizado com, outra espécie do mesmo gênero, a *Bauhinia forficata*, usando como alvo sementes de tomate (Manoel *et al*., 2009) e observou-se que não houve diferenças entre os tratamentos e o controle, ou entre os tratamentos. Mourão Júnior *et al*. (2010) observaram em seus estudos que o EB de B. guianensis inibiu a germinação das sementes da planta invasora Mimosa pudica em 67%, e quando a espécie utilizada foi a *B. macrostachya* a inibição foi de 52%.

Na análise dos resultados relacionados com o crescimento do sistema radicular (Figura 1) das plântulas de alface, foi observado que a FR na maior concentração e EB em todas as concentrações inibiram o crescimento da raiz, quando comparadas ao controle, com inibição de 60,02% (EB) e 50,67% (FR) nas maiores concentrações. Por outro lado, não foi observado nenhum efeito fitotóxico influenciando no crescimento do hipocótilo. Na cebola, observou-se inibição do crescimento radicular com EB 1000 $\mu g.mL^{-1}$, FH 500 e 1000 $\mu g.mL^{-1}$, FCL e FAE em todas as concentrações testadas e FR 1000 $\mu g.mL^{-1}$. Os efeitos mais significativos foram observados com o EB (1000 $\mu g.mL^{-1}$) e FH (500 $\mu g.mL^{-1}$) que promoveram 58,33% e 48,43% de inibição no crescimento radicular comparado ao controle. No que diz respeito ao crescimento do coleóptilo da cebola, o extrato FR 500 $\mu g.mL^{-1}$ proporcionou estimulação em 48,89% quando comparado ao controle. O efeito geralmente observado no crescimento inicial é a redução do eixo radícula-hipocótilo da planta alvo (Paula *et*

al., 2014). Comparando-se o crescimento da raiz e da parte aérea (hipocótilo/coleóptilo), é possível observar que os efeitos alelopáticos foram mais evidentes no crescimento da raiz, o que pode ser justificado pela absorção e, consequentemente, maior concentração de fitotoxinas nos tecidos radiculares que é favorecida pelo contato físico da raiz com o papel filtro (Chung *et al*., 2001).

Este fato foi demonstrado por Mourão Júnior *et al*. (2010) em um experimento em que observaram 45,3% inibição do alongamento do hipocótilo de sementes de Mimosa pudica quando em contato com o extrato metanólico obtido das folhas de *B. guaianensis* e 36% para o obtido das raízes, e para a *B. macrostachya* foi de 44% e 50%, respectivamente. Comparado ao crescimento da radícula, quando foi utilizado o extrato obtido das folhas de *B. guaianensis*, observou-se inibição de 88,7% e utilizando o extrato das raízes, 75,3%, enquanto que para a B. machrostachya os valores foram de 60,7% e 69% para as folhas e raízes (Mourão Júnior *et al*., 2010). Portanto, foi observada uma maior inibição do crescimento da raíz primária da plântula. Paula *et al*. (2014), também observaram em seus experimentos que a parte aérea e as raízes apresentaram respostas diferentes aos aleloquímicos, demonstrando que os mesmos afetam mais o desenvolvimento e/ou crescimento do que a germinação.

A ação estimulante do crescimento, como o que ocorreu neste experimento, é efeito pouco relatado na literatura. Gorla & Perez. (1997) observaram efeito estimulante no crescimento da radícula de plântulas de tomate em 25% quando avaliaram a atividade alelopática do extrato de *Drimis winteri*, porém neste caso, com o aumento da concentração foi observado atividade inibitória.

As plantas produzem e estocam um grande número de produtos do metabolismo secundário nas suas diversas partes (folhas, caules, raízes, flores, sementes), os quais são posteriormente liberados para o meio ambiente, chamados aleloquímicos. São conhecidos mais de 10 mil metabólitos secundários com ação alelopática, e a interferência causada raramente é provocada por uma única substância, sendo comum que o efeito se deva a um conjunto delas (Malheiros & Peres, 2001).

Os efeitos dos aleloquímicos podem variar conforme o órgão da planta onde eles atuam (Maraschin-Silva & Aqüila, 2006), sendo capazes de causar inibições em um órgão e pequenos incrementos em outro. Apesar de ser um resultado pouco frequente, trabalhos anteriores já relataram estímulos no crescimento da alface (Pelegrini & Cruz-Silva, 2012), sendo que uma das explicações para este fato é a ocorrência de interferência dos aleloquímicos sobre os fitormônios (Sausen *et al*., 2009) além da presença de nutrientes no extrato bruto (açúcares, aminoácidos, sais). De acordo com alguns autores, os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são dependentes da concentração, onde se observam ativações em baixas concentrações e inibições em altas concentrações (Hagemann *et al*., 2010).

Com relação à massa seca (Tabela 2), não foram observadas diferenças entre as amostras, ou, entre as amostras e controle para ambas as espécies, alface e cebola, demonstrando que os tratamentos não influenciaram na massa das plântulas. Gatti *et al*. (2004) estudando plântulas de rabanete submetidas a extratos de *A. esperanzae* também não registraram alterações na massa, embora tenham observado alterações no comprimento das plântulas, como o que ocorreu neste experimento.

Redução no teor de clorofila total foi observada nas folhas das plântulas de alface, quando em contato com FH, 250, 500 e 1000 $\mu g.mL^{-1}$, FCL e FAE 500 e 1000 $\mu g.mL^{-1}$. Aumento do teor de clorofila total foi observado para com a cebola, quando em contato com a EB 250 e 500 $\mu g.mL^{-1}$, FH e FCL 500 $\mu g.mL^{-1}$, FAE e FR 250, 500 $\mu g.mL^{-1}$ e FR 1000 $\mu g.mL^{-1}$ (Tabela 3). As moléculas de clorofila constituem um sistema de pigmentos responsáveis pela absorção e transferência de energia radiante (Ferri, 2004). Aleloquímicos podem inibir a fotossíntese por induzir mudanças no conteúdo de clorofila das plantas receptoras (Carmo *et al*., 2007) sendo a aparência clorótica (verde amarelado) das plantas um sintoma da degradação das moléculas de clorofila ou da inibição da sua síntese mediados por aleloquímicos, que impedem a formação das Mg-porfirinas (Einhellig, 1986; Carmo *et al*., 2007). Por outro lado, um aumento no teor de clorofila, principalmente a clorofila b, pode ser relacionado à tentativa de aclimatação da espécie, devido sua função fotoprotetora (Marenco & Lopes, 2005). Em ambos os casos, esses efeitos lembram a atuação dos herbicidas, como as piridazinonas e imidazolinonas (Carmo *et al*., 2007).

Aumento da respiração radicular foi observado com a alface quando em contato com FH 250 e 500 $\mu g.mL^{-1}$, FCL 1000 $\mu g.mL^{-1}$, FAE 250, 500 e 1000 mg. mL^{-1} e de FR 500 e 1000 $\mu g.mL^{-1}$ e com a cebola quando em contato com FAE 500 $\mu g.mL^{-1}$. A respiração radicular também pode ser fortemente afetada na presença de aleloquímicos podendo ser aumentada ou diminuída, dependendo da natureza química dos compostos presentes nos extratos vegetais empregados (Carmo *et al*., 2007). Diante de todos os aspectos, é possível inferir que o metabolismo das plântulas de alface e cebola em questão foi alterado e que os agentes dessas mudanças afetaram adversamente a atividade respiratória, seja a nível mitocondrial, seja por atuarem sobre as diversas enzimas envolvidas no processo, sendo o efeito danoso para a planta receptora.

Os flavonoides quercetina, quercetina-3-Oarabinofuranosídio e quercitrina já foram isolados das folhas da *Bauhinia ungulata* (Maia Neto *et al*., 2008), sendo a atividade fitotóxica deste grupo de metabólitos secundários reportada na literatura (Melos *et al*., 2007). Uma vez que a presença de flavonoides já foi verificada em *Bauhinia ungulata* é possível supor que tais efeitos inibitórios do extrato e frações observados nos experimentos se devam em grande parte a essas substâncias. Estes compostos podem ser responsáveis, isolado ou sinergicamente, pela interferência nos processos fisiológicos durante a fase de crescimento das espécies-alvo em estudo (Einhellig, 1986).

Os resultados obtidos evidenciam que o extrato e frações de B. ungulata, em algumas concentrações são capazes de interferir no metabolismo das plantas testadas, principalmente em relação ao crescimento radicular, teor de clorofila e respiração radicular. Estas informações poderão ser úteis para futuras pesquisas de desenvolvimento de compostos químicos bioativos que servirão de modelo para estudo de herbicidas potenciais para controle de eudicotiledôneas e monocotiledôneas.

AGRADECIMENTOS

À Capes pelo suporte financeiro e bolsas de doutorado, à Sra. Geciane Mirian da Silva pelo auxílio com a coleta do material e ao Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela identificação da espécie.

ABSTRACT

Phytotoxic potential with allelopathic focus of Bauhinia ungulata L. on seeds and seedlings of lettuce and onion

This study evaluated the effect of ethanol extract and different fractions of leaves of *Bauhinia ungulata* **L. on germination, growth, respiration and chlorophyll content of seedlings of** *Lactuca sativa* **(lettuce) and** *Allium cepa* **(onion). Seeds of lettuce and onions were put in contact with the sample solution and placed in a germination chamber. Daily counts were carried out to assess the interference on the germination and growth, and it was possible interference on the root respiration and the total chlorophyll content of the leaves of the seedlings. No interference of the samples on the percentage of germination and dry mass of the two species was not observed. With respect to GVI, there was a delay of germination of lettuce seeds when in contact with the CE. Root growth of the two species was inhibited mainly by fractions CE and RF, without any interference on the growth of hypocotyl of lettuce and stimulating onion coleoptile growth. Reduction in total chlorophyll content of lettuce and onion increased, as well as stimulating the respiration of roots. It is concluded that the extract and the** *Bauhinia ungulata* **L. fractions have chemical compounds with phytotoxic activity on the development of lettuce seedlings interfering mainly on root growth, chlorophyll content and root respiration of species assessed.**
Keywords: Fabaceae. Germination. Chlorophyll. Seeds. Paw of Cow.

REFERÊNCIAS

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

Carmo FMS, Borges EEL, Takaki M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (Ocotea odorifera (Vell.) Rohwer). Acta Bot Bras. 2007;21(3):697-705.

Chung IM, Ahn LK, Yun SJ. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (Echinochloa crus-gall) on rice (Oriza sativa L.) cultivars. Crop Protect. 2001; 20(10):921-8.

De Almeida GD, Zucoloto M, Zetun MC, Coelho I, Sobreir FM. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. Rev Fac Nal Agr Medellìn. 2008;61(1):4237-47.

Einhellig FA. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: Putnam AR, Tang CHS. (eds.). The Science of allelopathy. New York: John Wiley and Sons; 1986, p. 171-88.

Ferreira AG, Aqüila ME. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. Rev Bras Fisiol Veg. 2000;12:175-204.

Ferreira AG, Borghetti F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed; 2004. 323p.

Ferri MG. Fisiologia vegetal. 2ª.ed. São Paulo: Editora EPU; 2004.

Gatti AB, Perez SCJG, Lima MIS. Efeito alelopático de Aristolochia esperanzae O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e Raphanus sativus L. Acta Bot Bras. 2004;18(3):459-72.

Gorla CM, Perez SCJG. A. Influência de extratos aquosos de folhas de Miconia albicans Triana, Lantana camara L., Leucaena leucocephala (Lam) e Drimys winteri Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. Rev Bras Sem.1997;19(2):260-5.

Hagemann TR, Benin G, Lemes C, Marchese, JA, Martin, TN, Pagliosa ES, Beche E. Potencial alelopático de extratos aquosos foliares de aveia sobre azevém e amendoim-bravo. Bragantia. 2010;69(3):509-18.

Hoffmann CEF, Neves LA, Bastos CF, Wallau GL. Atividade alelopática de Nerium oleander L. e Dieff enbachia picta Schott em sementes de *Lactuca sativa* L. e Bidens pilosa L. Rev Ciênc Agrovet. 2007;6(1):11-21.

IAS. International Allelopathy Society Constitution. First World Congress on Allelopathy. A Science for the Future. Cadiz : Universidad de Cadiz; 1996. p. 76.

Labouriau LG, Valadares MEB. On the germination of seeds Calotropis procera (Ait.) Ait.f. An Acad Bras Ciênc. Rio de Janeiro. 1976;48(2):263-84.

Lewis GP, Schrire BD. Tribe Cercideae. In: Lewis GP, Schrire BD, Mackinder B, Lock M. (eds.). Legumes of the World. Kew (UK): Royal Botanic Gardens; 2005. p. 57-67.

Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer L, Douce R, editors. Methods in enzymology: plant cell membranes. San Diego, California: Academic Press; 1987. v. 148, p.350-82.

Macias FA, Castellano D, Molinillo JMG. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. J Agric Food Chem. 2000; 48(6):2512-21.

Maguire JD. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci. [Internet]. 1962 [citado 2013 maio 09]; 2(2):176-7. Disponível em: https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176

Maia-Neto M, Andrade-Neto M, Braz-Filho R, Lima MAS, Silveira ER. Flavonoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia ungulata* L. Biochem Syst Ecol. 2008;36(3):227-9.

Malheiros A, Peres MTLP. Alelopatia: interações químicas entre as espécies. In: Yunes RA, Calixto JB. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos; 2001. p. 505-6.

Manoel DD, Doiche CFR, Ferrari TB, Ferreira G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville) e pata-de vaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. Semina (Ciências Agrárias). 2009;30(1):63-70.

Maraschin-Silva F, Aqüila MEA. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. Rev Árvore. 2006;30(4):547-55.

Marenco RA, Lopes NF. Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa (MG): Editora UFV; 2005. 451p.

Melos JLR, Silva LB, Peres MTLP, Mapeli AM, Faccenda O, Anjos HH, Torres TG, Tiviroli SC, Batista AL, Almeida FGN, Flauzino NS, Tibana LA, Hess, SC, Honda NK. Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de Adiantum tetraphyllum Humb. & Bonpl. Ex. Willd (Pteridaceae). Quím Nova. 2007; 30(2):292-7.

Morais SM, Dantas JDP, Silva ARA, Magalhães EF. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. Rev Bras Farmacogn. 2005;15(2):169-77.

Mourão Júnior M, Souza Filho APS. Diferenças no padrão da atividade alelopática em espécies da família Leguminosae. Planta Daninha. 2010;28:939-51.

Oliveros-Bastidas AJ, Macías FA, Fernández CC, Marin D, Molinillo JMG. Exudados dela raiz y su relevancia actual en las interaciones alelopaticas. Quím Nova. 2009;32(1):198-213.

Paula CS, Cantelli VCD, Silva CB, Campos R,Miguel OG, Miguel MD. Atividade alelopática do extrato e frações das folhas de Dasyphyllum tomentosum (Spreng.) Cabrera. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2014;35(1):47-52.

Pelegrini LL, Cruz-Silva CTA. Variação sazonal na alelopatia de extratos aquosos de Coleus barbatus (A.) Benth. sobre a germinação e o desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. Rev Bras Plantas Med. 2012;14(2):376-82.

Sausen TL, Löwe TR, Figueiredo LS, Buzatto CR. Avaliação da atividade alelopatica do extrato aquoso de folhas de Eugenia involucrata DC. e Acca sellowiana (O. Berg) Burret. Polibotánica, 2009;27:145-58.

Steponkus PL, Lanphear, FO. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. Plant Physiol. 1967;42(10):1423-6.

Trevisan RR, Lima CP, Miyazaki CMS, Pesci, FA, Silva CB, Hirota BCK, Lordello, ALL, Miguel OG, Miguel MD, Zanin SMW. Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de Celtis iguanaea (Jacq.) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. Rev Bras Plantas Med. 2012;14(3):494-9.

Vaz AMSF. *Bauhinia*. In Lista de Espécies da Flora do Brasil. [Online]. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro; 2010. [citado em 18 jan 2011]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB022831>.