

UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SUSTENTABILIDADE DE
ECOSSISTEMAS COSTEIROS E MARINHOS
MESTRADO EM ECOLOGIA

ERIKA GUISANDE ROJAS

ALELOPATIA DO CHAPÉU DO SOL (*TERMINALIA CATAPPA* L.) SOBRE O
CRESCIMENTO DE DUAS ESPÉCIES DE PLANTAS DE RESTINGA

SANTOS/SP

2014

ERIKA GUISANDE ROJAS

**ALELOPATIA DO CHAPÉU DO SOL (*TERMINALIA CATAPPA* L.) SOBRE O
CRESCIMENTO DE DUAS ESPÉCIES DE PLANTAS DE RESTINGA**

Dissertação apresentada à Universidade Santa Cecília como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre no Programa de Pós-graduação em Ecossistemas costeiros e Marinhos, sob a orientação da Profa. Dra. Mara Angelina Galvão Magenta e co-orientação do Dr. Prof. Walber Toma

SANTOS/SP

2014

Autorizo a reprodução parcial ou total deste trabalho, por qualquer que seja o processo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos.

Rojas, Érika Guisande.
Avaliação do Potencial Alelopático do Chapéu do Sol (*Terminalia catappa* L.) sobre o crescimento de plantas de restinga.
2013.
57f.

Orientador: Mara Angelina Galvão Magenta.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Santa Cecília, Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos, Santos, SP, 2003.

1. Alelopatia. 2. Taninos. 3. Ácido gálico 4. Espécies invasoras. 5. *Terminalia catappa* I. Magenta, Mara Angelina Galvão, Walber Toma. II. Avaliação do Potencial Alelopático do Chapéu do Sol (*Terminalia catappa* L.) sobre o crescimento de plantas de restinga.

Aos meus pais, esposo e meus filhos,
com amor, admiração e gratidão, por
vossa compreensão, carinho, presença e
incansável apoio ao longo do período de
elaboração deste trabalho.

Agradeço a minha querida orientadora Mara Magenta, que teve tanta paciência comigo se dedicando de coração ao nosso projeto.

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu pai, José Luis Rojas Carrasco, por ter acreditado na minha capacidade intelectual, à minha mãe Mirtes Massa e à minha sogra Claudia de Pietro por me ajudarem em tudo com tanto amor.

Gostaria também de agradecer meu marido, Daniel Adrião pela paciência e tolerância nestes meses que me dediquei às atividades do mestrado, e aos meus filhos Julia e João Rojas pela imensa força que me deram para continuar.

Ao querido professor Voltolini que teve uma participação muito especial no final do trabalho com os cálculos estatísticos.

Ao pessoal do Laboratório de Ecotoxicologia por ter alocado minhas placas de Petri em sua Câmara de Germinação.

Aos professores e ao coordenador do Mestrado de Ecologia da Unisanta.

À Sandra e a Imaculada, secretárias da pós graduação pelo carinho e entusiasmo diário para com todos os alunos.

E a todos aqueles que são apaixonados pelo meio ambiente, e que, de alguma forma lutam para um mundo melhor e sustentável.

“Se um homem tem talento e não tem capacidade de usá-lo, ele fracassou. Se ele tem talento e usa somente a metade deste, ele fracassou parcialmente. Se ele tem um talento e de certa forma aprende a usá-lo em sua totalidade, ele triunfou gloriosamente e obteve uma satisfação e um triunfo que poucos homens conhecerão.”

Thomas Wolfe

RESUMO

Alelopatia pode ser definida como a capacidade de um organismo de produzir substâncias químicas que influenciam no crescimento e/ou desenvolvimento de outras espécies. *Terminalia catappa* L. é uma espécie asiática que se tornou invasora na América do Sul e que, recentemente, passou a invadir as restingas do estado de São Paulo. A restinga desempenha um papel fundamental na estabilidade de dunas e biodiversidade; trata-se de um ecossistema altamente sensível e muito impactado no Brasil, que sofre alta especulação imobiliária, devido à localização privilegiada ou ainda a invasão de espécies exóticas. O objetivo deste trabalho foi investigar o possível efeito alelopático causado por *T. catappa* em duas espécies nativas da restinga, com intuito de fornecer subsídios para futuras ações de conservação e resiliência deste ecossistema. Para tal, foram elaborados experimentos de germinação de sementes de duas espécies nativas da vegetação da fisionomia de Escrube: *Clusia criuva* Cambess. e *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack. da Restinga de Itaguaré, em Bertiooga, SP, sob influência de diferentes concentrações do extrato de *T. catappa*. Foi elaborado um extrato a partir das folhas secas e trituradas desta espécie, levadas ao percolador e ao rotaevaporador. O líquido extrator foi partido em três frações com diferentes polaridades. A fração aquosa foi a mais indicada para este experimento. Para análise fitoquímica qualitativa foram adicionados a fração aquosa, os reagentes Stiasny, Cloreto Férrico e Acetato de Chumbo. A análise quantitativa do teor nos fenóis totais presentes nas amostras foi realizada por espectroscopia na região do visível com o método de Folin–Ciocalteu. Na segunda etapa, a biológica, as sementes foram alocadas sobre discos de papel-filtro em placas de Petri, contendo 5 mL de solução com quatro repetições para cada concentração (250, 500 e 1.000 mg/L-1). Nas placas controle, livre de extrato, foi adicionada água destilada. As placas foram alocadas em câmara de germinação com foto-período controlado de 12 horas e 25° C e regadas regularmente com água destilada. A observação foi feita por quatro semanas consecutivas. Foram consideradas germinadas as sementes com crescimento radicular a partir de 2 mm de comprimento. O experimento foi considerado como concluído após 28 dias a partir da data da semeadura. As análises fitoquímicas da FrAq qualitativas mostraram a presença de ácido gálico e as análises cromatográficas demonstram positividade para compostos fenólicos da classe dos taninos derivados do ácido gálico. Nos bioensaios de germinação, as placas que continham FrAq do extrato apresentaram menores porcentagem, tempo médio e velocidade de germinação, em comparação com as placas controle, comprovando o efeito alelopático sobre as duas espécies nativas. A comparação do tamanho da radícula entre sementes germinadas do grupo controle e as expostas a FrAq, mostrou também inibição no crescimento da radícula.

Palavras-chave: Alelopatia. Taninos. Ácido Gálico. Espécies invasoras. *Terminalia catappa*.

ABSTRACT

Allelopathy can be defined as the ability of an organism to produce chemicals that influence the growth and/or development of other species. *Terminalia catappa* L. is an Asian species that has become invasive in South America and has recently started to encroach on the sandbanks of the state of São Paulo. The sandbank plays a key role in the stability of dunes and biodiversity and it is a highly sensitive and very impacted ecosystems in Brazil, suffering high real estate speculation or the invasion of exotic species. The objective of this study was to investigate the possible allelopathic effect caused by *T. catappa* in two native species of sandbank, aiming to provide support for future conservation actions and resilience of this ecosystem. For such experiments, germination of two native species of vegetation physiognomy Escrube were prepared (*Clusia criuva* Cambess. and *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack from "Restinga de Itaguapé" in Bertioga, SP, under the influence of different concentrations of extract of *T. catappa*. An extract was prepared from the leaves of *T. catappa* dried and crushed, the liquid extractor was separated into three fractions with different polarities. The aqueous fraction was the most suitable for this experiment. For qualitative phytochemical analysis were added to the aqueous fraction Stiasny, Ferric Chloride and Lead Acetate reagents. The quantitative analysis of total phenols content in the samples was performed by spectroscopy in the visible region with Folin -Ciocalteu reagent. In the second step, the biological, the seeds were placed on filter paper discs allocated in Petri dishes containing 5 ml of the solution with four replications for each concentration (250, 500 and 1000 mg/l⁻¹). In the control plates, free of extract, was added distilled water. The plates were placed in a growth chamber with controlled photoperiod of 12 hours and 25°C and watered regularly with distilled water. The observation was made for four consecutive weeks. For the experiment were considered to have germinated seed with root growth from 2 mm long. The experiment was considered complete after 28 days from the date of sowing. The phytochemical FrAq qualitative analyzes showed the presence of gallic acid and chromatographic analyzes show positivity for the class of phenolic compounds derived from gallic acid tannins. In bioassays for germination, the plates containing FrAq extract had lower percentage, average time and germination rate, compared with the control plates, proving the allelopathic effect on the two native species. The comparison of the size between radicle germinated seeds in the control group and exposed to FrAq also showed growth inhibition of radicle.

Keywords: Allelopathy. Tannins. Gallic acid. Invasive species. *Terminalia catappa*.

SUMÁRIO

1. Introdução:	11
2. Material e métodos	17
2.1. Local de Estudo	17
2.1.1. A Região de Bertioga	18
2.1.2. Clima da região.....	19
2.2. Caracterização das fisionomias da Vegetação.....	20
2.3. Processo extrativo	20
2.4. Partição do extrato bruto	21
2.5. Análise fitoquímica da fração aquosa (FrAq).....	22
2.6. Cromatografia em Camada Delgada.....	23
2.7. Determinação de fenóis totais.....	23
2.8. Bioensaios da Atividade Alelopática	24
2.9. Análise Estatística	28
3. Resultados	28
3.1. Análises Fitoquímicas	28
3.2. Bioensaios de Germinação	31
3.3. Frequência da Germinação das Sementes	33
3.4. Germinação ao longo do tempo	35
3.5. Comprimento da radícula	36
4. Discussões	39
5. Conclusão	44
6. Referências	46
Apêndice – Registro fotográfico	53

Lista de tabelas e quadros

Tabela 1: Compostos fenólicos (taninos) em FrAq de <i>Terminalia catappa</i>	29
Tabela 2: Teor de compostos fenólicos totais	30
Tabela 3 . Porcentagem de germinação não acumulada em relação ao tempo em dias nas duas espécies	32
Tabela 4. Estatística descritiva da germinação (%) de sementes de <i>Tibouchina clavata</i> e <i>Clusia criuva</i> expostas a diferentes concentrações de extratos de <i>Terminalia catappa</i>	34

Lista de ilustrações

Figura 1. Fatores que influenciam a síntese de metabólitos secundários	14
Figura 2. Invasão de <i>Terminalia catappa</i> em fisionomia de Vegetação de Praia e Dunas	16
Figura 3. Invasão de <i>Terminalia cattapa</i> em fisionomia de Escrube.....	16
Figura 4. Área de coleta das plantas de estudo	18
Figura 5. Balanço hídrico mensal na região de Bertioga	19
Figura 6. Folhas secas de <i>Terminalia catappa</i>	21
Figura 7. Percolador.....	21
Figura 8. Rotaevaporador.....	21
Figura 9 a e b. População de <i>Clusia criuva</i> Cambess. Detalhe das folhas, flores, fruto e sementes	24
Figura 10 a e b. População e detalhe das flores de <i>Tibouchina clavata</i> (Pers.) Wurdack	25
Figura 11.a e b. Sementes de <i>Clusia criuva</i> Cambess	25
Figura 12.a e b. Sementes de <i>Tibouchina clavata</i> (Pers.).....	26
Figura 13. Tratamento com Água Destilada e FrAq.....	26
Figura 14. Câmara de Germinação	26
Figura 15. Sementes incubadas na Câmara de Germinação	26
Figura 16. Análise fitoquímica qualitativa	29
Figura 17. Cromatografia em Camada Delgada	30
Figura 18. Comparação da frequência de germinação (%) de sementes de <i>Tibouchina clavata</i> e <i>Clusia criuva</i> expostas a diferentes concentrações de FrAq de <i>Terminalia catappa</i>	33
Figura 19. Comparação dos índices de germinação de sementes de <i>Tibouchina clavata</i> e <i>Clusia criuva</i> expostas a diferentes concentrações de FrAq de <i>Terminalia catappa</i>	34
Figura 20. Variação temporal da frequência de germinação (% acumulada) de <i>Clusia criuva</i> e <i>Tibouchina clavata</i> expostas a diferentes concentrações de FrAq de <i>Terminalia catappa</i>	35
Figura 21. Comparação do comprimento da radícula (mm) de <i>Tibouchina clavata</i> e <i>Clusia criuva</i> expostas a diferentes concentrações (250, 500 e 1000 mg/L) de FrAq de <i>Terminalia catappa</i>	36
Figura 22. A e b. Emissão de radícula em semente de <i>Clusia criuva</i> A. Plântula germinada do grupo-controle; B. Plântula germinada exposta a FrAq em concentração de 1.000 mg /L-1	37
Figura 23. Placas com sementes germinadas de <i>Clusia criuva</i> em água destilada, livre do extrato	37
Figura 24. Placas com sementes germinadas de <i>Clusia criuva</i> submetidas à FrAq a 1000m/L-1	38
Figura 25. Sementes de <i>Tibouchina clavata</i> germinadas com água destilada, livre do extrato	38
Figura 26. Sementes de <i>Tibouchina clavata</i> germinadas submetidas ao extrato a 1000m/L-1	39
Figura 27. Estrutura química de um galhotanino	39
Figura 28. Ácido Gálico.....	40
Figura 29: Estrutura química central de um composto fenólico	40

1. Introdução

A capacidade do homem de converter o meio ambiente em locais que lhe proporcionem maior conforto tem levado à expansão das áreas urbanas mundiais. Como consequência, as ações antrópicas podem alterar os ecossistemas, tornando-os vulneráveis, podendo abrigar espécies exóticas. (TIVY, 1993; MOONEY & CLELAND, 2001).

Com o aperfeiçoamento dos meios de transporte foram quebradas barreiras fitogeográficas (RAPOPORT, 1976; SHINE, 2005) e atualmente as plantas pioneiras possuem uma distribuição ampla (BILLINGS, 1970; CROSBY, 1993; DORST, 1973; ELTON, 1958; HAIGH, 1980; KELLMAN, 1975; MOONEY & CLELAND, 2001; RAPOPORT, 1976; SHINE, 2005). Essas espécies podem se tornar invasoras, apresentando alta capacidade de modificar sistemas naturais; por isso, invasões em sistemas biológicos constituem uma das maiores ameaças para a conservação de ecossistemas, sendo atualmente a segunda causa mundial de perda da diversidade biológica, e estando somente atrás da destruição do habitat pelo homem (ZILLER, 2000). Esse problema tem sido subestimado na maior parte dos países (D'ANTONIO, 1992; HUCHES, 1994; IUCN, 2000; RANDAL, 1996). Segundo Voltolini & Zanco (2010) é estimado que o impacto causado pelas espécies invasoras consomem centenas de bilhões de dólares em nossas economias a cada ano.

Os locais abertos, como ambientes de campos, cerrados (ZILLER, 2010) e restingas são mais susceptíveis às invasões por espécies arbóreas do que as áreas florestais. Por isso, as vegetações de Praias ou Dunas (apêndice, foto 2) e de Escrube (apêndice, foto 1) estão sujeitas à invasão biológica (MOURA *et al.*, 2011). Ainda segundo Ziller (2010), quanto mais reduzida a diversidade natural, a riqueza e as formas de vida de um ecossistema, mais suscetível ele é à invasão, já que suas funções ecológicas não estão completamente supridas, e estas podem ser preenchidas por espécies exóticas.

Um problema real no Brasil, principalmente nas Unidades de Conservação (MATTHEWS, 2005) é a falta de estratégias ou mecanismos para evitar a disseminação de espécies exóticas invasoras (MARCHESARI, 2007).

Entretanto, de 2006 em diante, algumas ações políticas no país têm incentivado estratégias que visam minimizar tais problemas. A CDB, Convenção Internacional sobre Diversidade Biológica, que estabelece que seja primordial controlar introduções, prevenir e erradicar espécies exóticas que ameaçam os ecossistemas foi assinada por cerca de 190 países. No Brasil foi instituída em 2006, pela CONABIO (Comissão Nacional da Biodiversidade), uma *Câmara Técnica Permanente sobre Espécies Exóticas Invasoras*, com o intuito de integrar estratégias contra os impactos negativos gerados por tais espécies (DECHOUM, 2010).

A melhor maneira de se evitar ou combater o problema é impedir novas introduções e ocupação por espécies que já têm histórico de invasão em algum lugar do planeta. A detecção precoce é um fator primordial para a erradicação imediata (POORTER & ZILLER, 2004; SIMBERLOFF, 2009).

Alguns estudos recentes sobre a viabilidade da erradicação descobriram que o sucesso da mesma depende principalmente da extensão da área invadida (PLUESS *et al.* 2012a) e do tipo de habitat (PLUESS *et al.* 2012b). Existe um sistema de priorização que combina informações ecológicas e explica como as espécies invasoras transformam o meio ambiente invadido, levando em consideração a avaliação das partes interessadas (órgãos governamentais), que avaliam categorias de impacto de acordo aos seus interesses e percepções, para criar uma pontuação global de impacto. (KUMSCHICK *et al.* 2012).

Uma ferramenta utilizada para a gestão de invasões é a IAS 83.SI (*Invaders alien species*) de Britton *et al.* (2011) que fornece exemplos dos possíveis riscos que possam ser incorporados em ambientes sensíveis .

As plantas invasoras podem alterar o ecossistema de inúmeras formas, alterando o ciclo de nutrientes e o microclima, e introduzindo ou facilitando a disseminação de endemias. Também têm capacidade de se deslocar ou excluir as espécies nativas através da competição por limitação de recursos, aumentar a erosão, o fogo e as enchentes, além de terem a capacidade de alteração geomorfológica do habitat, acumulando substratos ou formando dunas e poças

d'água (D'ANTONIO & VITOUSEK, 1992; OCCHIPINTI & AMBROGI, 2007; SANTOS *et al.*, 2005).

Por geralmente não possuírem predadores ou competidores, as espécies exóticas levam vantagem sobre a vegetação nativa (MOURA *et al.*, 2011). Amadurecem precocemente e suas sementes são longevas; essas plantas crescem rapidamente e se adaptam a áreas degradadas, podendo ainda produzir toxinas biológicas que impedem o crescimento das espécies nativas. Tal processo de síntese de compostos, objetivando defesa e perpetuação da espécie, está intimamente relacionado à síntese de metabólitos secundários vegetais.

O metabolismo é definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprimindo o organismo de energia, renovando suas moléculas e garantindo a continuidade do estado organizado (MARZZOCO E TORRES, 2007). Essas reações possuem certa direção devido à presença de enzimas específicas, estabelecendo, assim, as rotas metabólicas, visando o aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula. Além do metabolismo primário, responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para a realização das funções vitais, as plantas também apresentam o chamado metabolismo secundário (CHAMPE *et al.*, 2008). Estes, geralmente apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, com atividades biológicas marcantes (BERG *et al.*, 2008). Dentre as classes de metabólitos secundários de importância biológica destacam-se atualmente os Alcaloides, Ligninas, Cumarinas, Terpenos, Esteroides e os Compostos Fenólicos (Figura 1).

Durante muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes, propriedades biológicas interessantes. Atualmente, entretanto, sabe-se que muitas destas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio. Segundo Gobbo-Neto & Lopes, 2007, os principais fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção de metabólitos secundários são sazonalidade, temperatura,

disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica e indução por estímulos mecânicos e ataques de patógenos.

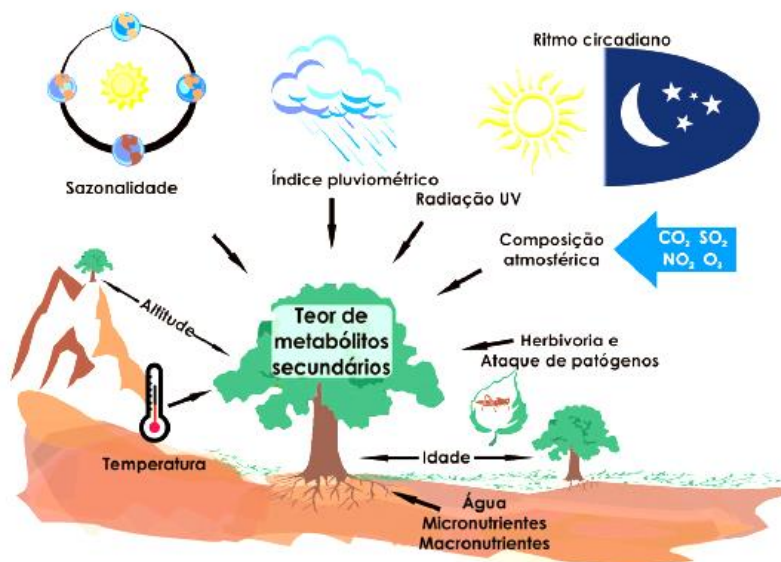


Figura 1: Fatores que influenciam a síntese de metabólitos secundários (extraído de Gobbo-Neto & Lopes, 2006).

De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001). Muitos são de importância comercial, tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentar agrônoma e cosmética. Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse deriva principalmente do grande número de substâncias farmacologicamente importantes.

É bem sabido também, que alguns dos produtos do metabolismo secundário têm funções ecológicas importantes, servindo como protetores frente a predadores, atuando como repelentes, proporcionando à planta sabores amargos e tornando-as indigestas ou venenosas. Tais metabólitos também intervêm nos mecanismos de defesa das plantas frente a diferentes patógenos, atuando como inseticidas naturais. Outros metabólitos secundários têm dentro do contexto ecológico função como atraentes ou repelentes de

animais. Muitos são pigmentos que proporcionam cor às flores e frutos, apresentando deste modo um papel essencial na reprodução atraindo insetos polinizadores, ou atraindo animais que irão utilizar frutos como fonte de alimento, contribuindo deste modo para a dispersão das sementes (GARCIA & CARRIL, 2009). Todo este processo de síntese de metabólitos secundários e o sistema de defesa e perpetuação das espécies estão associados à alelopatia.

A primeira definição de alelopatia foi feita por Molish em 1937, do grego *allelon* = de um para outro e *pathós* = sofrer, é a capacidade das plantas produzirem substâncias químicas que, liberadas no ambiente de outras, influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento.

Segundo Rice (1984) é a capacidade de vegetais superiores ou inferiores, de produzir substâncias químicas que influenciam no crescimento de outras espécies ao seu redor, como outras plantas e microrganismos, podendo ser de ação direta ou indireta, e estimuladora ou inibidora do crescimento (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Bais *et al.* (2003) também afirmam que a alelopatia tem papel ecológico potencialmente importante no sucesso da invasão de plantas exóticas.

É justamente dentro deste contexto ecológico que se enquadra *Terminalia catappa* L. (apêndice, foto 3), planta referência deste trabalho. Trata-se de uma espécie arbórea originária da Malásia (SANCHES, 2009) pertencente à família Combretaceae, que pode atingir de 25 a 40 metros de altura; é tolerante a ventos e “spray” marinho. Foi introduzida no Brasil na época da colheita do Pau-Brasil, por ter crescimento rápido, baixa exigência de recursos do solo e por produzir uma ampla sombra. Atualmente é encontrada em todo o litoral do estado de São Paulo; seus frutos flutuam, podendo ser dispersos por correntes marinhas e são consumidos por aves e por morcegos que também os dispersam (THOMPSON & EVANS, 2006). Esta espécie se associa facilmente à vegetação costeira e já foi observada sua influência negativa no crescimento de outras plantas, atribuída, geralmente, ao sombreamento causado por sua ampla copa (MOURA *et al.*, 2011). Durante alguns estudos efetuados nas restingas de São Paulo (SANCHES *et al.* 2007;

SANCHES, 2009; MOURA *et al.*, 2011), foi observada a ocorrência de *T. catappa* em meio à vegetação das praias e dunas (Figuras 2 e 3).



Figura 2: Trecho da praia de Itaguapé (Bertioga) com invasão de *Terminalia catappa* L. (destaque em amarelo) na fisionomia de Vegetação de Praia e Dunas (Foto de Mara Magenta, 2011).



Figura 3: Trecho da praia de Itaguapé (Bertioga) com invasão de *Terminalia catappa* L. na fisionomia de Escrube (Foto de Mara Magenta, 2012).

Segundo Costa (2010) *Terminalia catappa* é uma espécie caducifólia, é responsável pelo aumento de folhas sobre o solo na primavera, e sua serrapilheira possui aleloquímicos que desencadeiam uma produção maior de serrapilheira, diminuindo o teor de oxigênio do solo e aumentando a concentração dos aleloquímicos.

Existem poucos estudos referentes à vegetação de restinga, sendo fundamental a realização de pesquisas geradoras de maiores informações

sobre esse tipo de vegetação, a qual vem sofrendo grandes ameaças de degradação de âmbito ocupacional (SILVA *et al.*, 1993). Considerando que *Terminalia catappa* é de uma planta invasora em meio à vegetação de praias e dunas na Praia do Itaguapé, em Bertioga-SP (ROJAS *et al.*, 2012), considera-se relevante sua análise fitoquímica e testes de germinação.

Diante disso, o presente trabalho avaliou o possível potencial alelopático de *T. catappa* sobre a germinação de sementes de duas espécies nativas de plantas de restinga, através de testes de germinação de sementes, sob diferentes concentrações da Fração Aquosa (FrAq) obtida a partir das folhas da espécie citada. Além disso, foram feitos de testes qualitativos e quantitativos de seus metabólitos secundários, quando alocada em restinga, pois é sabido que o tipo e a quantidade de compostos fenólicos se alteram em diferentes condições edáficas (JACOBSON *et al.*, 2005).

Os resultados podem auxiliar em avaliações ambientais, no que diz respeito à influência da presença dessa espécie exótica em ambiente de restinga, como forma de se detectar distúrbios na resiliência desse ambiente para a tomada de decisões governamentais.

2. Material e Métodos

2.1. Local de estudo

Este estudo foi desenvolvido com material vegetal proveniente da Restinga de Itaguapé, que está situada entre 23°44'-23°46'S e 45°55'-46°02'W no município de Bertioga (apêndice, fotos 4 e 5), estado de São Paulo (Figura 4). As folhas de *Terminalia catappa* são provenientes de dois indivíduos invasores da vegetação de Escrube. As espécies escolhidas para o teste de germinação são representantes da fisionomia de Vegetação de Praia e Dunas (resolução 007 CONAMA de 1996) de pontos em áreas de restinga da região Sudeste, no estado de São Paulo: Bertioga, no litoral. O material botânico

nativo foi coletado e processado de acordo com Fidalgo & Bononi (1984) e as exsiccatas dos vouchers (E. Rojas 01 e 02) foram depositadas no herbário da UNISANTA (HUSC).



Figura 4: Área de coleta das plantas de estudo, destacada na linha amarela (imagem extraída de Google Earth, 2013).

2.1.1. A região de Bertioga

Na região de Bertioga as planícies costeiras possuem porte pequeno, com restos de terraços marinhos pleistocênicos e sistemas fluviais atuais transversais e paralelos à linha de costa. Os sistemas paralelos estão localizados sobre pequenas lagunas holocênicas colmatadas. Existe muita erosão praial, restringido a Vegetação de Praias e Dunas a poucas áreas. As fisionomias de Dunas, Brejo de Restinga e Floresta Paludosa encontram-se em áreas reduzidas, as duas últimas associadas à paleolagunas. A Floresta Baixa de Restinga é encontrada em faixa estreita paralela ao mar e às áreas ocupadas por vegetação entre cordões (SOUZA *et al.* 1997).

Mesmo sendo a porção mais preservada do litoral central do estado de São Paulo, possui alterações por intervenções antrópicas antigas e recentes,

como o resquício da antiga estrada Bertioga - São Sebastião, agora com vegetação em regeneração, e os alagamentos causados pela construção da rodovia Manoel Hipólito do Rego (Rio-Santos), na década de 1970, que alterou o fluxo das águas superficiais e subsuperficiais. Além disso, houve extração de palmito e caxeta (MARTINS *et al.*, 2008) e nota-se a presença de algumas plantas invasoras, como *Terminalia catappa* e representantes de Asteraceae e Poaceae.

2.1.2. Clima da região

O clima da região de Bertioga é do tipo Af, tropical úmido ou super úmido, segundo classificação de Köppen. As chuvas são distribuídas durante todo o ano (SETZER, 1966). A temperatura média anual é de 24,8°C; a média mensal mais baixa é 20,7°C, em julho e a mais elevada é 28,3°C, em fevereiro, segundo os dados da estação meteorológica do DAEE. Trata-se de uma das regiões mais úmidas do País, com precipitação média de 3.200 mm anuais (SENTELHAS *et al.*, 1999). Os maiores índices de chuva ocorrem da primavera ao verão (Figura 5).

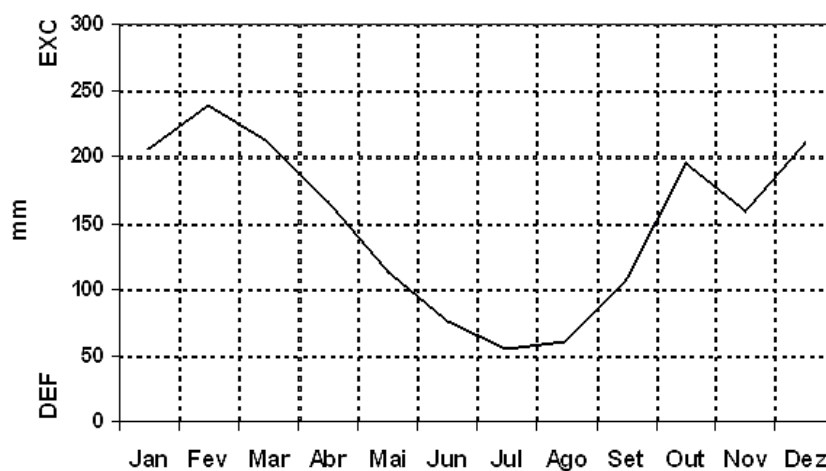


Figura 5: Balanço hídrico mensal na região de Bertioga, segundo os dados climatológicos da estação meteorológica do DAEE (23°45,6'S, 46°04,2'W), obtidos entre 1941 e 1970 (modificado de SENTELHAS *et al.*, 1999).

2.2. Caracterização das fisionomias da Vegetação

A vegetação da região de Bertioga abrange desde as comunidades herbáceas de praia até as formações florestais de restinga, situadas próximas ao sopé da Serra do Mar. As áreas estudadas foram classificadas por Martins *et al.* (2008) de acordo com os critérios da Resolução CONAMA nº 7, de 23 de junho de 1996, e assim definidas:

Praias e dunas - As praias e dunas são ocupadas por vegetação herbácea a subarbustiva, numa estreita faixa paralela ao mar, em substrato arenoso, com serapilheira inexistente ou inconspícua. Nas praias, nas porções mais elevadas, as plantas crescem sobre substrato móvel e frequentemente atingido pelas marés de sizígia, compostas principalmente por espécies herbáceas reptantes, rizomatosas e cespitosas, de 40 cm de altura. A vegetação da anteduna, ocorrendo sobre terraços não atingidos pelas marés, é mais fechada e composta por espécies herbáceas a subarbustivas, com até 60 cm de altura. (MARTINS *et al.*, 2008, p. 268) (apêndice, foto 6).

Escrube - Formação arbustiva fechada, bastante densa, com altura de 1 a 4 metros, modelada pelo vento e exposta à salinidade proveniente de borrifos marinhos, ocupando o primeiro cordão arenoso. A camada de serapilheira é relativamente espessa (cerca de quatro cm), porém a camada orgânica do substrato é muito fina (menos que 0,5 cm de espessura) (MARTINS *et al.*, 2008, p. 268). (apêndice, foto 7)

2.3. Processo extrativo

As folhas de *Terminalia catappa* foram coletadas em janeiro de 2013, entre a vegetação de Escrube da Praia de Itaguapé, no Parque Estadual Restinga de Bertioga-SP, selecionadas apenas as verdes de aspecto saudável e submetidas ao processo de secagem em estufa a 50°C por seis dias consecutivos (Figura 6). Após a secagem, as folhas foram trituradas e moídas; o pó obtido (114 g) foi submetido ao processo de maceração com 2 L de etanol

absoluto por período de 2 horas. Em seguida, o macerado foi levado ao percolador (Figura 7), sendo empacotado homogeneamente, com a mistura (pó + etanol absoluto) e a solução coletada, 48 horas depois. O líquido extrator foi submetido ao rotaevaporador (Figura 8) sob pressão reduzida, em temperatura menor que 45°C obtendo-se o extrato etanólico bruto (EEB) (PRISTA, 1995).



Figura 6: Folhas de *Terminalia catappa* secas em estufa.



Figura 7: Percolador com amostra de *Terminalia catappa*.



Figura 8: Rotaevaporador com extrato de *Terminalia catappa*.

2.4. Partição do extrato bruto

O EEB seco foi ressuspendido em MeOH/H₂O (80:20, v/v) e submetido à partição líquido-líquido com hexano e, em seguida, com acetato de etila, fornecendo, ao final, três frações com diferentes polaridades: Fração hexânica (FrHex); Fração Acetato de Etila (FrAcEt) e Fração Aquosa (FrAq). Objetivando trabalhar com análise fitoquímica de compostos fenólicos foi escolhida a FrAq para sequência dos protocolos experimentais (DA SILVA & HIRUMA-LIMA, 2012).

Espinosa *et al.* (2012) em seu estudo de alelopatia de *Terminalia catappa* sobre *Sclerotium rolfsii* Sacc., afirmou que, dentre os extratos etéreos, etanólico e aquoso (todos os três possuem efeito alelopático), o aquoso se destacou por induzir maior inibição no crescimento micelial do fungo *S. rolfsii*. Este efeito pode estar associado à presença de metabolitos secundários.

2.5. Análise fitoquímica da fração aquosa (FrAq)

Reação com Acetato de Chumbo

O protocolo de análise fitoquímica seguiu os parâmetros preconizados por COSTA, 1970. Foram pesados 0,5 g da fração aquosa (FrAq) de *Terminalia catappa* sendo em seguida diluídos em 55 mL de água destilada (Solução padrão de FrAq). Desta solução de FrAq, foram pipetados 0,5 mL e transferidos para um tubo de ensaio (Tubo 01 = Tubo controle). Em outro tubo de ensaio (Tubo 02) foram inseridos 5 mL da solução padrão de FrAq. Neste mesmo tubo, foi realizada a reação com acetato de chumbo onde foram adicionados 10 mL de solução de ácido acético 10% e 1 mL de acetato de chumbo 10%. A formação de precipitado indica positividade para a presença de compostos fenólicos pertencentes à classe dos taninos derivados do ácido gálico (Galhotaninos).

Reação de Stiasny

Foram separados 20 mL da solução padrão de FrAq. Tal solução foi aquecida em banho-maria (100°C) durante 30 minutos. Em seguida foram adicionados à solução ainda aquecida 20 mL do reagente de Stiasny (Formol: ácido clorídrico [2:1]). A formação de precipitado indica positividade para taninos catéquicos.

Reação com Cloreto Férrico 2%

A solução de FrAq submetida anteriormente à reação com Stiasny foi filtrada. Ao filtrado foi adicionada uma gota de solução de Cloreto Férrico 2%

(FeCl₃ 2%). A conversão da solução para coloração cinza-escuro indica positividade para taninos derivados do ácido gálico (Galhotaninos).

2.6. Cromatografia em Camada Delgada

Foram pesados 0,01 g de FrAq de *Terminalia catappa* e diluídos em 1 mL de etanol. Como padrão, foi utilizado ácido gálico (0,01 g em 1 mL de etanol). Os *spots* das amostras foram então desenvolvidos utilizando sílica-gel F254, com espessura de 250 µm como suporte, e mistura de clorofórmio/metanol/n-propanol/água (5:6:1:4; v/v) como fase móvel. Ao final da eluição, a placa cromatográfica foi revelada com solução de cloreto férrico 1% em metanol e calculados os valores de referência (Rf) (WAGNER *et al.*, 1984).

2.7. Determinação de fenóis totais

A Fração aquosa (FrAq) de *Terminalia catappa* foi analisada quanto ao seu conteúdo de fenólicos totais solúveis utilizando o método colorimétrico Folin-Ciocalteu (PICCINELLI *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2004). Para tanto, foram pesados 0,01 g de FrAq e solubilizada em 20 mL de metanol. Para a substância de referência (Ácido Gálico) foi elaborada curva analítica nas concentrações de 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5 e 25 mg/L. Em seguida 0,25 mL de FrAq e do padrão Ácido Gálico foram separados em tubos de ensaio, sendo adicionados 2 mL de água destilada e 0,25 mL do Reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos em temperatura ambiente, foram adicionados 0,25 mL de uma solução saturada de carbonato de sódio e os tubos foram incubados a 37° C durante 30 minutos, em banho-maria. As amostras foram então submetidas à leitura pelo Espectrofotômetro com absorvância de 760 nm, sendo os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico.

2.8. Bioensaios da Atividade Alelopática

Foram coletadas sementes de duas diferentes espécies halófilas características de restinga, *Clusia criuva* Cambess. (Figura 9) e *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack (Figura 10), em Janeiro de 2012. Foi feito um estudo detalhado das necessidades germinativas de cada semente, visando aperfeiçoar os experimentos; Segundo Prudente *et al.* (2012) *T. clavata* apresenta uma taxa de germinação em torno de 60% em temperaturas entre 35 e 30°C, já as sementes de *C. criuva* têm uma taxa germinativa de 99% (CORREIA *et al.*, 2011). Essas características, aliadas ao fato de *T. clavata* possuir sementes muito pequenas e, por isso mais difíceis de terem sua condição de conservação avaliada, influenciaram na escolha do número de sementes a serem postas para germinar (ver próximo parágrafo) as sementes foram bem lavadas para retirada de restos de tecido do fruto (*Clusia* e *Tibouchina*) ou do arilo (*Clusia*) e mergulhadas em hipoclorito de sódio para eliminar possíveis hifas ou esporos de fungos.



Figura 9: *Clusia criuva* Cambess. A. Detalhe das folhas e flores; B. Sementes (amostras coletadas na restinga de Itaguaré, Bertioga, SP).



Figura 10: *Tibouchina clavata* (Pers.): A. População; B. Detalhe da flor (amostras de sementes coletadas na restinga de Itaguapé, Bertioga, SP).

Para os bioensaios de germinação, as placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro Whatman n. 1,0, previamente autoclavados, receberam 5,0 mL da solução dos tratamentos (MACIAS *et al.*, 2000), preparadas nas concentrações de 250, 500 e 1.000 mgL⁻¹. Em seguida, foram depositadas 20 sementes de *C. Criuva* (n=20) e 100 de *T. clavata* (n=100) sobre cada disco de papel filtro, depositado em uma placa de Petri; houve quatro repetições da amostra para cada concentração, seguindo o protocolo de BRASIL, 1992. Totalizando 16 placas para cada espécie (Figuras 11 e 12). Este número de sementes utilizadas foi diferente para cada espécie devido ao tamanho ser muito diferenciado, a semente da *C. criuva* é muito maior em tamanho e em quantidade por exemplar que da *T. clavata*.

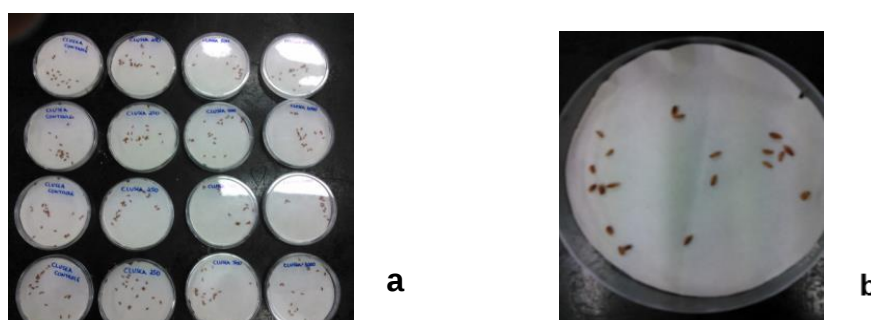


Figura 11 a e b: Sementes de *Clusia criuva* Cambess dispostas em Placa de Petri.

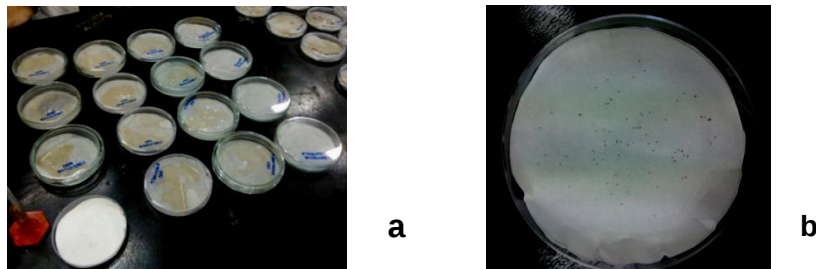


Figura 12 a e b: Sementes de *Tibouchina clavata* (Pers.) dispostas em Placa de Petri

Foram separadas placas cujas sementes foram tratadas com auxílio de micropipeta automática com água destilada, sendo estas caracterizadas como grupo controle negativo. As demais placas receberam extrato aquoso a 250, 500 e 1000 mgL⁻¹, respectivamente (Figura 13). Depois, todas as placas foram alocadas na câmara de germinação (apêndice, foto 7) com foto-período controlado de 12 horas e temperatura de 25° C (Figuras 14, 15) e tratadas regularmente com água destilada. A observação foi feita por um período de quatro semanas consecutivas. Para o experimento foram consideradas germinadas as sementes com crescimento radicular a partir de 2 mm de comprimento. O experimento foi considerado como concluído após quatro semanas (28 dias) a partir da data da semeadura.



Figura 13: Tratamento com Água Destilada e FrAq para análise Alelopatia



Figura 14: Câmara de Germinação



Figura 15: Sementes Incubadas em Câmara de Germinação

A primeira contagem de germinação (apêndice, foto 8) ocorreu aos sete dias após a semeadura. O processo foi repetido por mais três vezes, sempre com intervalos de sete dias. Os cálculos de porcentagem, tempo médio e velocidade de germinação foram realizados conforme fórmulas citadas por

Labouriau & Valadares (1976). Para determinação do índice de índice de velocidade de germinação (IVG) foi utilizada a metodologia (adaptada) de Vieira e Carvalho (1994).

Fórmulas utilizadas:

a. Porcentagem de germinação: $G = (N/A) \cdot 100$, onde:

G = porcentagem de germinação;

N = número de sementes germinadas;

A = número total de sementes colocadas para germinar.

b. Tempo médio de germinação: $t = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$, onde:

t = tempo médio de incubação;

n_i = número de sementes germinadas por dia;

t_i = tempo de incubação (dias).

c. Velocidade média de germinação: $V = 1/t$, onde:

V = velocidade média de germinação;

t = tempo médio de germinação

d. Índice de velocidade de germinação: $IVG = (G_1 - G_0)/N_1 + (G_2 - G_1)/N_2 + \dots + (G_n - G_{n-1})/N_n$, onde:

G_0 = contagem de sementes na primeira contagem de germinação;

G_1 = contagem de sementes na segunda contagem de germinação;

G_n = contagem de sementes na enésima semana;

N_1 = primeira semana após semeadura;

N_2 = segunda semana após semeadura;

Nn = enésima semana após semeadura.

2.9. Análise Estatística

Para comparar a frequência (porcentagem) de germinação (%) de *Clusia criuva* e *Tibouchina clavata* nas concentrações de FrAq de 0 (controle), 250, 500 e 1000 mg/L⁻¹ foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e de comparações múltiplas de Dwass-Steel-Christlow-Fligner. Para comparar o comprimento da radícula em *T. clavata* foi utilizado o teste de Mann-Whitney, pois apenas o controle e a categoria de 250mg/L obtiveram crescimento. No caso de *C. criuva*, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, pois todos os grupos obtiveram crescimento. As análises foram realizadas nos softwares Statistica e Statsdirect assumindo alfa de 0,05. Todos os gráficos box-plots apresentam a média e o erro padrão das amostras.

3. Resultados

3.1. Análises Fitoquímicas

Os metabólitos secundários são os grandes responsáveis pelo efeito alelopático na natureza, visto que são importantes na defesa contra predadores naturais das plantas ou raios ultravioletas. Vários compostos do metabolismo secundário já foram identificados em extratos de plantas tais como compostos fenólicos simples e heterosídicos, cumarinas, xantonas, flavonoides, taninos, saponinas e compostos de enxofre e alcaloides (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Análises fitoquímicas qualitativas a partir de FrAq obtida a partir das folhas de *Terminalia catappa* coletadas em meio à vegetação de praias e dunas na Praia do Itaguapé (Bertioga-SP) demonstram positividade para compostos fenólicos da classe dos taninos derivados do ácido gálico (Galhotaninos) (Tabela 1 e Figura 16).

Tabela 1: Compostos Fenólicos (Taninos) encontrados em FrAq de *Terminalia catappa* (ROJAS *et al*, 2012).

REAGENTE	CRITÉRIOS PARA		RESULTADOS
	POSITIVIDADE	TIPO DE TANINO	
Acetato de Chumbo	Formação de Precipitado	Galhotaninos	Positivo
Stiasny	Formação de Precipitado	Taninos Pirocatéquicos	Negativo
Cloreto Férrico 2%	Coloração Cinza-escuro	Galhotaninos	Positivo

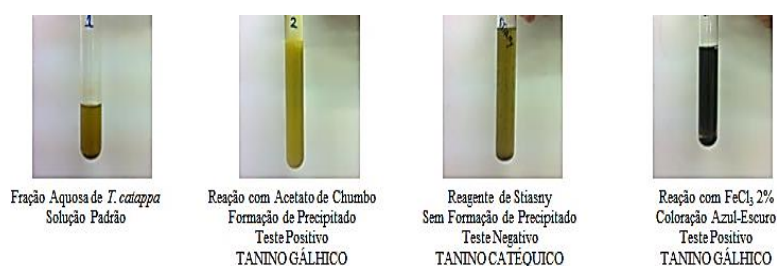


Figura 16: Análise fitoquímica qualitativa a partir da FrAq de *Terminalia catappa* (ROJAS *et al.*, 2012).

Tendo em vista a obtenção de tais dados, foi realizada cromatografia em camada delgada (CCD) de FrAq obtida a partir das folhas de *Terminalia catappa*, tendo como padrão referência o composto fenólico ácido gálico. A análise cromatográfica demonstrou presença de ácido gálico em FrAq, uma vez que a amostra apresenta o mesmo valor de referência ($[\text{Rf}] = 0,9$) quando comparado ao padrão utilizado. (Figura 17).

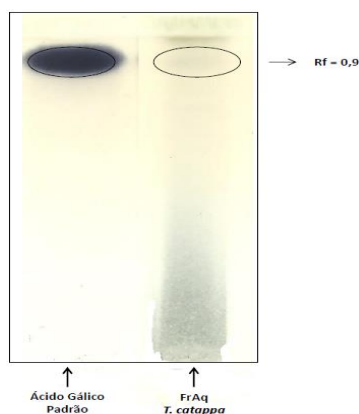


Figura 17: Cromatografia em Camada Delgada; FrAq obtida a partir das folhas de *Terminalia catappa* L. comparada ao padrão (ácido gálico).

Diante da presença de ácido gálico (composto fenólico) em FrAq de *Terminalia catappa*, foi realizada análise para determinação da concentração de compostos fenólicos totais presentes em FrAq, expressos como ácido gálico. Os resultados da análise em FrAq quando comparados à curva padrão de ácido gálico demonstram concentração de 365,4 mg de Ácido Gálico/g de FrAq (Tabela 2).

Tabela 2: Teor de compostos fenólicos totais expressos na forma de ácido Gálico presentes em FrAq obtida a partir das folhas de *Terminalia catappa* L.

AMOSTRA	COMPOSTOS FENÓLICOS (mg de Ácido Gálico/g de amostra)
FrAq <i>Terminalia catappa</i> L.	365,4

De acordo com os resultados obtidos na análise fitoquímica, o composto fenólico ácido gálico é o principal composto presente em FrAq. Dados da literatura apontam que, a complexação entre taninos como o esse ácido e proteínas é a base para suas propriedades farmacológicas e alelopáticas (RANGARI, 2009). Sendo assim, a partir de diferentes concentrações de FrAq (250, 500 e 1000 mgL⁻¹) foram efetuados testes de germinação de sementes de *Clusia criuva* Cambess e *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack.

3.2. Bioensaios de germinação

O número de sementes de *Clusia criuva* germinadas entre as depositadas nas quatro placas de controles (n=20) (sementes com radículas com tamanho ≥ 2 mm de comprimento) chegou a 58,8% do total na primeira semana de experimento, na segunda semana nenhuma semente germinou, na terceira 6,3% e na última semana caiu para 1,3%, atingindo 66,3% de germinabilidade média (Tabela 3).

A porcentagem de sementes germinadas submetidas à concentração de 250 mgL⁻¹ foi de 3,8% na primeira semana, subindo até 6,3% na segunda; na terceira semana não houve germinação e, na última semana, 3,8% germinaram, com um total de 13,8% de média de germinação. Em concentrações de 500 mgL⁻¹, apenas 2,5% germinaram na primeira semana, e o número foi elevado para 8,8% aos 14 dias, 3,8% aos 21 dias, caindo novamente ao final do tempo de experimento, para 1,3%, obtendo-se uma média de 16,3% de germinação. Na concentração de 1.000 mgL⁻¹, a porcentagem de sementes germinadas foi de 5,0%, 5,0%, 1,3% e 18,8% na primeira, segunda, terceira e quarta semanas, respectivamente, mostrando que ao número de sementes germinadas se manteve igual entre a primeira e segunda semanas, caindo na terceira e aumentando significativamente na quarta semana (Figura 22), atingindo uma média de 30% de germinabilidade. No entanto, a comparação do tamanho da radícula entre sementes germinadas do grupo controle (apêndice, foto 10) e as expostas à concentração de 1.000 mgL⁻¹ (apêndice, foto 11), mostra que o extrato não apenas inibiu a porcentagem de espécies germinadas, mas reduziu significativamente o crescimento das radículas (Figura 23). A medição da radícula do maior exemplar, no último dia do experimento esta expressa nas Figuras 25 e 26.

Em *Tibouchina clavata*, o resultado da concentração controle foi de 5,3% de germinabilidade média na primeira semana, 36,5% na segunda, 6,3% na terceira semana e 5,8% na última. Totalizando uma média de germinabilidade de 53,8%. Na concentração de 250 mgL⁻¹ foi de 6,0% na primeira semana de experimento, na segunda semana o a germinação foi de 0,5%, na terceira

semana 0,8% e na quarta e última semana 1,0%. Obtendo-se uma média de 8,3% de germinação.

Na concentração de 500 mgL⁻¹ na primeira semana atingiu 3,0% e nas outras três semanas não houve nenhuma germinação. A média de germinabilidade ficou em 2,0%. Na placa com fração aquosa em 1000 mgL⁻¹ não houve germinação.

Nos ensaios com *Tibouchina clavata*, a emissão de radícula foi observada somente nas placas de controle e com concentração de 250 mgL⁻¹.

Tabela 3 : porcentagem de germinação não acumulada em relação ao tempo em dias nas duas espécies.

<i>Clusia criuva</i>	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Controle	58,8%	0,0%	6,3%	1,3%
250 mgL ⁻¹	3,8%	6,3%	0,0%	3,8%
500 mgL ⁻¹	2,5%	8,8%	3,8%	1,3%
1000 mgL ⁻¹	5,0%	5,0%	1,3%	18,8%
<i>Tibouchina clavata</i>	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Controle	5,3%	36,5%	6,3%	5,8%
250 mgL ⁻¹	6,0%	0,5%	0,8%	1,0%
500 mgL ⁻¹	3,0%	0,0%	0,0%	0,0%
1000 mgL ⁻¹	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

3.3. Frequência de germinação de sementes

Mesmo com uma tendência de menor taxa de germinação nas sementes de *Clusia criuva* expostas a solução proveniente do chapéu de sol, não foi registrada uma diferença estatística importante entre as diferentes

concentrações e destas com o controle (Figura 18 e Tabela 4). No caso de *Tibouchina clavata*, as sementes apresentaram maior taxa de germinação na placa de controle, mas embora tenha havido uma queda na porcentagem de germinação das mesmas nas amostras expostas às diferentes concentrações de FrAq com potencial alelopático, não foi registrada diferença estatisticamente significativa entre elas.

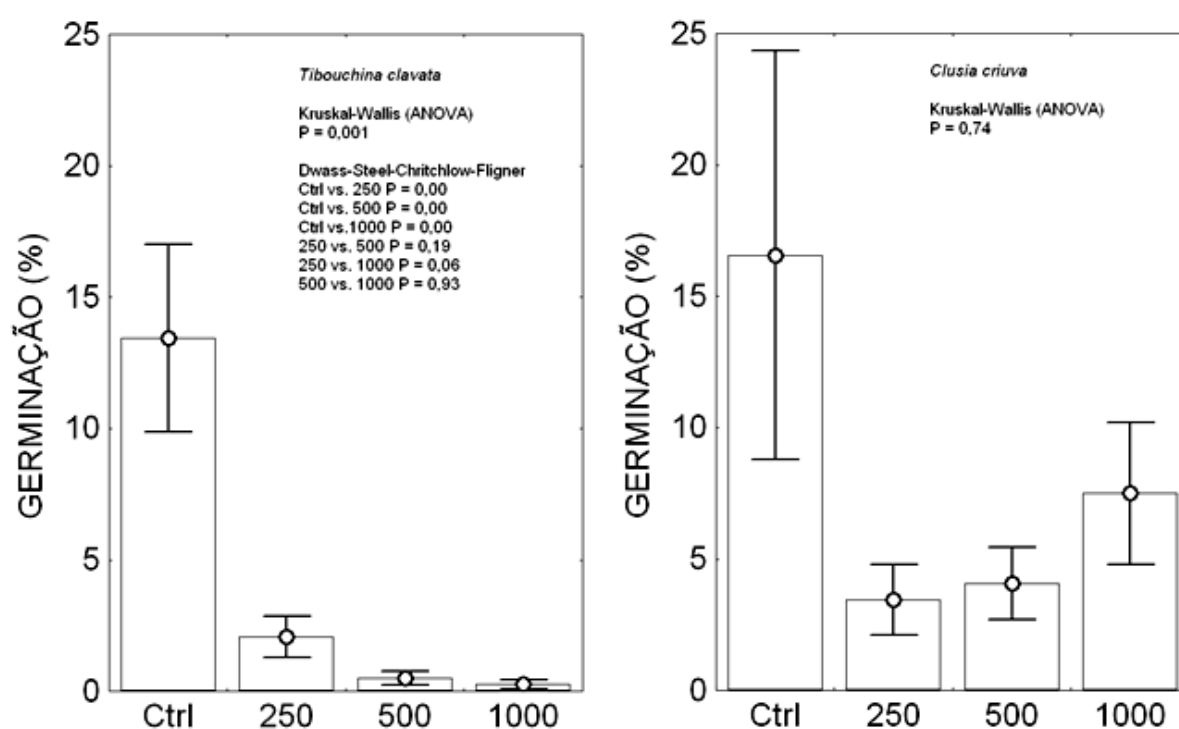


Figura 18: Comparação da frequência de germinação (%) de sementes de *Tibouchina clavata* e *Clusia criuva* expostas a diferentes concentrações de FrAq de *Terminalia catappa*.

Tabela 4. Estatística descritiva da germinação (%) de sementes de *Tibouchina clavata* e *Clusia criuva* expostas a diferentes concentrações de extratos de *Terminalia catappa*. (para total de placas n=4.)

<i>Clusia criuva</i>	N	Média	Erro Padrão	CV%
Controle	4	16,56	7,77	188
250	4	3,44	1,35	157
500	4	4,06	1,39	136
1000	4	7,50	2,70	144

<i>Tibouchina clavata</i>	N	Média	Erro Padrão	CV%
Controle	4	13,44	3,56	106
250	4	2,063	0,79	153
500	4	0,5	0,27	219
1000	4	0,25	0,17	273

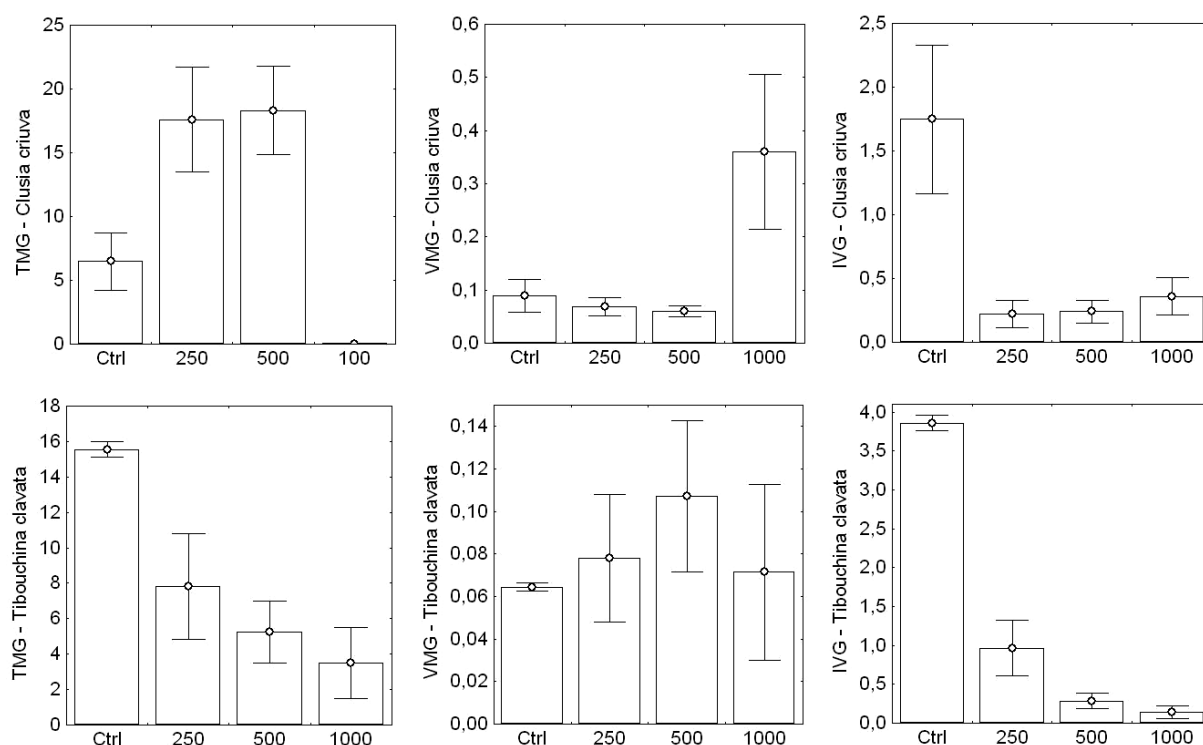


Figura 19: Comparação dos índices de germinação de sementes de *Tibouchina clavata* e *Clusia criuva* expostas a diferentes concentrações de FrAq de *Terminalia catappa*. Legenda: Tempo Médio de Germinação (TMG); Velocidade Média de Germinação (VMG) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Onde os resultados são expressos em TMG= dias e VMG= sementes/dia.

3.4. Germinação ao longo do tempo

Em relação à germinação acumulada, no caso de *Clusia criuva*, a germinação no controle ocorreu, em sua maioria, nos primeiros sete dias, se mantendo estável até o 14º dia, com novas germinações ocorrendo após esse período. As amostras expostas a FrAq e com diferentes concentrações de *Terminalia catappa*, apresentaram baixa taxa de germinação nesse tempo; a exceção ocorreu na concentração de 1000mgL⁻¹, com pequeno um aumento na última semana. Em *Tibouchina clavata*, as taxas de germinação iniciais também foram maiores no controle e aumentaram pronunciadamente ao longo do tempo. As amostras expostas a FrAq apresentaram baixíssima taxa de germinação, cessando ao longo do tempo do experimento (Figura 20).

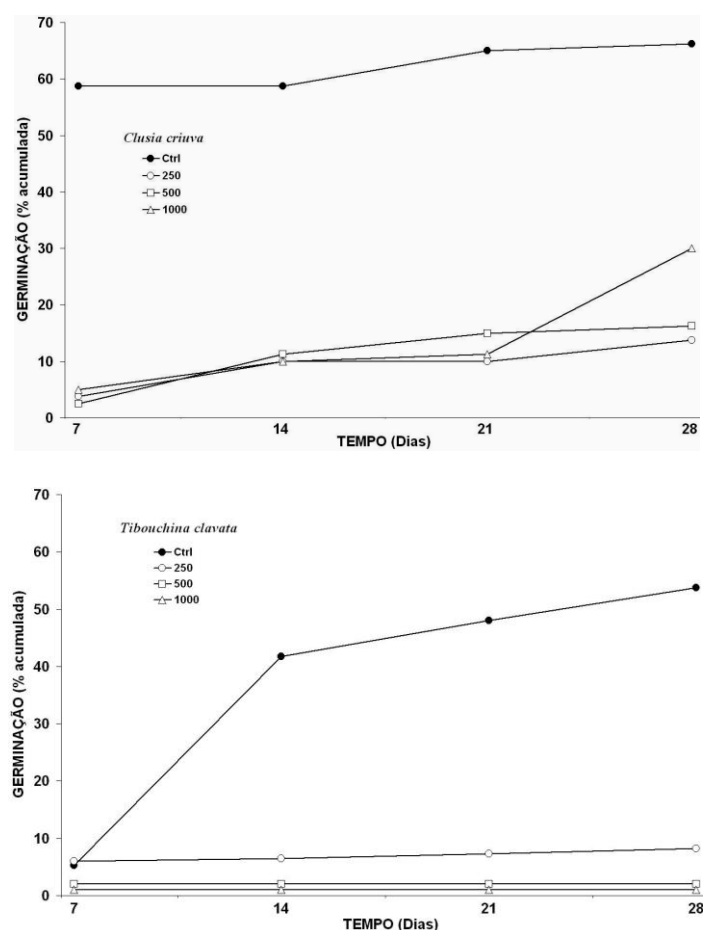


Figura 20: Variação temporal da frequência de germinação (% acumulada) de *Clusia criuva* e *Tibouchina clavata* expostas a diferentes concentrações de FrAq de *Terminalia catappa*.

3.5. Comprimento da radícula

O comprimento da radícula de *T. clavata* foi mais de quatro vezes maior no controle do que na concentração de 250 mgL⁻¹; nas outras categorias não ocorreu crescimento após a germinação (comprimento da radícula ≥ 2 mm). Em *C. criuva* ocorreu uma tendência de maior crescimento no controle e nas categorias com menor concentração (250 e 500 mgL⁻¹) da FrAq (Figura 21).

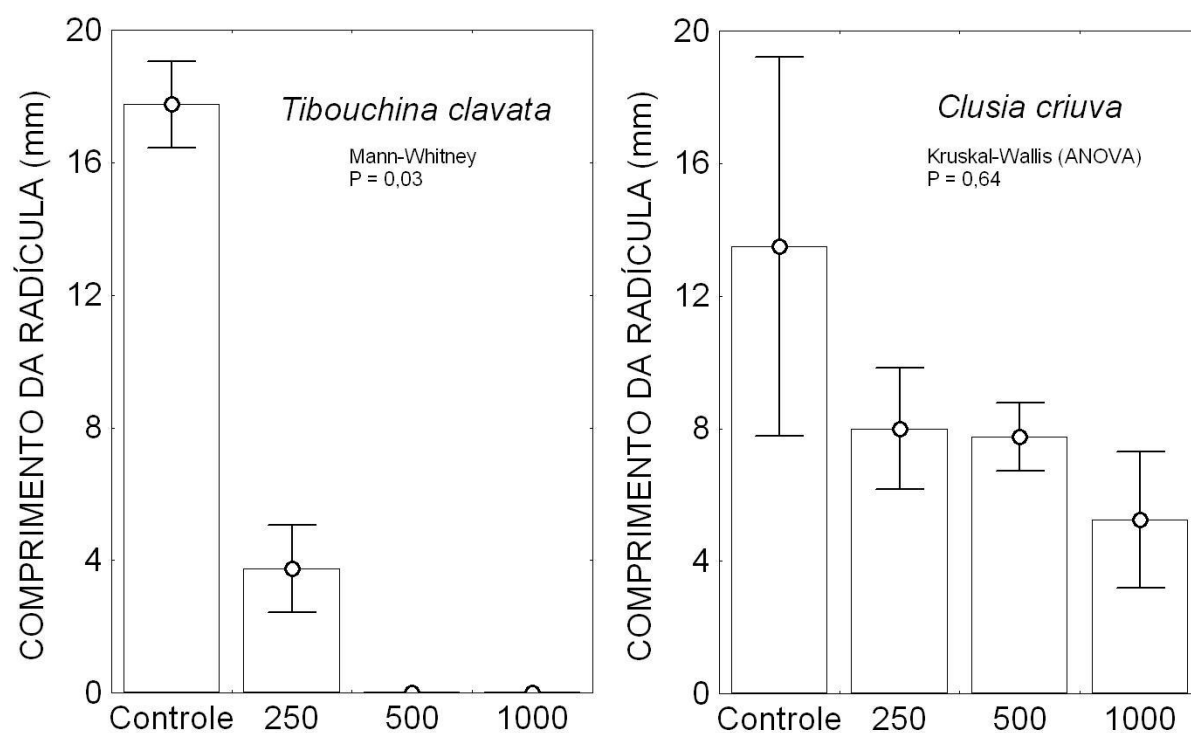


Figura 21 - Comparação do comprimento da radícula (mm) de *Tibouchina clavata* e *Clusia criuva* expostas a diferentes concentrações (250, 500 e 1000 mgL⁻¹) de FrAq de *Terminalia catappa*.

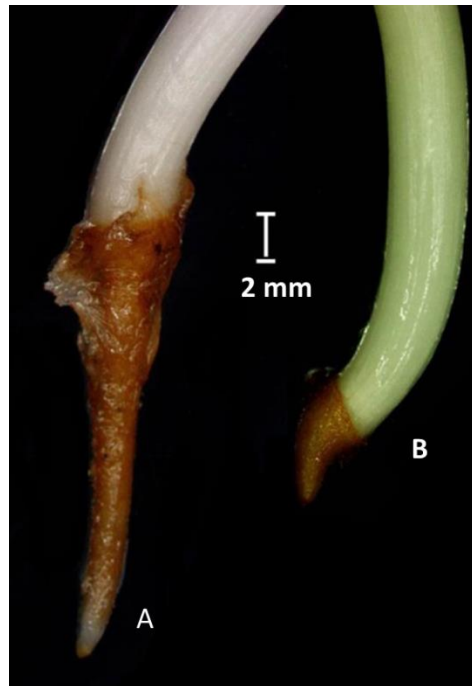


Figura 22: Emissão de radícula em semente de *Clusia criuva* após 14 dias de semeadura: A. Plântula germinada de semente do grupo-controle; B. Plântula germinada de semente exposta a FrAq em concentração de 1.000 mg L^{-1} .

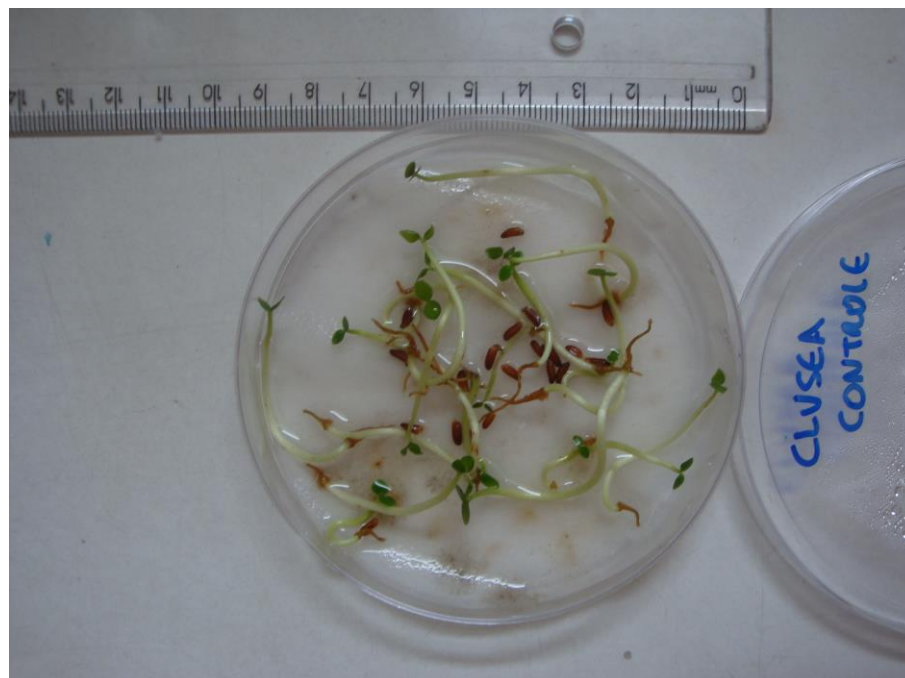


Figura 23: Placas com sementes germinadas de *Clusia criuva* em água destilada, livre do extrato.



Figura 24: Placas com sementes germinadas de *Clusia criuva* submetidas à FrAq a 1000mgL^{-1} .

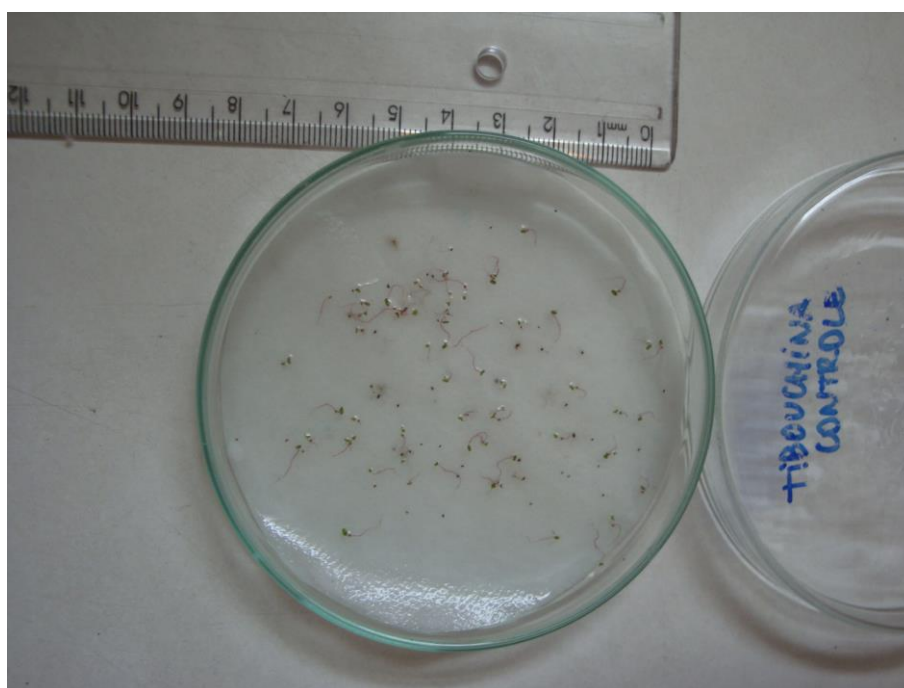


Figura 25: Exemplar de sementes de *Tibouchina clavata* germinadas com água destilada, livre do extrato.

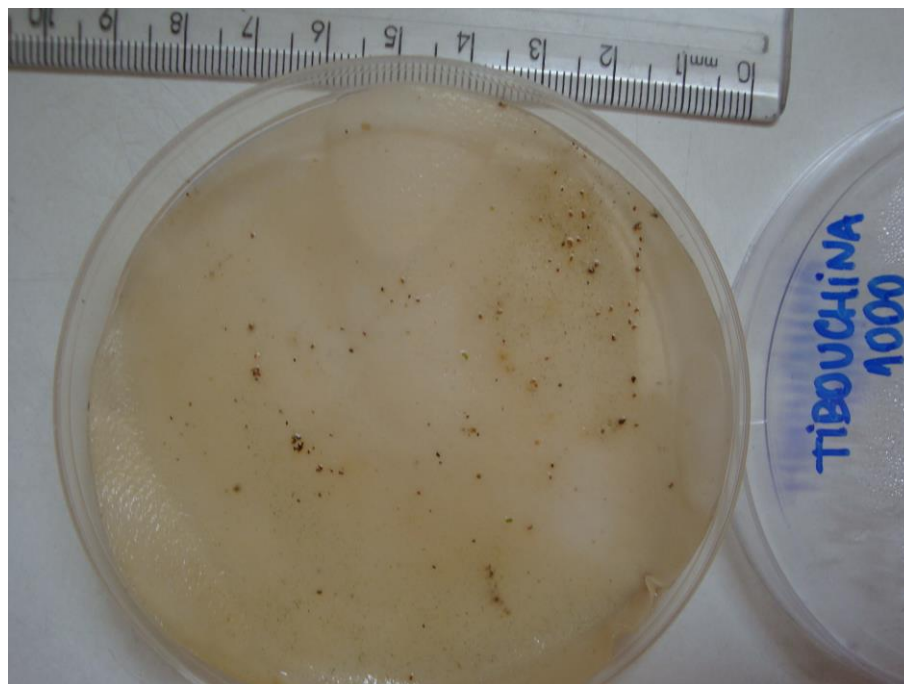


Figura 26: Sementes de *Tibouchina clavata* germinadas submetidas ao extrato a 1000mgL^{-1} .

4. Discussão

Dentre as diversas classes de metabólitos secundários produzidos pelas plantas, destacam-se no presente trabalho os Compostos Fenólicos. Estes pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático (Figura 27) unido a um grupo hidroxila (RANGARI, 2009).

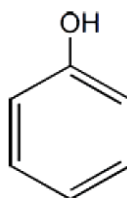


Figura 27: Estrutura química central de um composto fenólico

Em relação às variadas classes de compostos fenólicos, destacam-se no presente trabalho os taninos. Estes são compostos orgânicos amplamente distribuídos no reino vegetal. Segundo Ribéreau-Gayon (1972) os usos mais antigos do termo tanino eram relacionados à capacidade desses compostos de

promover curtimento de couro. É fato também que os Taninos são importantes componentes gustativos, sendo responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais (RANGARI, 2009).

Tradicionalmente os taninos são classificados segundo sua estrutura química em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis são caracterizados por um anel poliol central, geralmente β -D-glicose, cujas funções hidroxila são esterificadas com o ácido gálico (Figuras 28, 29), sendo deste modo chamados de Galhotaninos (SIMÕES *et al.*, 2008).

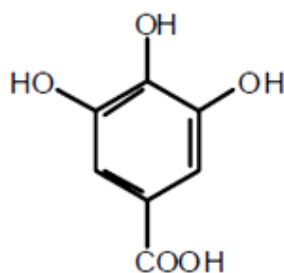


Figura 28: Ácido gálico.

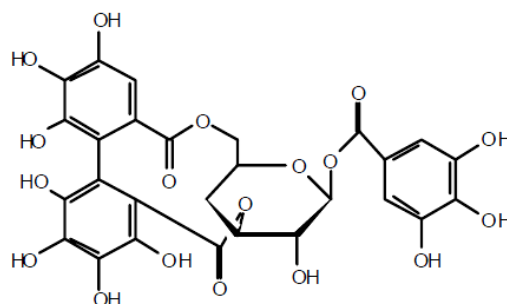


Figura 29: Estrutura química de um galhotanino.

A presença de ácido gálico detectada na fração aquosa de *T. catappa* foi uma importante constatação para que se fizessem os testes de germinação. De acordo com Rizvi & Rizvi (1992) os aleloquímicos podem afetar: 1- estruturas citológicas e ultraestruturais; 2- hormônios, tanto alterando suas concentrações

quanto o balanço entre os diferentes hormônios; 3- membranas e sua permeabilidade; 4- absorção de minerais; 5- movimento dos estômatos, síntese de pigmentos e fotossíntese; 6- respiração; 7- síntese de proteínas; 8- atividade enzimática; 9- relações hídricas e condução; 10- material genético, induzindo alterações no DNA e RNA.

Woodson (1983) caracterizou o ácido gálico como um metabólito secundário especial, de ocorrência ampla entre as plantas, o qual apresenta diversas atividades biológicas. A ação alelopática causada por ácido gálico tem sido relatada por vários autores (SOUZA *et al.*, 2006; SOUZA-FILHO *et al.*, 2006; CÂNDIDO *et al.* 2010; PESSANHA *et al.*, 2010; ZHAO-UI LI *et al.*, 2010).

Os resultados mostraram que, quanto à taxa de germinação das sementes, *T. clavata* sofreu maior efeito alelopático, mas mesmo *C. criuva* apresentou uma tendência para o mesmo padrão, indicando que *T. catappa* tem efeito alelopático sobre as duas espécies. Contudo, não foi registrada diferença estatística significativa entre as concentrações da FrAq, o que indica que mesmo na menor concentração, o efeito alelopático se manifesta.

A velocidade média de germinação (VMG) das sementes de *Clusia criuva* foi menor nas placas com FrAq de concentrações de 250 mgL⁻¹ e 500 mgL⁻¹ do que naquelas de controle. Já em *Tibouchina clavata*, a situação se inverteu: nas concentrações acima, a velocidade média de germinação foi maior. Isso poder evidenciar uma provável influência dos metabólitos secundários de *T. catappa* nesse fator, de acordo com as características fisiológicas de cada espécie. Tal indício deve ser investigado em trabalhos futuros.

Os resultados demonstram que a atividade alelopática inibitória causada por FrAq contendo o composto fenólico ácido gálico está associada, nos testes efetuados com sementes de *Tibouchina clavata*, à concentração da FrAq, com tendência geral positiva entre a intensidade de inibição e a concentração do ácido. Porém, os testes com sementes de *Clusia criuva* indicaram que o efeito alelopático independe da concentração de FrAq utilizada. (Tabela 3).

Em relação ao tempo médio de germinação de *C. criuva*, houve aumento sob a ação da FrAq; porém, o aumento em sua concentração não influenciou significativamente nesse tempo. Aparentemente, concentrações da FrAq de 250 mgL⁻¹ e 500 mgL⁻¹ provocam um retardamento na germinação da espécie enquanto que uma concentração de 1000 mgL⁻¹ reduz esse retardamento.

Nos testes feitos com *T. clavata*, concentrações maiores (500 mgL⁻¹ e 1000 mgL⁻¹) reduzem o tempo de germinação. No entanto, apesar do efeito aparentemente favorável no que tange ao tempo de germinação, a germinabilidade média das sementes foi reduzida de forma crescente, à medida que as concentrações do extrato foram aumentadas. A possível influência da FrAq de *T. catappa* na aceleração da germinação das sementes dessa espécie é outro fator a ser investigado em trabalhos futuros.

O crescimento da radícula foi mais afetado em *T. clavata*, ocorrendo apenas nas sementes das placas de controle e da categoria com menor concentração da FrAq (250 mgL⁻¹). Isso mostra que, mesmo na concentração mais baixa utilizada, alguns metabólitos secundários de *T. catappa* provocam inibição na germinação ou no crescimento da radícula das espécies estudadas. Pode-se inferir a necessidade de investigar se tal concentração ocorre na natureza.

Apesar destes resultados aparentemente elucidativos, foi registrada uma grande variação pelo Coeficiente de Variação (CV) o que pode indicar que quatro amostras por nível de tratamento são insuficientes para detectar efeitos mais significativos. Além disso, Cummings *et al.* (2012) afirmam que as espécies exóticas têm um importante papel na seleção das espécies que se regeneram e que estes estudos vão além de bioensaios de alelopatia; devendo-se incluir evidências de estudo de campo. De acordo como trabalho desses autores, a identificação e incorporação de espécies alelopáticas nativas em modelos de restauração pode ajudar a restauração pela supressão desproporcional de exóticas invasoras.

Este trabalho corrobora os resultados de Baratelli *et al.*, que comprovaram a atividade alelopática de folhas verdes e frutos maduros da *T. catappa* na inibição do crescimento de raízes de *Lactuca sativa* L. Os autores

também perceberam que alelopatia pode desempenhar um importante papel no sucesso da invasão por *T. catappa* em ambientes plantados (não nativos), mas assumiram que são necessários mais estudos para avaliar a significância dos aleloquímicos em espécies vizinhas que ocorrem na natureza com essa espécie.

Outras espécies de *Terminalia* também possuem potencial alelopático; no trabalho de Manikandan *et al.*, com folhas de *Terminalia chebula* Retz, foram encontrados os seguintes ácidos fenólicos: trans-ferúlico, hidroquinona, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido trans-cinâmico, ácido genético. Também comprovaram potencial alelopático inibitório em *Cassia occidentalis* L. e *Crotalaria retusa* L. Gulzar *et al.*, utilizaram concentrações de 2, 4, 6, 8 e 10% de extrato de *Terminalia arjuna* (Roxb. Ex DC.) Wight & Arn., que também tiveram efeito inibidor na germinação de sementes e no crescimento de plântulas de ervas daninhas, devido à presença de aleloquímicos na casca da árvore (taninos, cardenolóides, triterpenóides, saponinas, ácido elágico, oligomérico, proantocianidinas, fitoesteróis, cálcio, magnésio e zinco).

Assim sendo, a toxicidade pode ser atribuída ao efeito sinérgico e não a um único.

O efeito alelopático causado por *T. catappa* em ambiente de restinga é especialmente preocupante, já que se trata de um ecossistema bastante frágil, onde os fatores edáficos influenciam fortemente na fisionomia da vegetação. Pode-se lembrar de que Mitrovic *et al.* (2012) observaram que efeitos alelopáticos de compostos fenólicos em ambiente natural ou em gestão de ecossistemas, contribuem para o fracasso da regeneração das florestas, reduzem a germinação e restringem o desenvolvimento radicular prejudicando o equilíbrio da água e absorção de nutrientes.

Como notado no trabalho de Sanches (2009), o manejo com erradicação da *Terminalia catappa* nas Unidades de Conservação é desejável e necessário: a expansão de espécies invasoras contribui para a redução da biodiversidade e extinção de espécies nativas antes mesmo de serem descritas.

Alguns estudos do Instituto Hórus (2014), no Estado do Espírito Santo, no Brasil, indicaram que a cepa de *Terminalia catappa* rebrota após o corte. Este dado mostra que o desenvolvimento de pesquisas para total erradicação da espécie é inexistente e de extrema urgência.

A interação entre as espécies nativas que coexistem por um longo período possibilita a tolerância das toxinas, umas das outras, dessa forma as espécies invasoras seriam susceptíveis a supressão alelopática. No entanto, se as espécies invasoras têm toxinas, e a comunidade existente carece de resistência, o resultado pode ser a ruptura da comunidade vegetal existente (CALLAWAY & ASCHEHOUG, 2000; FITTER, 2003). Isso influencia diretamente na estrutura do banco de plântulas (que apresenta baixa densidade e pouca capacidade de regeneração) e diversidade florística.

Para gerir uma área é necessária a compreensão dos mecanismos alelopáticos da *Terminalia catappa* no campo, sob uma variedade de fatores ambientais, e como competição por recursos pode acentuar os efeitos da alelopatia.

5. Conclusão

Este trabalho demonstra que a presença de *T. catappa* em ambiente de restinga pode afetar negativamente o desenvolvimento de duas espécies nativas das fisionomias de Vegetação de Praia e Dunas e Escrube, e seus resultados devem servir de embasamento para ações de proteção e recuperação desses ambientes, especialmente em locais sob proteção do governo, como é o caso do Parque Estadual da Restinga de Bertioga. No entanto, maiores estudos são necessários, para que sejam traçadas as relações entre que o perfil químico completo da espécie e suas ações sobre outras espécies de restinga.

Para o manejo sugere-se o enriquecimento das espécies do banco de plântulas, retirada das mudas de *T. catappa* e a realização de uma poda regular nas árvores já estabelecidas, para aumento da penetração de luz e

diminuição da biomassa foliar (serrapilheira), além de manutenção e monitoramento regulares para evitar novas colonizações.

6. Referências

ALMEIDA, F.S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 26, n. 2, p. 221-236, 1991.

BAIS, H.P., VEPACHEDU, R., GILROY, S., CALLAWAY, R.M., VIVANCO, J.M. Allelopathy and Exotic Plant Invasion: from molecules and genes to species Interactions. **Science** v. 301: 1377-1380. 2003.

BARATELLI, T.G., GOMES, A.C.C., WESSJOHANN, L.A. SIMAS, N.K. Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). **Biochemical Systematics and ecology** v. 41, p. 119-125. 2012.

BERG, J.M.; STRYER, L.; TYMOCZKO, J. L. **Bioquímica**. Barcelona: Reverté, 2008. 1026p.

BILLINGS, W. D. **Plants, man and the ecosystem**. S. Diego: Wadsworth Publ. 1970.160 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BRITTON, J.R., COOP, G.H., BRAZIER, M., DAVIES, G.D. A modular assessment tool for managing introduced fishes according to risk of species and their populations, and impacts of management actions. **Biological Invasions** v. 13, p. 2847–2860. 2011. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10530-011-9967-0#page-1>. Acesso em: 12.nov.2013.

CALLAWAY, R.M., ACHEHOUG, E.T. Invasive plants versus their new and old neighbors: A mechanism for exotic invasion. **Science** v. 290, p. 521-523.

CÂNDIDO, A.C.S. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinoideae): bioensaios em laboratório. **Acta Botanica Brasilica** v. 24, n. 1, p. 235-242, 2010.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A; FERRIER, D. R., **Bioquímica Ilustrada**. 4. Porto Alegre: Artmed. 2008. 533p.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil). 1996. **Anexo da Resolução CONAMA 07/96, de 23 de julho de 1996**. Diário Oficial da União. Brasília. Publicado em 26.08.1996.

CORREIA, M.C.R., BENEVIDES, C.R. & LIMA, H.A. Dois casos de poliembrionia: *Clusia criuva* Cambess & *Clusia fluminensis* Pranch. & Triana. **Hoehnea** v. 28, n. 2, p. 321-324. 2011

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1970.

COSTA, M.A.A. **Influência da população da espécie exótica *T. Catappa* L. (Amendoeira) sobre espécies nativas numa área de Restinga, domínio tropical Atlântico, Salvador, Bahia**. Dissertação de mestrado do Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia. 49fl. 2010.

CROSBY, A. W. **Imperialismo ecológico: a expansão biológica da Europa, 900-1900**. São Paulo: Companhia das Letras, 1993. 319 p.

CUMMIGS, J.A., PARKER, I.M., GILBERT, G.S. Allelopathy: A Tool for weed management in a forest restoration. **Plant Ecology** v. 213, p. 1975-1989. 2012.

D'ANTONIO, C.M.; VITOUSEK, P.M. Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle, and global change. **Evolution and Systematics** v. 23, p. 63-87. 1992.

DA SILVA, L.P.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos nas atividades antiulcerogênica e cicatrizante do extrato etanólico obtido a partir das folhas de *Terminalia catappa* L. (COMBRETACEAE)**. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, SP, 2012. 89 f.

DECHOUM, M.S. Espécies exóticas invasoras: o contexto internacional e a construção de políticas e de estratégias nacionais. In: KUNTSCHIK, D.P. & M. EDUARTE, M. (Eds.). **Espécies Exóticas Invasoras. Cadernos da Mata Ciliar**, São Paulo, 2010, p. 4-11.

DORST, J. **Antes que a natureza morra: por uma ecologia política**. São Paulo: Edgard Blucher, Ed. da Universidade de São Paulo, 1973. 394 p.

ELTON, C. S. **The ecology of invasions by animals and plants**. London: Fletcher, 1958. 181 p.

ESPINOSA, R., BRAVO, L.R., HERRERA, L., RAMOS, Y., ESPINOSA, M. Efecto alelopático del almendra de la Índia (*Terminalia catappa* L.) sobre *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Revista Protección Vegetal** v. 27 n.3. 202-205. 2012.

FIDALGO, O. & BONONI, V.L.R. (Coords.). **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo, Instituto de Botânica. Manual n.4, 1984. 62p.

FITTER, A. Making Allelopathy Respectable. **Science** v. 301, p. 1337-1338. 2003.

GARCIA, A.A & CARRIL, E.P.U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal**. v. 2, n., p. 119-145, 2009.

GOBBO-NETO L.; LOPES N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova** v. 30, n.2, p. 374-381. 2007.

GULZAR, A. & SIDDIQUI, M.B. Evaluation for Allelopathic Impact for *Terminalia arjuna* (Roxb.) against *Cassia sophora*. **African Journal of Agricultural Research** v. 8, n. 39, p.4937-494. 2013.

HAIGH, M.J. Ruderal communities in English cities. **Urban Ecology** v.4, p. 329-338, 1980.

HUGHES, C.E. Risks of species introductions in tropical forestry. **Commonwealth Forestry Review** v. 73, n.4, p. 243-252, 1994.

HÓRUS, Instituto. Disponível em <www.institutohorus.org.br> Acesso em: 18 de março de 2014.

IUCN, INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES. 2000. **IUCN guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species**. 51st meeting of Council, February 2000.

JACOBSON, T.K.B, GARCIA, J., DA COSTA SANTOS, S., DUARTE, J.B., FARIAS, J.G. & KLIEMANN, H.J. Influência de fatores edáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de Barbatimão (*Stryphnodendron* sp.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n.3, p. 163-169. 2005.

KELLMAN, M. C. **Plant geography, the field of geography**. London: Methuen. 1975. 144 p.

KHALID, S., AHMAD, T. SHAD, R.A. Use of Allelopathy in Agriculture. **Asian Journal of Plant de Sciences**, v.1, n. 3, p. 292-297. 2002.

KUMSCHICK S., BACHER, S., DAWSON, W., HEIKKILÄ, J., SENDEK, A., PLUESS, T., ROBINSON, T.B., KÜHN, I. A conceptual framework for prioritization of invasive alien species for management according to their impact. **NeoBiota**, n. 15, p. 69–100, 2012. Disponível em: http://www.pensoft.net/J_FILES/9/articles/3323/3323-G-3-layout.pdf. Acesso em: 12.nov.2013.

KUTCHAN T.M. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. **Plant Physiology** n. 125, p. 58–60, 2001. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/132/3/1153.full.pdf+html>. Acesso em: 12.nov.2013.

LABORIAU, L.G.; VALADARES, M.E.B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait) Ait.f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 48, n. 2, p. 263-284. 1976.

MACIAS, F.A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J.M.G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 48, n. 6, p. 2512-2521, 2000.

MANICANDAN, M., REJULA, M. Identification of Allelochemicals from *Terminalia chebula*. **African Research Review** v. 2, n. 3, p. 306-314, 2008.

MARCHESARI, A.M.M.A insuficiência da Legislação Ambiental para enfrentar os danos e riscos causados pela invasão. In LEITE et al. (Eds.). **Biossegurança e novas tecnologias na sociedade de risco: aspectos jurídicos, técnicos e sociais: Lei de Biossegurança (Lei No. 11,105/2005)**. Florianópolis: Conceito editorial, 2007, p. 213.

MARTINS, S.E., ROSSI, L., SAMPAIO, P.D.S.P. & MAGENTA, M.A.G. Caracterização florística de Comunidades Vegetais de restinga em Bertioga, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** v. 22, n. 1, p. 249-274. 2008.

MARZZOCO, A. e TORRES, B. B; **Bioquímica Básica**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 736p.

MATTHEWS, S. **América do Sul invadida: a crescente ameaça das espécies exóticas invasoras**. Nairobi, Secretaria do Programa Global de Espécies Invasoras, 2005.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul** v.1, p. 27-32, 1990.

MITROVIC, M., JARIC, S., DJURDJEVIC, L., KARADZIC, B., GARJIC, G., KOSTIC, O., OBERAN, L.J., PAVLOVIC, D, PAVLOVIC, M., PAVLOVIC, P. Allelopathic and Environmental implications of plant phenolic compounds. **Allelopathy journal** v. 29, n. 2, p. 177-198. 2012.

MOLISH, H. **Der einfluss einer pflanze auf die andere-allelopathie**. Jena_Fischer, Berlin [s.n]. 1937.

MONTEIRO J.M.; de ALBUQUERQUE U.P.; ARAUJO, E.L.; de AMORIM, E.L.C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova** v. 28, n.5, p. 892-896. 2005.

MOONEY, H.A.; CLELAND, E.E. The evolutionary impact of invasive species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 10, p. 5446-5451. 2001.

MOURA, C., CAMARGO, T.C.C. NOVAES, L.L., MAGENTA, M.A.G & PASTORE, J.A. Espécies exóticas ocorrentes na restinga da Barra do Una,

Estação Ecológica Juréia-Itatins (AP 106) *In: VIII Convención Internacional sobre Medio Ambiente y Desarrollo*, 2011, Havana, Cuba. **VII Congreso de Áreas protegidas**. v. 1, p. 1–10. 2011.

OCCHIPINTI-AMBROGI, A. Global change and marine communities: Alien species and climate change. **Marine Pollution Bulletin**. v. 55: 342–352. 2007.

OLIVEIRA, L.G.A.; Duque, F.F.; Belinelo, V.J.; Schmildt, E.R.; de Almeida, M.S. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum cernuum* Vell. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 538-543. 2013.

PESSANHA, A.C., SANTOS, L.M., FREITAS, S., HUZIWARA, E. **Efeito alelopático de extrato de *Schinus terebenthifolius* em *Brachiaria decumbens***. *In: XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS*. Ribeirão Preto – SP. Centro de Convenções, 2010. p. 488-492.

PICCINELLI, A.L., DE SIMONE, F., PASSI, S., RASTRELLI, L. Phenolic constituents and antioxidant activity of *Wendita calysina* leaves (burrito), a folk Paraguayan tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 52, p. 5863-5868. 2004.

PLUESS T., CANNON, R., JAROSÍK, V., PERGL, J. PYSEK, P. & BACHER, S. When are eradication campaigns successful? A test of common assumptions. **Biological Invasions** n. 14, p. 1365–1378. 2012a. Disponível em: <http://web.natur.cuni.cz/ekologie/jarosik/cze/pdf/D99.pdf>. Acesso em: 12.nov.2013.

PLUESS, T., JAROSÍK, V., PYSEK, P., CANNON, R., PERGL, J., BREUKERS, A., BACHER, S. Which factors affect the success or failure of eradication campaigns against alien species? **PLOS One**, n. 7, v.10. 2012b: Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3482215/>. Acesso em: 12.nov.2013.

POORTER, M. de; ZILLER, S.R. Biological contamination in protected areas: the need to act and turn the tide of invasive alien species. *In: MILANO, M.S; TAKAHASHI, L.Y.; NUNES, M. DE L. (org.). Unidades de Conservação: Atualidades e Tendências 2004*. Curitiba: Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, 2004. p. 118-131.

PRISTA, L. N. **Tecnologia farmacêutica**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.3 v.

PRUDENTE, C.M., SADER, R., BARBOSA, J.M. & SANTOS JUNIOR, N.A. Produção de sementes e comportamento germinativo de *Tibouchina clavata* (Pers.) Wurdack. (Melastomataceae). **Scientia Florestalis** v. 40, n. 94, p. 241-248. 2012.

RANDALL, J. M. Weed control for the preservation of biological diversity. **Weed technology** v. 10, p. 370-383. 1996.

RANGARI, Vinod D. **Pharmacognosy & Phytochemistry**: Career Publications, 2009.

RAPOPORT, E. H. The distribution of plant diseases: a look into the biogeography of the future. **Journal of Biogeography** v.3, p. 365-372. 1976.

RIBÉREAU-GAYON, P. Plant Phenolics. Edinburg: Oliver & Boyd, 1972.

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

RIZVI, S.J.H. & RIZVI. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In: RIZVI, S.J.H. & RIZVI, H. (Eds.) **Allelopathy: Basic and applied aspects**. London, Chapman & Hall, 1992. p. 443-472.

ROJAS, E.G.; MAGENTA, M.A.G.; TOMA, W. Investigação de compostos fenólicos com possível potencial alelopático de folhas de uma árvore invasora de restinga (*Terminalia catappa* L.). **UNISANTA BioScience**, n. 1, v. 2, p. 60 – 64. 2012.

SANCHES, J.H. **Potencial invasor do Chapéu do Sol (*Terminalia catappa* L.) em área de restinga**. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2009.

SANCHES, J.H.; MAGRO, T.C.; SILVA, D.F. **Distribuição espacial da *Terminalia catappa* L. em área de restinga no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba/SP**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO. Florianópolis. Anais... São José dos Campos: INPE, 2007. v. 13, p. 1831-1838, 2007.

SANTOS, S. B.; PEDRALLI, G. e MEYER, S. T. Aspectos da fenologia e ecologia de *Hedygium coronarium* (Zingiberaceae) na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto – MG. **Planta Daninha**, v.23, n.2, p.175-180. 2005.

SENTELHAS, P.C., PEREIRA, A.R., MARIN, F.R., ANGELOCCI, L.R., ALFONSI, R.R., CARAMORI, P.H. & SWART, S. **Balances hídricos climatológicos do Brasil – 500 balances hídricos de localidades brasileiras**. <http://www.bdcclima.cnpm.embrapa.br/resultados/balanco.php?UF=sp&COD=450>. 1999. Acesso em: 08.Out.2013.

SETZER, J. **Atlas Climático e Ecológico do Estado de São Paulo**. Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguai e centrais elétricas do estado de São Paulo. 1966.

SHINE, C. NATTLEY, W. & BURHENNE-GUILMIN, F. Legal and institutional frameworks for invasive alien species. In: MOONEY, A. H. et al. (eds.).

Invasive alien species: a new synthesis. Scientific Committee on Problems of the Environment Series – n 63. USA, Island Press. 2005.

SIMBERLOFF, D, We can eliminate invasions or live with them. Succesful management projects. **Biological Invasions** n. 11, v. 1, p 149-157. 2009.

SILVA, I.X., MORAES, R.P., SANTOS, R.P., POMPEIA, S.L. & MARTINS, S.E. **A degradação dos ecossistemas da Baixada Santista, São Paulo.** In: Anais do III Simpósio de ecossistemas da costa brasileira: subsídio a um gerenciamento ambiental. Serra Negra. São Paulo, ACIESP, v. 3, p. 129-140. 1993.

SIMÕES, C.C; ARAÚJO, D.B; ARAÚJO R.P.C. Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 18, p. 84-89. 2008.

SOUZA, C.D.G., BENDAZOLI, A., SUGIYAMA, M., LOPES, E.A. & KIRIZAWA, M. **A relação entre o meio físico e a biota no estudo da "restinga" do Estado de São Paulo.** pp. 367-372. In: RESUMOS EXPANDIDOS DO VI CONGRESSO DA ABEQUA E REUNIÃO SOBRE O QUATERNÁRIO DA AMÉRICA DO SUL. Curitiba, ABEQUA. 1997.

SOUZA FILHO, A.P.D.S., SANTOS, R.A.D., SANTOS, L.D.S., GUILHON, G.M.P., SANTOS, A.S., ARRUDA, M.S.P., MULLER, A.H. & ARRUDA, A.C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta daninha** v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-83582006000400005&lng=pt&nrm=iso>. ISSN 01008358. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582006000400005>. Acesso em 01.out. 2013.

TIVY, J. **Biogeography: a study of plants in the ecosphere.** London: Longman. 1993. 452 p.

THOMPSON, L.A.J., & EVANS, B. 2006. *Terminalia catappa* (tropical almond). In: Elevitch, C.R. (Ed.). **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.** Holualoa, Hawaii: Permanent Agriculture Resources (PAR). 2006. Disponível em: <<http://www.agroforestry.net/tti/T.catappa-tropical-almond.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2012.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor de sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.

VOLTOLINI, J.C. & ZANCO, L. Densidade de plântulas e jovens de espécies nativas de Floresta Atlântica em áreas com e sem o pinheiro americano (*Pinus*

elliottii). **Revista Biociências UNITAU** 16 (2): 102-108. 2010. Disponível em:<periodicos.unitau.br>. Acesso em: 19 mai. 2011.

WOODSON, L.C. Thiopurine methyltransferase. Aromatic thiol substrates and inhibition by benzoic acid derivatives. **Molecular Pharmacology** n. 24, v. 3, p. 471-478. 1983.

WU, X., BEECHER, G.R., HOLDEN, J.M., HAYTOWITZ, D.B., GEBHARDT, S.E., PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 52, p. 4026-4037. 2004.

LI, Z.H., WANG, Q., RUAN, X., PAN, C.D., JIANG, D.A. Phenolics and Plant Allelopathy. **Molecules** v. 15, p. 8933-8952. 2010.

ZILLER, S.R. 2001. Os processos de degradação ambiental originados por plantas exóticas invasoras. **Revista Ciência Hoje**, São Paulo, n. 178, dez. 2001. Disponível em: <<http://www.institutohorus.org.br/download/artigos/Ciencia%20Hoje.pdf>>. Acesso: 10 mai. 2012.

APÊNDICE – Registro fotográfico



Foto 1: parte frontal do Escrube na praia de Itaguapé, Bertioga, SP.



Foto 2: Dunas alcançando o curso do rio Itaguapé, que desagua na praia de Itaguapé, Bertioga, SP.



Foto 3: Exemplar de *Terminalia cattapa* L. (extraída de: <http://luirig.altervista.org/naturaitaliana/viewpics2.php?rcn=51492>)



Foto 4: Visão da parte direita do ponto de coleta da restinga da Praia de Itaguapé - Bertioga – SP.



Foto 5: Visão da parte esquerda do ponto de coleta na restinga da Praia de Itaguapé - Bertioga – SP.



Foto 6: Exemplo de vegetação rasteira característica da Vegetação de Praia e Dunas da restinga da praia de Itaguapé – Bertioga - SP.

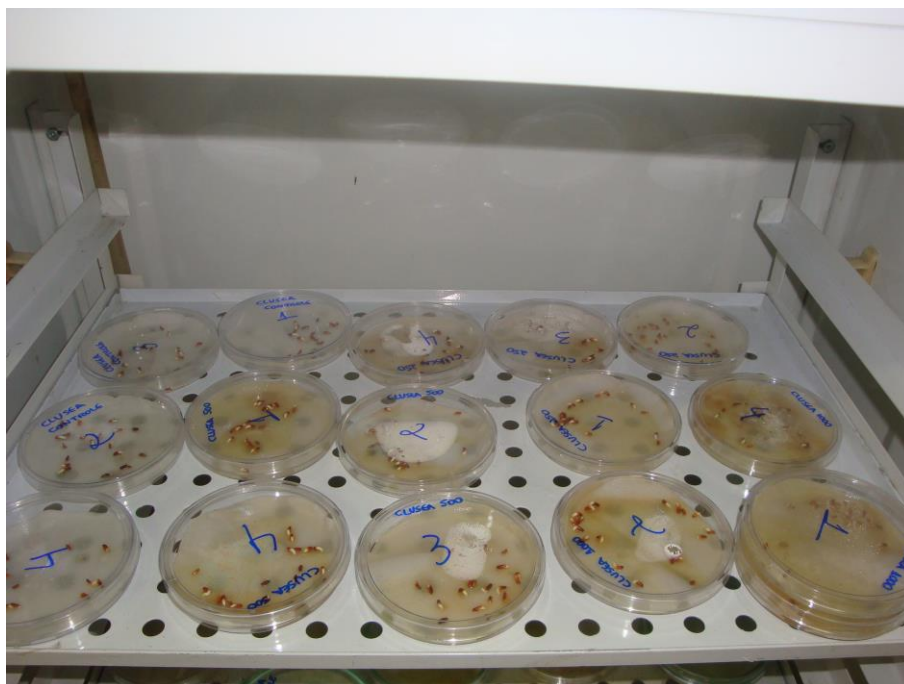


Foto 7: Placas de Petri com sementes de *Clusia criuva* alocadas na Câmara de germinação.



Foto 8: Início da germinação de *Clusia criuva*.



Foto 9: Medição final do maior exemplar de *Clusia criuva*.