

**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA**  
**PRÓ-REITORIA DE POS-GRADUAÇÃO E PESQUISA- PRPGP**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA - DQB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR**

**ALISON HONORIO DE OLIVEIRA**

*Ficus gomelleira* Kunth (Moraceae) e *Clusia nemorosa* G. Mey. (Clusiaceae):  
**ECOFISIOLOGIA, ATIVIDADE MICROBIOLOGICA E PROSPECÇÃO**  
**FITOQUÍMICA**

**CRATO-CE**

**2013**

**ALISON HONORIO DE OLIVEIRA**

***Ficus gomelleira* Kunth (Moraceae) e *Clusia nemorosa* G. Mey. (Clusiaceae):  
ECOFISIOLOGIA, ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E PROSPECÇÃO  
FITOQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Bioprospecção Molecular.

**Orientadora:** Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva

**CRATO-CE**

**2013**

**ALISON HONORIO DE OLIVEIRA**

***Ficus gomelleira* Kunth (Moraceae) e *Clusia nemorosa* G. Mey. (Clusiaceae):  
ECOFISIOLOGIA, ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E PROSPECÇÃO  
FITOQUÍMICA**

Dissertação submetida e aprovada pela Banca Examinadora em -----/-----/-----

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva  
Universidade Regional do Cariri-URCA  
(Orientadora)

---

Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola  
Universidade Federal do Ceará-UFC  
(Membro Avaliador)

---

Dr. José Galberto Martins da Costa  
Universidade Regional do Cariri-URCA  
(Membro Avaliador)

Dedico este trabalho a minha família,  
a qual vem buscando construir à custa  
dos estudos e da dedicação as ciência.  
Ciência nas atitudes, de nos levar a  
um futuro promissor.

## AGRADECIMENTOS

Ao Mestre Superior “**DEUS**” que nos inspira a todos os instantes, é a força que nos ilumina e dá o discernimento, orienta agora e sempre mesmos aqueles que não fazem por onde merecer.

A minha família, em especial a minha companheira **AMANDA OLIVEIRA ANDRADE**, colega de curso de graduação e instrumento de lapidação moral assim como a nossa filha **SERENA OLIVEIRA ANDRADE**, a fonte que irradia a motivação a coragem para cumprir os nossos deveres.

A **Professora Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva**, por confiar a minha pessoa esta pesquisa. Pessoa, como diz o próprio nome, que além de orientar é uma conselheira educacional.

**Aos amigos do Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima - HCDAL** em especial ao Francisco Jardel Pereira Fernandes por ter me ajudado nos experimentos dessa dissertação.

**Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais - LPPN na pessoa do Professor Dr. José Galberto Martins da Costa** e a toda sua equipe de alunos de iniciação científica pelas contribuições nos experimentos de prospecção fitoquímica dessa dissertação.

**Ao Professor Dr. Henrique Douglas de Melo Coutinho** e a sua equipe, por ter dado a oportunidade de realizar os teste microbiologicos no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - LMBM, aos seus orientandos **Saulo Relison Tintino** e a **Maria Audilene de Freitas**, pessoas de boa fé e disponibilidade.

**Ao Professor Dr. João Marcelo Alvarenga Braga do Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro** pelas identificações e confirmações das espécies.

**A Universidade Regional do Cariri - URCA** pelo espaço cedido e por ter me acolhido como aluno do programa de pos-graduação.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Distribuição geográfica de <i>Ficus</i> L.....	15
<b>Figura 2-</b> <i>Ficus gomelleira</i> Kunth, próximo à fonte do Rio Granjeiro, Crato-Ceará.....	17
<b>Figura 3-</b> Distribuição geográfica de <i>Clusia</i> L.....	18
<b>Figura 4-</b> Frutos de <i>Clusia nemorosa</i> G. Mey. em ambiente de Mata úmida. Mirante da coruja, Crato- CE, 2011.....	20
<b>Figura 5-</b> Fatores que podem influenciar na síntese e no acúmulo de metabólitos secundários em vegetais. ....	24
<b>Figura 6-</b> Principais vias de atuação dos aleloquímicos no mecanismo fisiológico vegetal. Destacando a interferência na divisão celular.....	26
<b>Figura 7-</b> Delimitação da FLONA Araripe (linha amarela) e da APA (linha vermelha). ....	29
<b>Figura 8-</b> Porcentagem de germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações do Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> .....	39
<b>Figura 9-</b> Porcentagem de sementes de <i>Lactuca sativa</i> germinadas, submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> em diferentes concentrações. ....	40
<b>Figura 10-</b> Índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> em diferentes concentrações .....	41
<b>Figura 11-</b> Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> .....	42
<b>Figura 12-</b> Comprimento do caulículo e da radícula de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> em diferentes concentrações .....	43
<b>Figura 13-</b> Comprimento do caulículo e da radícula das plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> em diferentes concentrações .....	43

- Figura 14-** Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa*, submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações.....46
- Figura 15-** Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações ..... 47
- Figura 16-** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações ..... 48
- Figura 17-** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações ..... 48
- Figura 18-** Comprimento do Caulículo e da Radícula de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Clusia nemorosa*..... 49
- Figura 19-** Comprimento do Caulículo e da Radícula de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Etanólicos Bruto (EEB) das folhas de *Clusia nemorosa*..... 50
- Figura 20-** Brotamento e queda foliar de *Ficus gomelleira* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de encosta da Chapada do Araripe, Crato-CE..... 58
- Figura 21-** Precipitação média mensal das chuvas no posto Belmonte, Crato-CE ..... 58
- Figura 22-** Período de floração e frutificação de *Ficus gomelleira* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de encosta da Chapada do Araripe, Crato-CE ..... 59
- Figura 23-** Período de floração de *Clusia nemorosa* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de mata úmida da Chapada do Araripe, Crato-CE.....61
- Figura 24-** Frutificação de *Clusia nemorosa* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de mata úmida da Chapada do Araripe, Crato-CE. .... 61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Massa da matéria fresca e seca em gramas e o volume de água a ser adicionado para elaboração do Extrato Aquoso Bruto (EBA) utilizado nos ensaios alelopáticos.....	31
<b>Tabela 2-</b> Massa seca das folhas e do extrato e o seu rendimento, expressos em gramas e porcentagens, respectivamente. ....	31
<b>Tabela 3-</b> Linhagens de bactérias (padrões e isolados clínicos) e fungos utilizados nos ensaios antibacterianos e antifúngicos. ....	34
<b>Tabela 4-</b> Fonte bacteriana, utilizados na atividade moduladora e suas resistências antibióticas. ....	34
<b>Tabela 5-</b> Indivíduos que foram marcados para observação fenológicas nas áreas de estudo com seus respectivos pontos de localização e altitude. ....	37
<b>Tabela 6-</b> Potencial Hidrogeniônico (pH) do extrato de <i>Ficus gomelleira</i> com valores de correção. ....	44
<b>Tabela 7-</b> Efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos e etanólico de folhas frescas de <i>Ficus gomelleira</i> Kunth Bouché sobre a porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento radicular e da parte aérea de plântulas de alface. ....	45
<b>Tabela 8-</b> Potencial Hidrogeniônico (pH) dos extrato aquosos e etanólicos de <i>Clusia nemorosa</i> , com valores de correção. ....	51
<b>Tabela 9-</b> Efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos e etanólico de folhas frescas de <i>Clusia nemorosa</i> G. Mey. sobre a porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento radicular e da parte aérea de de plantulas de alface.....	52
<b>Tabela 10-</b> Classe de metabólitos secundários identificados no extrato etanólico de folhas de <i>Ficus gomelleira</i> . ....	53
<b>Tabela 11-</b> Extrato etanólico das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> em concentração subinibitória (MIC/8 µg/mL), modulando a atividade antibacteriana com aminoglicosídeos.....	54
<b>Tabela 12-</b> Extrato etanólico das folhas de <i>Clusia nemorosa</i> (µg/ mL) modulando a atividade antibacteriana de aminoglicosídeos. ....	56

<b>Tabela 13-</b> Classe de metabólitos secundários identificados no extrato etanólico de folhas de <i>Clusia nemorosa</i> .....	56
--	----

## RESUMO

Nesta pesquisa foram abordadas as atividades alelopáticas, testes antibacterianos e antifúngicos e moduladores dos extratos das folhas de *Ficus gomelleira* Kunth (Gameleira) e *Clusia nemorosa* G. Mey. (Gameleira) bem como as observações fenológicas e a prospecção fotoquímica das mesmas. Para os bioensaios alelopáticos foi utilizada como espécie receptora *Lactuca sativa* L. (alface). Os tratamentos relativos foram relacionados as diluições dos extratos. O extrato aquoso (EBA) de folhas frescas de ambas as espécies foram diluídas em quatro concentrações (25, 50, 75, 100%) e o extrato etanólico (EEB) em cinco concentrações (6,25; 12,5; 25; 50 e 100%). O extrato etanólico obtido de folhas frescas por extração exaustiva a frio foi utilizado também para análise dos compostos químicos e atividade microbiológica. Para avaliação da atividade antibacteriana, antifúngica e moduladora foram utilizadas cepas padrões e isolados clínicos, testados pelo método de microdiluição em caldo com 96 poços. De agosto de 2011 a novembro de 2013 foram marcados dez indivíduos de cada espécie em estudo em uma área de Mata úmida na Chapada do Araripe 07°15'S, 39°28'W para as observações fenológicas. Os resultados obtidos indicaram que os extratos de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa*, influenciaram de forma negativa o percentual de germinação. O índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de alface também foi alterado de forma negativa; assim como o desenvolvimento dos caulículos e radículas de alface, que também apresentaram uma redução no comprimento. Os testes microbiológicos indicaram que não houve inibição em todas as cepas testadas, com concentração inibitória mínima (CIM) superior a 1024µg/mL; já nas atividades moduladoras, os extratos modularam sinergicamente, de forma considerável, os grupos de bactérias multirresistentes Gram positivas e Gram negativas. Em relação à fenologia, o brotamento foliar em *Ficus gomelleira* ocorreu de forma asincrônica por períodos relativamente curtos nos dois anos de observações, independente do padrão de precipitação de chuva. A ocorrência dos frutos foi observada durante todo o ano com, mais intensidade no período de estiagem nos meses de julho a outubro. *Clusia nemorosa* revelou-se uma espécie perenifólia e a ocorrência de flores e frutos foi contínua durante todo o período de observação, sendo por isso considerada uma espécie chave para a manutenção da fauna. Os metabólitos presentes no extrato etanólico de *Ficus gomelleira* e *Clusia nemorosa* foram compostos fenólicos flavonóides, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononois, catequinas e flavononas. As espécies demonstraram possuir potenciais alelopáticos e microbiológicos relevantes.

**Palavras-Chave:** Bioatividade, Chapada do Araripe, Clusiaceae, Moraceae.

## ABSTRACT

In this research were approached allelopathic activities, antibacterial and antifungal tests and modulators of the extracts of the leaves of *Ficus gomelleira* Kunth & C.D.B (Gamelleira) and *Clusia nemorosa* G. Mey. (Gamelleira) as well as the phenological observations and the photochemical prospection of the same ones. For allelopathic bioassays it was used as receptor species *Lactuca sativa* L. (Lettuce). The relative treatments were related to dilutions of the extracts. The aqueous extract (EBA) of fresh leaves of both species diluted in four concentrations (25, 50, 75, 100%) and the ethanol extract (EEB) in five concentrations (6.25, 12.5, 25, 50 and 100 %). The extract obtained from fresh leaves by cold exhaustive extraction was also used for analysis of chemical and microbiological activity. For evaluation of antibacterial, antifungal and modulator activity, it was used standard strains and clinical isolates tested by the broth microdilution method with 96 wells. And for phenological observations were marked ten individuals of each species under study in a damp forest area in the Plateau of Araripe 07°15'S, 39°28'W. The results obtained proved that the extracts of *Ficus gomelleira* and *Clusia nemorosa* influenced negatively the germination percentage. The germination speed index (GSI) of lettuce seeds was also altered in a negative way. As well as the development of lettuce seedlings with stem and root showing a reduction in length. The microbiological tests showed that there was no inhibition in all tested strains, with minimum inhibitory concentration (MIC) greater than 1024µg/mL, but in the modulator activities the extracts modulated synergistically, to a considerable extent, the groups of multiresistant bacteria Gram positive and Gram negative. In relation to the budding leaf phenology in *Ficus gomelleira*, occurred in an asynchronous way for relatively short periods in the two years of observations, regardless of the pattern of the rainfall. The occurrence of fruits was observed throughout the whole year with more intensity in the dry season. *Clusia nemorosa* proved itself as an evergreen species and the occurrence of flowers and fruits was continuous, being considered by that a key species for the maintenance of wildlife. The metabolites present in the ethanol extract of *Ficus gomelleira* and *Clusia nemorosa* were, phenolic flavonoids, flavones, flavonols, xanthones, flavononois, catechins and flavanones. The species have demonstrated to possess relevant allelopathic and microbiological potential.

**Keywords:** The Plateau of Araripe, Clusiaceae, Moraceae, Bioactive.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	4
LISTA DE FIGURAS .....	5
LISTA DE TABELAS .....	7
<b>RESUMO</b> .....	9
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.2 ESPÉCIES BOTÂNICAS EM ESTUDO .....	15
2.2.1 O Gênero <i>Ficus</i> .....	15
2.2.2 Descrição e distribuição de <i>Ficus gomelleira</i> Kunth .....	16
2.2.3 O gênero <i>Clusia</i> L. ....	17
2.2.4 Descrição e distribuição de <i>Clusia nemorosa</i> G. Mey. ....	19
2.3 Produtos Naturais.....	20
2.4 Alelopatia e a natureza dos aleloquímicos.....	21
Fatores que influenciam a produção de metabólitos secundários e consequentemente alguns aleloquímicos.....	22
Aspectos fenológicos.....	24
Ação dos aleloquímicos.....	25
Divisão celular e índice mitótico.....	26
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
3.1 Área de estudo .....	28
3.2 Coleta do material botânico .....	29
3.3 Bioensaios Alelopáticos.....	30
Obtenção do Extrato Aquoso Bruto de <i>Ficus gomelleira</i> e de <i>Clusia nemorosa</i> .....	30
Obtenção do Extrato Etanólico Bruto de <i>Ficus gomelleira</i> e de <i>Clusia nemorosa</i> .....	31
3.4 Parâmetros avaliados .....	32
Germinação e índice de velocidade de germinação .....	32
Biometria do cálculo e radícula.....	33
3.5 Microrganismos .....	33
Drogas utilizadas nos testes microbiológicos.....	35
Concentração Inibitória Mínima - CIM.....	35

Ensaios da Atividade Moduladora de Antibióticos e Antifúngicos .....	36
3.6 Prospecções dos Metabólitos Secundários.....	36
3.7 Estudos fenológico.....	36
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
4.1 Efeito do extrato aquoso e etanólico de folhas de <i>Ficus gomelleira</i> na germinação e desenvolvimento de <i>Lactuca sativa</i> .....	39
Porcentagem de Germinação .....	39
Índice de velocidade de germinação (IVG).....	40
Comprimento do caulículo e radícula.....	42
Potencial hidrogeniônico dos extratos aquosos e etanólicos de <i>Ficus gomelleira</i> Kunth.....	44
4.2. Efeito do extrato aquoso e etanólico das folhas de <i>Clusia nemorosa</i> sobre a germinação e desenvolvimento de <i>Lactuca sativa</i> .....	46
Porcentagem de Germinação .....	46
Índice de velocidade de germinação (IVG).....	47
Comprimento do caulículo e radícula.....	49
Potencial hidrogeniônico dos extratos aquosos e etanólicos de <i>Clusia nemorosa</i> .....	50
4.3 Atividade moduladora e prospecção química do extrato etanólico das folhas de <i>Ficus gomelleira</i> Kunth .....	53
4.3.1 Atividade moduladora e prospecção química do extrato etanólico das folhas de <i>Clusia nemorosa</i> G. Mey.....	55
4.4 Aspectos fenológicos de <i>Ficus gomelleira</i> .....	57
4.4.1 Aspectos Fenológicos de <i>Clusia nemorosa</i> .....	60
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A natureza produz a maioria das substâncias orgânicas. Dentre os diversos reinos, o vegetal contribui para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes importantes por suas aplicações como medicamento, cosméticos, alimentos e agroquímicos (PHILLIPSON; ANDERSON, 1998).

As plantas são responsáveis pela síntese orgânica de diversos compostos (MONTANARI; BOLZANI, 2001). Nos últimos anos, tem sido comprovado que as plantas produzem substâncias químicas com propriedades antimicrobianas, como cumarinas, flavonóides, terpenóides, alcalóides, taninos. Muitas destas responsáveis por fenômenos que asseguram a ocorrência e dominância de uma espécie sobre as outras como a competição e alelopatia (COWAN, 1999).

A alelopatia envolve uma cadeia complexa de comunicações químicas entre as plantas (INDERJIT; DAKSHINI, 1995) e é um importante mediador da dinâmica populacional, determinando o padrão e a densidade da vegetação, em sistemas naturais e cultivados (SOUZA FILHO et al., 2006). A Sociedade Internacional de Alelopatia define esta interação como vários processos envolvendo a produção de metabólitos secundários em plantas, algas, bactérias e vírus, que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas (GNIAZDOWSKA; BOGATEK, 2005).

Os efeitos alelopáticos são sempre mediados por substâncias pertencentes a diferentes classes de metabólitos secundários, tais como fenóis, derivados dos ácidos cinâmico e benzóico, alcalóides, cumarinas, flavonóides, poliacetilenos, taninos e terpenos, sendo difícil identificar o principal responsável pela atividade alelopática. (INDERJIT; DAKSHINI, 1995). As fitoalexinas segundo Simas et al. (2004) correspondem as inúmeras substâncias que se acumulam nos vegetais para defesa contra microrganismos, sendo responsáveis pela inibição da germinação e o desenvolvimento de plantas.

Os metabólitos secundários atuam de fagorepelentes a fitoalexinas. Os fagorepelentes são conhecidos pelas propriedades inseticidas. O incentivo às investigações sobre interações plantas/insetos nas últimas décadas desvenda o uso potencial dos metabólitos de plantas ou aleloquímicos como agentes para esta finalidade (PAVELA, 2004).

Nos últimos anos verifica-se um aumento no número de pesquisas envolvendo o uso de extratos de plantas como bioherbicidas. Geralmente espécies vegetais utilizadas na

medicina popular têm sido também pesquisadas em relação a suas propriedades como herbicidas naturais.

Espécies de *Ficus* e *Clusia* são comumente utilizadas como medicinais, contudo inexistem informações sobre a atividade alelopática dos compostos secundários presentes nas espécies *Ficus gomeleira* Kunth & C.D. Bouché e *Clusia nemorosa* G. Mey., e a forma de ação destes na inibição do desenvolvimento de outras plantas e o microbiológico, além de informações sobre o comportamento fenológico das referidas espécies, objetivou-se investigar os aspectos acima referidos, visando um maior conhecimento acerca da ecofisiologia das espécies supracitadas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2 ESPÉCIES BOTÂNICAS EM ESTUDO

#### 2.2.1 O Gênero *Ficus*

*Ficus* (Moraceae) compreende aproximadamente 750 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Figura 1), com cerca de 120 espécies na região Neotropical. Para o Brasil são referidas 78 espécies, sendo 23 endêmicas e de origem nativa abrangendo os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (BERG, 2001; BERG; VILLAVICENCIO, 2004, ROMANIUC NETO et al., 2012).



**Figura 1-** Distribuição geográfica de *Ficus* L.

**Fonte:** Tropicos, 2012

Este gênero é caracterizado, principalmente, pelo hábito arbóreo ou hemiepifítico; presença de látex leitoso e viscoso em todas as partes da planta; folhas com glândulas na base da lâmina (base laminar) ou no pecíolo (acropiolar); estípulas terminais bem desenvolvidas e geralmente amplexicaules e, sobretudo, pela inflorescência do tipo sicônio, bissexuada, cimosas, com um receptáculo urceolado, envolvendo as numerosas e diminutas flores estaminadas e pistiladas. Os sicônios são popularmente denominados de figos, e as plantas que os produzem conhecidas como figueiras ou gameleiras (MARTINS; PIRANI, 2010).

Nos últimos anos verifica-se um aumento global em relação ao uso de fitoterápicos, presente em espécies vegetais. *Ficus* spp. são exemplos desta tendência, uma vez que muitas de suas espécies são utilizados na alimentação e na medicina popular (KHODARAHMI et al., 2011).

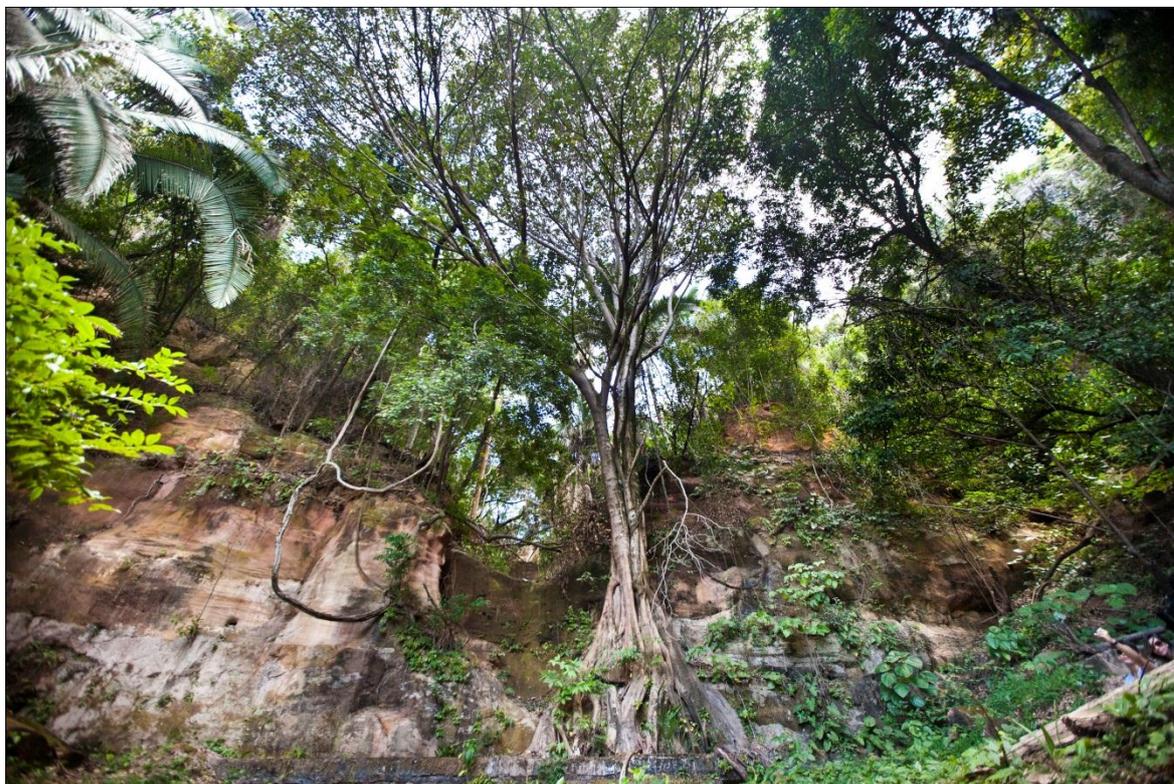
Diversas propriedades farmacológicas têm sido comprovadas em espécies de *Ficus*. Para *Ficus benjamina* Wall.; *Ficus pumila* L.; *Ficus radicans* Roxb. *Ficus racemosa* Linn. e *Ficus tikoua* Bur. são atribuídas atividades antioxidantes (ABRAHAM et al., 2008; MANIAN et al., 2008; SIMO et al., 2008; NARESSI, 2009; WEI et al., 2011), *Ficus asperifolia* Miq. tem ação uterotônica (WATCHO et al., 2011), *Ficus insipida* Willd. é anti-helmíntica e *Ficus exasperata* Roxb., tem propriedade dismenorreica (BUENO et al., 2005), *Ficus glomerata* Hort. ex Miq. apresenta ação anti HIV-1 e *Ficus septica* Burn. F. ação antitumoral e microbiológica (DAMU et al., 2005).

### **2.2.2 Descrição e distribuição de *Ficus gomelleira* Kunth**

*Ficus gomelleira* Kunth é uma espécie arbórea, de 3- 20 m de altura terrestre ou hemiepífita (Figura 2) que apresenta ramo delgado, cilíndrico, 4-13 mm de diâmetro, pubescente; entrenó 3-40 mm comprimento. Estípula 4-18 mm comprimento, alongada acuminada, marrom, pubescente, caduca. Folha 4-30 x 2,5-19 cm, coriácea, elíptica, ovada, obovada, oblonga, largo-elíptico, base obtusa, ápice acuminado, obtuso, agudo; face abaxial e face adaxial pubescente; nervação broquidródoma, 9-14 pares de nervuras secundárias, 2 nervuras basais; margem inteira; pecíolo 7-44 mm comprimento, circular a arredondado, pubescente. Inflorescência do tipo sicônio usualmente aos pares nas axilas foliares de 5-12 mm comprimento, 15-50 mm diâmetro, globoso, pubescente a hirsuto, maculado, internamente rosado; levemente erguido ou crateriforme. Espécie monóica com flores masculinas uniestaminadas e flores femininas pistiladas (SOUZA, 2009).

*Ficus gomelleira* conhecida popularmente por Gameleira e Apuí preto no Acre é nativa do Brasil, porém não endêmica, abrange os domínios da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (CARAUTA, 1989). Sua distribuição geográfica vai desde Norte (Amapá, Pará, Amazonas, Acre, Rondônia), Nordeste (Maranhão, Piauí, Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás, Mato Grosso do Sul), Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro) ao Sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul). Com registro pela primeira vez para o estado do Ceará no presente estudo. Possui como

sinonímias, *Ficus acarouaniensis* Benoist, *Ficus christianii* Carauta, *Ficus doliaria* (Miq.) Miq., *Ficus guapoi* D. Parodi, *Ficus holosericea* Schott, *Ficus schultesii* Dugand, *Urostigma doliarium* Miq. *Urostigma gomelleira* (Kunth & C.D. Bouché) Miq. (TROPICOS, 2012; ROMANIUC NETO et al., 2012).



**Figura 2-** *Ficus gomelleira* Kunth, próximo à fonte do Rio Granjeiro, Crato- Ceará.  
**Fonte:** A.H. de Oliveira, 2013

### 2.2.3 O gênero *Clusia* L.

Este gênero abrange aproximadamente 300 espécies de ocorrência neotropical e subtropical desde sudeste da Florida ao sul do Brasil (Figura 3) (STEVENS, 2007). No Brasil há o registro de 67 espécies, sendo 23 endêmicas. Abrange os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, e Mata Atlântica (BITTRICH, 2013).

É representado por arbustos, árvores, arvoretas ou hemiepífitas que apresentam látex branco, creme, amarelo, transparente ou marrom-amarelado. Suas folhas são decussadas; canais de látex visíveis na maioria das espécies. Inflorescência tipo cimeira, ou flores isoladas; coléteres na axila dos pecíolos. Flores dióicas, vistosas e coloridas; sépalas 2-numerosas; pétalas 4-10, prefloração imbricada; perfílos epicaliculares. Resina

floral presente nos estaminódios e/ou nos estames; pólen livre ou coberto por resina ou óleo. Flores pistiladas com estaminódios menores que estames, com ou sem anteras, raramente ausentes; estigmas sésseis ou com estilete curto, livres ou coniventes, grandes, igual ao número de lóculos do ovário; ovário com 4-numerosos lóculos, 1 a muitos óvulos por lóculo; com ou sem pistilódio, quando presente, frequentemente semelhante ao pistilo. Flores estaminadas com 4 a numerosos estames, livres ou fundidos na base; anteras com formas variáveis, geralmente curtas; com ou sem pistilódio; com ou sem estaminódios. Fruto cápsula carnosa de deiscência septífraga; estigmas persistentes; cálice persistente na maioria das espécies e corola e estaminódios persistentes ou caducos. Sementes geralmente mais de uma por lóculo, com arilo avermelhado ou laranja, sem inervação (CABRAL, 2011).



**Figura 3-** Distribuição geográfica de *Clusia* L.  
**Fonte:** Tropicos, 2012.

Espécies de *Clusia* são frequentemente utilizadas como anti-reumáticas, febrífugas, para problemas estomacais e purgativas (CARMO; FRANCESCHILENE, 2002). Como antiinflamatória, antimicrobiana, antifúngica e citotóxica (PINHEIRO; NAKAMURA; DIAS FILHOS, 2003).

#### 2.2.4 Descrição e distribuição de *Clusia nemorosa* G. Mey.

*Clusia nemorosa* G. Mey. é uma espécie arbórea ou arbustiva podendo atingir até 15 m. suas folhas são oblongas e cartáceas contendo canais foliares de látex visíveis, na maioria das vezes, em ambas as faces com nervura central saliente na face adaxial e fortemente saliente na face abaxial. Inflorescências formadas por flores estaminadas ou agrupadas, 2-12 flores e flores pistiladas solitárias ou agrupadas, 1-7 flores. Flores pediceladas. Cálice persistente, pétalas decíduas. Resina floral ausente nos estames, mas presente nos estaminódios de flores estaminadas e pistiladas. Estames férteis mais do que 50, dispostos em 4 séries ao redor dos estaminódios, todos fundidos por seus filetes na base, 4 mm comprimento; estaminódios centrais resiníferos, 5,7 mm comprimento, densamente agrupados; filetes lineares, achatados ou cilíndricos; conectivo no ápice da antera fértil muito prolongado, em forma de arista. Deiscência das anteras por fendas longitudinais pelo menos pela metade das tecas. Pólen não misturado com óleo nem resina. Estigmas persistentes, mais ou menos coniventes no ápice. Fruto do tipo cápsula carnosa, 22,0-40,2 x 20,6-38,8 mm, de cor verde quando imaturo e marrom a avermelhado, quando maduro (Figura 4). Sementes 6-8 por lóculo, 2 fileiras de sementes por lóculo, cor vermelho vivo, arilo amarelo a alaranjado (CABRAL, 2011).

Espécie nativa do Brasil conhecida popularmente na região no Nordeste por Ceboleira, Mucugê-bravo e Orelha-de-burro (BITTRICH, 2013). Porém não endêmica, abrangendo os domínios da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata atlântica. Sua distribuição geográfica abrange as regiões, Norte (Amapá, Amazonas Pará Roraima), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco e Sergipe), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás e Mato Grosso) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro). Possui como Sinonímias, *Clusia bicolor* Mart.; *Clusia lhotzkyana* Schltdl. *Clusia mammosa* Casar.



**Figura 4-** Frutos de *Clusia nemorosa* em ambiente de Mata úmida. Mirante da coruja, Crato- CE.  
**Fonte:** A. H. de Oliveira, 2011

### 2.3 Produtos Naturais

O homem desde os primórdios tem se utilizado de produtos de origem natural para diversos fins. Através do empirismo, descobriu as propriedades de plantas e animais e transmitiu seus conhecimentos às gerações futuras. Este conhecimento tem se mantido até os dias atuais onde diferentes e modernos processos biotecnológicos tem facilitado a exploração e garantido a bioprospecção de produtos de interesse econômicos e farmacológicos, proporcionando um maior conforto e melhoria na expectativa de vida do ser humano (BRAGA, 2012).

De acordo com Montanari e Bolzani (2001) o surgimento dos antibióticos produzidos por fermentação microbiana aliada ao desenvolvimento marcante de fármacos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica, logo depois da Grande Guerra, foram causas marcantes no declínio do uso de plantas medicinais e conseqüentemente, no investimento em fármacos de origem vegetal. Nos últimos anos uma importante mudança no paradigma das sociedades ocidentais fez com que os produtos de plantas passassem novamente a ocupar papel de destaque por grandes contingentes das populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento.

A despeito de todo conhecimento, nos dias atuais, menos de 10% da biodiversidade mundial foi testada e, até 2050 estima-se que em torno de 25% da flora estará extinta, havendo o risco de nunca se ter conhecimento de espécies vegetais que poderiam tornar-se fontes naturais de medicamentos e/ou de outros produtos. O Brasil é um dos países com a maior biodiversidade do planeta. Em seu extenso território existem, aproximadamente, 20% das espécies que compõem a flora mundial e de acordo com a estimativa da organização mundial de saúde o país acompanha a perspectiva na qual 80% da população dependem das plantas medicinais para a atenção primária à saúde (OLIVEIRA et al., 2008).

Estima-se, que cerca de 500.000 espécies vegetais ocupam todo o planeta, sendo 50% destas pertencentes à classe das angiospermas. No auge de seu processo evolutivo, as angiospermas alcançaram um desenvolvimento ímpar dado à ocorrência de micromoléculas distintas e complexas, com vários centros estereogênicos. É possível que essas características, sejam responsáveis por inúmeros fenômenos como as ações biológicas, como por exemplo, as alelopáticas (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

Para comprovar os efeitos terapêuticos das plantas é preciso comparar e classificar suas diversas propriedades agrupando as que possuem efeitos similares, buscando conhecer os princípios ativos, determinando suas estruturas químicas, procurando sintetizá-las, propondo modificações estruturais em busca de uma maior atividade e finalmente dando a conhecer à humanidade os resultados destes estudos (MATOS, 2009). Uma análise desta natureza deve ser realizada de forma multidisciplinar com a intervenção de botânicos, farmacólogos, farmacognostas, químicos, entre outros.

A necessidade de substituir os insumos químicos sintéticos nos agroecossistemas por materiais produzidos naturalmente motiva pesquisas aplicadas à alelopatia, isto porque os benefícios de pesquisas desse tipo podem melhorar a sustentabilidade dos sistemas de produção e a conservação da vegetação natural ou seminatural, pois representam uma alternativa biológica com ação específica e menos prejudicial ao meio ambiente (SMITH; MARTIN, 1994; MACIAS et al., 1998; CHOU, 1999; OLOFSDOTTER; MALLIK, 2001).

## **2.4 Alelopatia e a natureza dos aleloquímicos**

A alelopatia tem sido reconhecida como um importante mecanismo ecológico que influencia a dominância vegetal, a sucessão primária e secundária, a formação de

comunidades vegetais e de vegetação clímax, na dominância de certas espécies vegetais afetando a biodiversidade local bem como a produtividade e manejo de culturas. As substâncias alelopáticas são encontradas distribuídas em concentrações variadas em diferentes partes da planta e durante seu ciclo de vida. Quando essas substâncias são liberadas em quantidades suficientes causam inibição ou estimulação (dependendo da concentração) na germinação, crescimento e/ou desenvolvimento de plantas já estabelecidas e, ainda, no desenvolvimento de microorganismos (CARVALHO, 1993, REIGOSA; SÁNCHEZ; GONZÁLEZ, 1999; ALMEIDA et al., 2008).

Quem primeiro usou o termo alelopatia foi o alemão Hans Molisch em 1937, para descrever as interações químicas que ocorrem em plantas e microorganismos. A Sociedade Internacional de Alelopatia definiu esta interação como processos envolvendo a produção de metabólitos secundários em plantas, algas, bactérias e vírus, que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas. Define também como, um estudo da função dos metabólitos secundários, sua significância em organizações biológicas, origem evolutiva e elucidação dos mecanismos envolvendo relações planta-planta, planta-microorganismo, planta-vírus, planta-inseto e interações entre planta-solo-planta (GNIAZDOWSKA; BOGATEK, 2005).

Os efeitos alelopáticos são mediados por substâncias que pertencem a diferentes categorias de compostos secundários. Avanços recentes envolvendo métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação de produtos naturais, têm contribuído para um maior conhecimento desses compostos os quais podem ser agrupados de diversas formas. Há mais de uma década, a ocorrência de mais de 300 compostos secundários considerados de efeito alelopático foi registrada por Ferreira e Áquila (2000) e estes números têm aumentando, com a descoberta de novas substâncias químicas de origem vegetal e de microorganismos. Atualmente não existe uma estimativa para a quantidade desses compostos.

### **Fatores que influenciam a produção de metabólitos secundários e consequentemente alguns aleloquímicos**

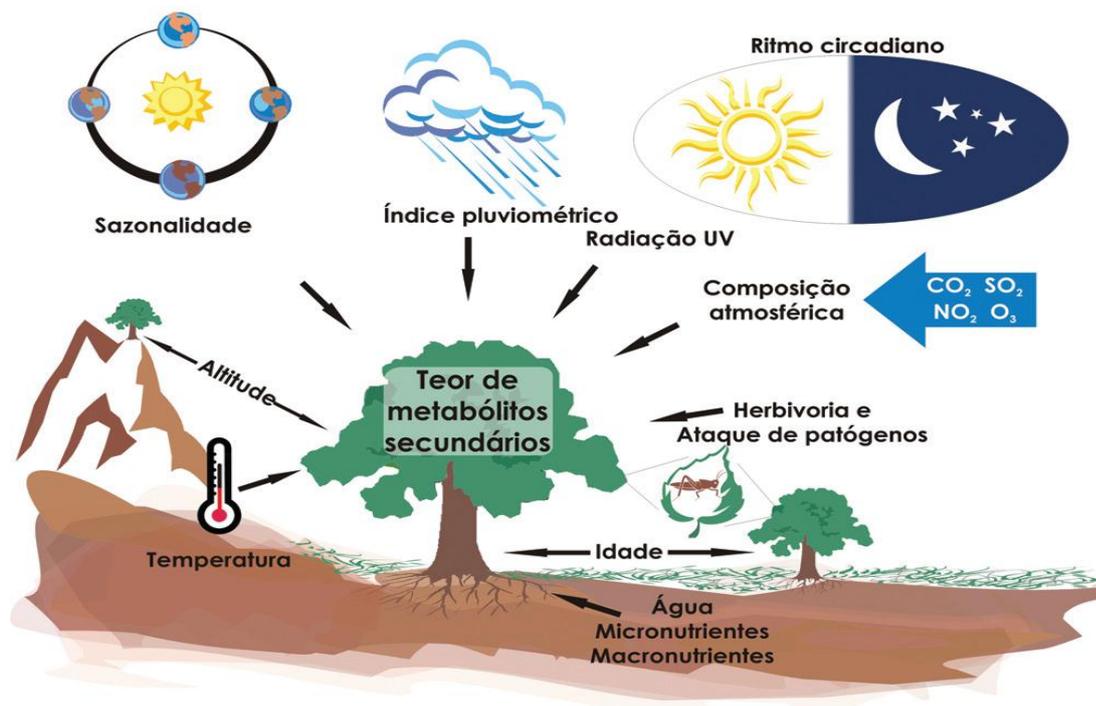
Fatores como variações sazonais, ritmo circadiano, disponibilidade hídrica, desenvolvimento, temperatura, radiação ultravioleta, nutrientes (macronutrientes e micronutrientes), altitude, poluição atmosférica e a indução por estímulos mecânicos ou

ataque de artrópodes e patógenos (Figura 5) interferem no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários como: ácidos fenólicos, alcalóides, cumarinas, flavonóides, glucosinolatos, glicosídeos cianogênicos, graxas epicuticulares, iridóides, lactonas sesquiterpênicas, saponinas e taninos (FEENY; BOSTOCK, 1968; KIM et al., 1981; JALAL; READ; HASLAM, 1982; PITAREVIC et al., 1984; NDAMBA; LEMMICH; MØLGAARD, 1994; ZIDORN; STUPPNER, 2001; SCHMIDT; BOMMER; ALFERMANN, 1998; SALMINEN et al., 2001; BROOKS; FEENY et al., 2004; SCHWOB et al., 2004).

A produção de metabólitos secundários como aleloquímicos pode variar em qualidade e quantidade de espécie para espécie, de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro. Com muitos deles tendo suas sínteses desencadeadas por eventuais vicissitudes este a que as plantas estão expostas (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Todas as partes das plantas como folhas, caules, rizomas, raízes, flores, frutos e sementes podem conter tais compostos com efeitos alelopáticos, contudo, as folhas e as raízes são as fontes mais importantes (WESTON, 1996). A natureza e a quantidade de substâncias alelopáticas diferem com a espécie, a idade do órgão da planta, a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de nutrientes, a atividade microbiana da rizosfera e a composição dos solos em que se encontram a raízes (EINHELLIG; LEATHER, 1988).

A prospecção e o isolamento de substâncias vegetais é um trabalho que necessita de alguns conhecimentos prévios da autoecologia da espécie ou espécies em foco, pois algumas das dificuldades estão condicionadas a própria natureza da planta quanto ser vivo, em constante dinamismo químico (MATOS, 2009).

A alelopatia está estreitamente ligada a diversos estresses abióticos ou ambientais, (temperaturas extremas, deficiências de nutrientes e de umidade, radiação), bióticos (insetos, doenças). Essas condições de estresse frequentemente aumentam a produção de aleloquímicos, aumentando o potencial de interferência alelopática (EINHELLIG, 1996).



**Figura 5-** Fatores que podem influenciar na síntese e no acúmulo de metabólitos secundários em vegetais.

Fonte: Adaptado de Gobbo-Neto; Lopes, 2007

### Aspectos fenológicos

Os primeiros registros fenológicos realizados por Wu Hou, na dinastia de Chou e Chin no Japão datam de 1027-206 a.C. Também no Japão foi realizado o primeiro registro do florescimento das cerejeiras, na cidade de Kyoto, em 812 d.C. (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2010).

Estes mesmos autores definem a fenologia como mudanças do comportamento de organismos através das estações. De acordo com eles, este registro é fundamental para dimensionar temporal e racionalmente as atividades agrícolas.

A fenologia é um método utilizado para o estudo do ritmo sazonal das plantas baseado no registro visual das fenofases por métodos qualitativos e quantitativos. O período reprodutivo é uma etapa pouco conhecida de populações de plantas. E informações sobre este período são obtidas através de observações fenológicas sistemáticas. Estudos fenológicos contribuem para o entendimento dos processos de estabelecimento, regeneração e reprodução de plantas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2010).

Aspectos fenológicos podem influenciar na concentração dos metabólitos secundários e na constância do conteúdo total dos mesmos, devido ao desenvolvimento foliar e/ou surgimento de novos órgãos (gêma floral e foliar, flores e frutos). Podendo resultar em uma menor concentração destes metabólitos por diluição ou em uma maior quantidade total, devido ao aumento de biomassa (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

### **Ação dos aleloquímicos**

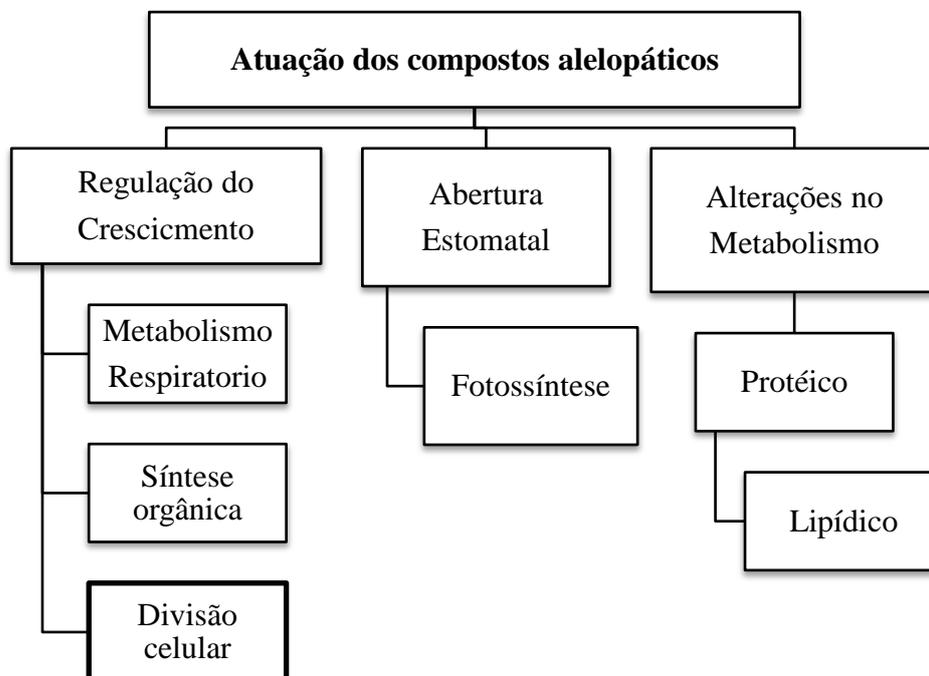
Vegetais, microrganismos e, em menor escala, animais são possuidores de um arsenal metabólico, constituído por enzimas, coenzimas e organelas, capaz de produzir transformar e acumular inúmeras substâncias, a partir do metabolismo primário, não necessariamente relacionado de forma direta à manutenção da vida dos organismos produtores. Em certas ocasiões fenóis, taninos flabobênicos e flavonóides, garantem vantagens ecológicas de sobrevivência a esses organismos (WINK, 1990; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

Consequentemente, substâncias provenientes do metabolismo secundário (aleloquímicos) originam compostos que não possuem uma distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas. Como consequência prática, esses compostos podem ser utilizados em estudos taxonômicos (quimiosistemática). Muitos deles funcionam como sinais químicos, que permitem à planta responder a estímulos do ambiente. Também já foram reconhecidas varias funções a essas classes de metabólitos, por exemplo, a defesa contra herbívoros e microrganismos, a proteção contra raios UV, à atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (RICE, 1984; HARBONE, 1988; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

A autotoxicidade e a heterotoxicidade são diferentes formas de alelopatia (MILLER, 1996). A autotoxicidade ocorre quando a planta produz substâncias tóxicas que inibem a germinação das sementes e o crescimento de plantas da mesma espécie. E segundo Nuñez et al. (2006) a heterotoxicidade ocorre quando substâncias fitotóxicas são liberadas pela lixiviação e exudação das raízes, assim como a decomposição de resíduos de alguns tipos de plantas sobre a germinação das sementes e o crescimento de outras plantas.

Os aleloquímicos podem atuar de forma distinta em diversos processos metabólicos (Figura 6): respiração, fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, abertura de estômatos, nível de fitormônios, disponibilidade mineral, divisão e alongamento celular,

estrutura e permeabilidade de membranas e parede celular (REZENDE et al., 2003). Muitos desses processos ocorrem em função do estresse oxidativo (ALMEIDA et al., 2008).



**Figura 6-** Principais vias de atuação dos aleloquímicos no mecanismo fisiológico vegetal, destacando a interferência na divisão celular.

### Divisão celular e índice mitótico

A atividade de inibição da divisão celular pode ser avaliada utilizando como modelo a inibição da germinação de determinadas espécies e interferência no desenvolvimento das radículas. Assim, uma substância ou um extrato vegetal que apresente a capacidade de interferir no desenvolvimento da radícula de outras espécies pode ser um fator interessante para a aplicação como antitumoral, herbicida ou agente alelopático. A correlação com a atividade citotóxica reside no fato que a inibição no desenvolvimento de radícula ou na germinação pode ser devida à interferência no sistema bioquímico ou outro sistema relacionado ao crescimento, como por exemplo, divisão cromossômica do organismo teste (AYINDE; AGBAKWURU, 2010).

A avaliação de citotoxicidade tem sido feita por meio do estudo da influência de extratos sobre a germinação e o crescimento de determinadas espécies-alvo, comumente alface, *Lactuca sativa L.* (ANDERSON et al., 1991). A redução do crescimento das

estruturas das plantas como, a radícula e o caulículo, na presença de metabólitos secundários e aleloquímicos é associada com uma forte inibição da mitose e/ou rompimento da estrutura das organelas, como por exemplo, núcleo e mitocôndrias (ALMEIDA et al., 2008).

Logo, a citotoxicidade de substâncias pode ser avaliada, respectivamente, através de alterações no processo de divisão Celular sobre o organismo teste e pela incidência de mutações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos (SOUZA et al., 2005).

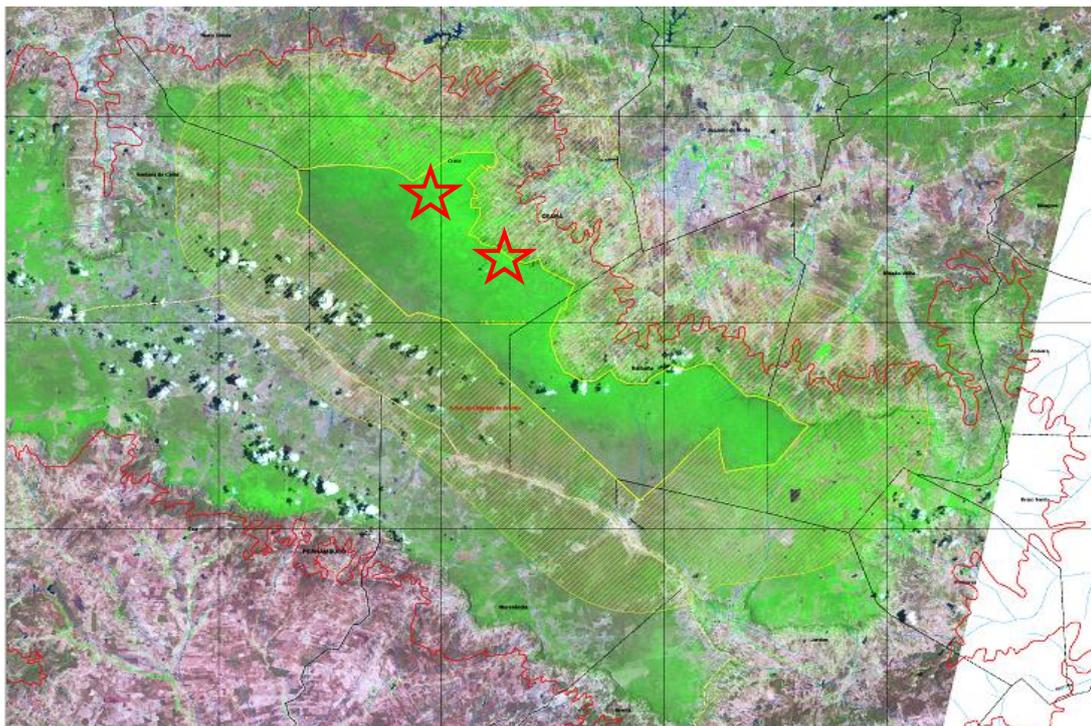
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudo

O estudo de campo e a coleta do material botânico foram realizados em áreas da Floresta Nacional do Araripe - FLONA Araripe e a Área de Proteção Ambiental da Chapada do Araripe - APA da Chapada do Araripe (Figura 7). A FLONA Araripe, criada em 1946, é um dos últimos redutos de vegetação natural, como a Mata Úmida. Ocupa uma extensa área que atravessa a fronteira do Ceará com Pernambuco, abrangendo no estado do Ceará partes dos municípios de Barbalha, Crato, Jardim e Santana do Cariri, numa área total de 39.262,326 ha. Já a APA Chapada do Araripe, criada em 1997, abrange os estados do Ceará, Pernambuco e Piauí, ocupando uma área de mais de um milhão de hectares, num mosaico de paisagens tais como: Caatinga Arbórea, Carrasco, Cerradão, Cerrado, Floresta Ribeirinha, Mata Seca e Mata Úmida (CAMPANILI; PROCHNOW, 2006; SILVA; LINHARES; CAMPOS, 2011).

A FLONA Araripe desempenha papel fundamental na proteção da vegetação mais seca ao longo da borda do platô da Chapada do Araripe, funcionando como zona de amortecimento para a conservação da Mata Úmida de encosta e garantindo a infiltração das águas pluviais que abastecem o aquífero responsável pela vazão das nascentes. (SILVA; LINHARES, CAMPOS, 2011).

É um habitat peculiar para o desenvolvimento de espécies endêmicas. Com os sucessivos ciclos agrícolas e ocupação humana, esta vegetação foi removida até que restasse somente nos aclives, diminuindo o hábitat das espécies e acarretando uma redução de suas populações, afetando drasticamente a diversidade biológica (RÊGO et al., 2010).



**Figura 7-** Delimitação da FLONA Araripe (linha amarela) e da APA (linha vermelha).  
**Fonte:** <http://siscom.ibama.gov.br/mpt>, 2012

Na área do estudo predominam solos dos tipos Latossolo Vermelho-Amarelo Álico, desenvolvido sobre arenitos da Formação Exu, (topo da chapada) e Litólicos Eutróficos, sobre a Formação Santana (encosta da chapada) (IPLANCE, 1997). O clima é tropical quente e seco, atenuado por estação chuvosa, com média pluviométrica de 853,2 mm durante o triênio de 2010 a 2012, a temperatura oscilou entre 15 e 25°C (FUNCEME). E a altitude e exposição aos ventos úmidos são os principais determinantes da existência das condições climáticas favoráveis à presença da Mata Úmida no ambiente (Azevedo et al., 2011).

### 3.2 Coleta do material botânico

*Ficus gomelleira* foi coletada em uma área de Mata úmida localizada no sopé da chapada do Araripe, na fonte do Granjeiro a 7°1'810''S e 39°32'683''W a 928m de altitude e *Clusia nemorosa* na Floresta Nacional do Araripe a 7°15'23,5''S e 39°29'30,8'' W numa altitude de 963m, ambas no período da manhã do mês de setembro de 2011.

Foi coletado aproximadamente 1 kg de folhas de indivíduos adultos de ambas as espécies. Após a coleta o material botânico foi acondicionado em sacos plásticos com

capacidade para 50 L, que imediatamente foram vedados para evitar a perda de umidade das folhas. As amostras foram identificadas através de fichas próprias contendo nome popular, local e data, nome do coletor, coordenadas geográficas. O material foi conduzido ao Laboratório de Botânica Aplicada LBA da Universidade Regional do Cariri, para posterior utilização.

As espécies foram identificadas pelo Dr. João Marcelo A. Braga, no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Brasil e as exsiccatas das mesmas foram depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da URCA, sob número de registro 6671 (*F. gomelleira*) e 6930 (*C. nemorosa*).

### 3.3 Bioensaios Alelopáticos

#### Obtenção do Extrato Aquoso Bruto de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa*

Todos os processos de extração dos extratos aquosos brutos de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa* foram realizados no Laboratório de Botânica Aplicada da Universidade Regional do Cariri-URCA.

Para a produção do extrato aquoso bruto (EBA) foi estabelecida a relação entre o peso de matéria fresca (PMF) e o peso de matéria seca (PMS), utilizando-se de 100 gramas de folhas frescas postas em estufa sob uma temperatura de 100 °C por 24 horas. Após esse período as folhas foram pesadas e em seguida determinados o peso de matéria seca (PMS). Da relação PMF/PMS obteve-se um índice que multiplicado pelo peso de matéria fresca (100g) correspondeu ao volume de água destilada (mL) usada na produção do EBA, técnica proposta por Medeiros (1990) conforme apresentado na tabela 1.

Os extratos aquosos brutos (EBA) das duas espécies foram preparados utilizando-se 100g de folhas frescas e 303 mL de água destilada para *Ficus gomelleira* e 357 mL para *Clusia nemorosa*. Após a trituração, o material foi filtrado com auxílio de funil de vidro e algodão e o líquido resultante centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos para a obtenção do extrato a 100% de concentração.

**Tabela 1-** Massa da matéria fresca e seca em gramas e o volume de água a ser adicionado para elaboração do Extrato Aquoso Bruto (EBA) utilizado nos ensaios alelopáticos.

Espécie	PMF	PMS	H <sub>2</sub> O mL	EBA
<i>Ficus gomelleira</i> Kunth	100	33	303	EAFG
<i>Clusia nemorosa</i> G. Mey.	100	28	357	EACN

#### Otensão do Extrato Etanólico Bruto de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa*

Todos os processos de extração e concentração dos extratos etanólicos de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa* foram realizados no Laboratório de Química e Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri-URCA.

Para preparação do extrato etanólico bruto (EEB) foram trituradas com 500g de folhas frescas de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa*. Após atrituração o material botânico foi submerso em 2L de etanol (P.A. 99,3%) e submetido à agitação periódica. Após sete dias, o material foi filtrado, sendo o solvente evaporado em evaporador rotativo a vácuo (modelo Q-214M2 – Quimis, Brasil) e concentrado em banho Maria. Os valores da massa seca bem como o peso do extrato etanólico bruto e os valores de seus respectivos rendimentos são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2-** Massa seca das folhas e do extrato e o seu rendimento, expressos em gramas e porcentagens, respectivamente.

Espécie	Material	Massa seca	Massa Extrato	Rendimento	EEB
<i>Ficus gomelleira</i> Kunth	Folhas	165	42	25,45%	EEFG
<i>Clusia nemorosa</i> G. Mey.	Folhas	140	28,1	20,07%	EECN

Com o extrato aquoso bruto a 100% de ambas as espécies foram feitas diluições com água destilada nas concentrações de 75, 50 e 25% (Tratamentos). O controle (0%) constou somente de água destilada.

Em relação ao extrato etanólico bruto, foi realizada uma diluição de 62 mg do mesmo em um mL de etanol à 66%, resultando no tratamento a 100% de concentração, conforme método proposto por Mazzafera (2003). Em seguida procedeu-se a diluição seriada de 1:1 (metade EEB e metade etanol 66%), para compor as concentrações de 50, 25, 12,5 e 6,25%, (Tratamentos). Para este bioensaio foram adotados dois controles, um

contendo água destilada e o outro com etanol a 66% para avaliar eventuais interferências do solvente adicionado às soluções dos extratos. O pH de cada concentração, foi aferido em pHmetro e devido à alta acidez foi ajustado a um valor entre 6,0 e 8,0 com soluções de KOH 0,1mol/L e HCl a 5% conforme recomenda Macias, Gallindo e Molinillo (2000).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, constando de 9 tratamentos (EBA a 100, 75, 50 e 25%; EEB a 100, 50, 25, 12,5 e 6,25%) e três controles (2 água destilada (0%) e um etanol a 66%) com cinco repetições cada. Para cada repetição foram utilizadas 20 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento.

*Lactuca sativa* L. (alface), foi escolhida como espécie receptora por apresentar uma germinação rápida e uniforme (GABOR; VEATCH, 1981; FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

Os bioensaios foram conduzidos em placas de Petri contendo duas folhas de papel germitest umedecidas em 3 mL dos extratos de ambas as espécies doadoras nas diversas concentrações (MACIAS; CASTELLANO; MOLINILLO, 2000). As placas contendo o extrato etanólico em suas distintas concentrações foram deixadas abertas durante 48 horas para completa evaporação do álcool (MAZZAFERA, 2003). Após esse período as sementes de alface foram semeadas e em seguida foi adicionado 3 mL de água destilada por placa.

Em seguida as placas de Petri contendo os diásporos foram seladas com plástico filme para garantir modelos de sistemas fechados e levadas a uma câmara de germinação (BOD), com temperatura de  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12/12 horas, adequadas a espécie teste (MARA, 1992).

### **3.4 Parâmetros avaliados**

#### **Germinação e índice de velocidade de germinação**

O experimento foi avaliado a cada 24 horas, durante sete dias, considerando como critério de germinação a emissão de uma radícula de 2mm.

A porcentagem de germinação (PG) foi calculada de acordo com Laboriau e Valadares (1976). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado a cada 24 horas, sendo determinado através do somatório da razão entre o número de sementes

germinadas no dia  $i$  ( $n_i$ ) e o número de dias ( $i$ ) (FERNANDES; MIRANDA; SANQUETA, 2007) de acordo com a fórmula abaixo descrita:

$$PG = (N/A).100$$

Onde:

N - número total de sementes germinadas.

A - número de sementes colocadas para germinar.

$$IVG = (\sum n_i / i)$$

Onde:

$N_i$  - Numero de sementes germinadas no dia  $i$ .

$i$  - Numero de dias.

### **Biometria do cálculo e radícula**

Para mensurar o comprimento dos caulículos e radículas de *Lactuca sativa* foram utilizadas cinco plântulas por repetição, totalizando 25 por tratamento. As medições foram realizadas com auxílio de paquímetro digital.

### **3.5 Microrganismos**

As atividades antimicrobianas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da URCA.

Os extratos etanólicos das espécies foram submetidos à avaliação da atividade antimicrobiana pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e atividade moduladora por contato direto, através de métodos por microdiluição. Três linhagens de bactérias foram utilizadas, para a determinação da concentração inibitória mínima, sendo uma Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e duas Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 1873 (Tabela 3).

Três linhagens multirresistentes foram utilizadas para a atividade moduladora, *Escherichia coli* (27), *Staphylococcus aureus* (358) e *Pseudomonas aeruginosa* (03) (Tabela 4). Os fungos utilizados foram: *Candida albicans* ATCC 40006; *Candida krusei* ATCC 6538 e *Candida tropicalis* ATCC 40042. As linhagens bacterianas padrões

utilizadas, exceto as multirresistente, foram cedidas pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Ministério da Saúde. Os fungos, bem como a linhagem bacteriana multirresistente foram cedidas pelo Laboratório de Micologia Clínica da Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

**Tabela 3-** Linhagens de bactérias (padrões e isolados clínicos) e fungos utilizados nos ensaios antibacterianos e antifúngicos.

BACTÉRIAS				FUNGOS	
Padrão		Isolados Clínicos		Padrão	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	(358)	<i>Candida albicans</i>	ATCC 40006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(03)	<i>Candida krusei</i>	ATCC 6538
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 1873	<i>Escherichia coli</i>	(27)	<i>Candida tropicallis</i>	ATCC 40042

**Tabela 4-** Fonte bacteriana, utilizados na atividade moduladora e suas resistências antibióticas.

BACTÉRIAS	ORIGEM	RESISTÊNCIA ANTIBIÓTICA
<i>Escherichia coli</i> (27)	Ferimento Cirúrgico	Ast, Ax, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>Staphylococcus aureus</i> (358)	Ferimento Cirúrgico	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (03)	Ferimento Cirúrgico	Cpm, Ctz, Imi, Cip, Ptz, Lev, Mer, Ami

Ast-Aztreonam; Ax-Amoxicillin; Amp-Ampicilina; Ami-Amicilina; Amox-Amoxilina, Ca-Cefadroxil; Cfc-cefaclor; Cf-Cefalotina; Caz-Ceftazidima; Cip-Ciprofloxacina; Clo-Clorafenicol; Imi-Imipenem; Can-Canamicina; Szt-Sulfametrim; Tet-Tetraciclina; Tob-Tobramicina; Oxa-Oxacilina; Gen-Gentamicina; Neo- Neomicina; Para- Paramomicina; But-Butirosina; Sis-Sisomicina; Net-Netilmicina; Com-Cefepime; Ctz-Ceftazidime; Ptz-Piperacilina-tazobactam; Lev-Levofloxacina; Mer-Meropenem.

## **Drogas utilizadas nos testes microbiológicos**

As drogas utilizadas nos testes foram os aminoglicósidos amicacina, neomicina e gentamicina (Sigma Co., St. Louis, EUA), e antifúngicos Cetoconazol, Nistatina e Fluconazol (Laboratório Teuto Brasileiro S/A, Brazil). Todas as drogas foram diluídas em água estéril e as soluções foram preparadas seguindo as recomendações do Comitê Nacional para Padrões de Laboratórios Clínicos NCCLS (2008). Já resazurina sódica foi obtida da Sigma–Aldrich (St Louis, MO) e estocada a 4°C ao abrigo da luz. A solução de resazurina foi preparada com tampão fosfato 1%, pH 7 e esterilizada por filtração antes de ser utilizada.

## **Concentração Inibitória Mínima - CIM**

A concentração inibitória mínima é definida como a menor concentração na qual nenhum crescimento microbiano for observado. O extrato etanólico bruto de *Ficus gomelleira* e de *Clusia nemorosa* foram solubilizados inicialmente em DMSO (Merck, Darmstadt, Alemanha) e dissolvidos em água estéril de forma a se obter uma solução estoque de 1024 µg/mL. Em seguida foram diluídos 100µL dos inóculos, previamente incubados a 37° C durante 24h, em *Brain Heart Infusion Broth* (BHI, Difco Laboratories Ltda.) a 10%, cuja concentração final foi de  $5 \times 10^5$  UFC/mL. Em seguida 100 µL destes inóculos foram distribuídos nos 96 poços das placas de microdiluição, no sentido numérico, acrescido de 100 µL da solução estoque do extrato etanólico de ambas as espécies, no primeiro poço, e em seguida foram realizadas diluições seriadas até o penúltimo poço, obtendo-se concentrações finais dos extratos de 8 à 512 µg/mL. As placas foram incubadas a  $35 \pm 2$  °C, durante 24 h (JAVADPOUR et al., 1996). A leitura da CIM bacteriana foi visualizada com o auxílio do reagente resazurina sódica (Sigma) um indicador colorimétrico de óxido-redução (SALVAT et al., 2001). As cepas fungicas foram avaliadas através da visualização da ausência ou presença de turvação (HADACEK; GREGER, 2000; NCCLS, 2008).

### **Ensaio da Atividade Moduladora de Antibióticos e Antifúngicos**

Para avaliar a atividade moduladora foram utilizadas concentrações subinibitórias dos extratos, a sua CIM foi dividida por oito (CIM/8) resultando a concentração de 128µg/mL dos extratos etanólicos de ambas as espécies, frente aos aminoglicosídeos e aos antifúngicos, método proposto por Coutinho et al., (2008). Preparou-se um meio de distribuição com 150µL do inóculo previamente incubados durante 24h e a 37°C, mais a concentração subinibitória do extrato, que foi de 188 µL da solução estoque dos extratos etanólicos, e BHI a 10% em volume suficiente para completar os 1,5 mL do *ependorf*®. Uma amostra de 100µL deste meio de distribuição foi colocada em cada poço. Logo em seguida, 100 µL dos aminoglicosídeos e antifúngicos foram misturados com o primeiro poço, seguindo diluição seriada de 1:1. As concentrações de aminoglicosídeos e antifúngicos variou entre 2,50 e 2,44µg/mL e de 512 a 2µg/mL, respectivamente.

### **3.6 Prospecções dos Metabólitos Secundários**

Os testes fitoquímicos foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais- LPPN da Universidade Regional do Cariri- URCA. Para a identificação das classes de metabólitos secundários seguiu-se a metodologia descrita por Matos (2009). Sendo observada a mudança de cor ou formação de precipitados após a adição de reagentes específicos.

### **3.7 Estudos fenológico**

Os fenômenos fenológicos (brotamento e queda foliar, emissão de brotos, flores e frutos) de *Ficus gomelleira* e *Clusia nemorosa* foram observados mensalmente no período de agosto de 2011 a janeiro de 2013. Para cada espécie foram georeferenciadas aleatoriamente dez indivíduos (Tabela 5).

Para a estimativa da intensidade de cada fenofase foi utilizada a escala semi-quantitativa proposta por Fournier (1974), onde são consideradas cinco categorias de (0 a 4), com intervalos de 25% entre cada uma.

**Tabela 5-** Indivíduos que foram marcados para observação fenológicas nas áreas de estudo com seus respectivos pontos de localização e altitude.

INDIVÍDUOS	COORDENADAS GEOGRÁFICAS	ALTITUDES
<i>Ficus gomelleira</i>		
1	S 7°16'48" / W 39° 26'19"	705m
2	S 7°16'52" / W 39° 26'21"	726m
3	S 7°16'53" / W 39° 26'21"	730m
4	S 7°16'53" / W 39° 26'23"	748m
5	S 7°16'55" / W 39° 26'23"	757m
6	S 7°16'54" / W 39° 26'23"	753m
7	S 7°16'55" / W 39° 26'23"	750m
8	S 7°16'54" / W 39° 26'23"	747m
9	S 7°16'51" / W 39° 26'22"	727m
10	S 7°16'55" / W 39° 26'23"	751m
<i>Clusia nemorosa</i>		
1	S 7°14'41" / W 39° 28'39"	931m
2	S 7°14'43" / W 39° 28'38"	930m
3	S 7°14'43" / W 39° 28'34"	925m
4	S 7°14'41" / W 39° 28'33"	923m
5	S 7°14'39" / W 39° 28'33"	921m
6	S 7°14'38" / W 39° 28'34"	922m
7	S 7°14'39" / W 39° 28'35"	923m
8	S 7°14'40" / W 39° 28'32"	922m
9	S 7°14'41" / W 39° 28'31"	923m
10	S 7°14'42" / W 39° 28'30"	920m

Para determinar os padrões de frequência de floração e frutificação foi seguida a classificação de Newstrom, Frankie e Baker, (1994) sendo consideradas três categorias: contínua (floração com curtos períodos de intervalos em um ano), subanual (floração com mais de um ciclo no ano), e anual (um ciclo por ano). A classe supra-anual (um ciclo em mais de um ano) não foi considerada, tendo em vista que o estudo teve duração de 15 meses.

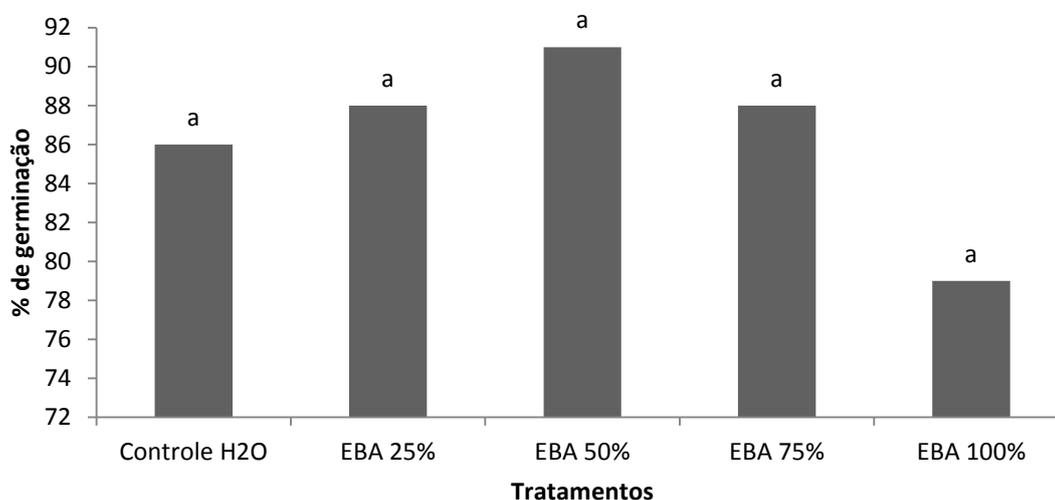
A duração da floração ou frutificação foi determinada segundo Silberbauer-Gosttsberger (2001) considerando o período em que o primeiro indivíduo entrou na fenofase até o último indivíduo com fruto.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito do extrato aquoso e etanólico de folhas de *Ficus gomelleira* na germinação e desenvolvimento de *Lactuca sativa*

#### Porcentagem de Germinação

O extrato aquoso de folhas de *F. gomelleira* não interferiu significativamente na germinação das sementes de *L. sativa*. Embora a porcentagem da germinação nas concentrações de 25, 50 e 75% tenha sido superior a do grupo controle e a 100% inferior, como pode ser observado na Figura 8.

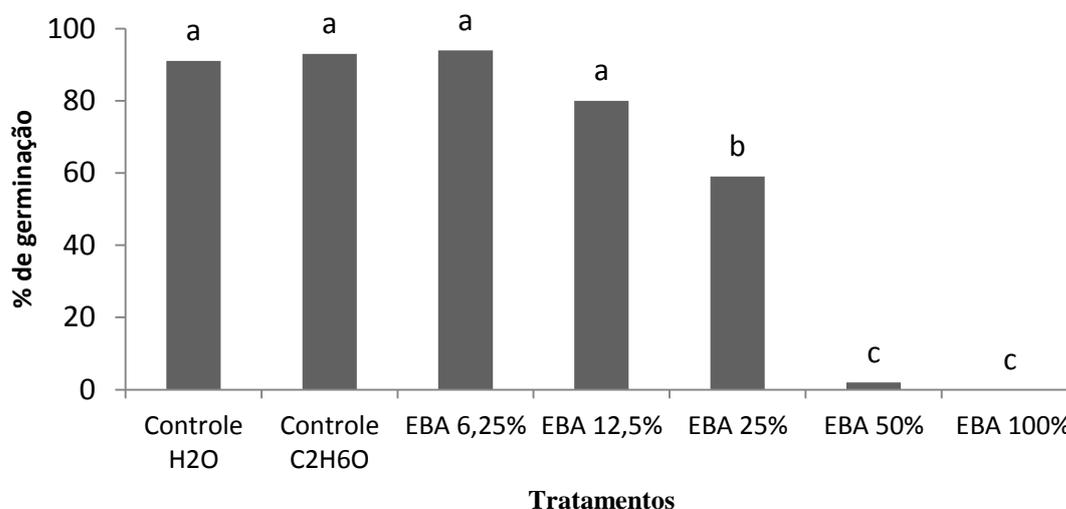


**Figura 8-** Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Ficus gomelleira*. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ )

Segundo Prates et al. (2000) os aleloquímicos necessitam estar em uma concentração mínima no ambiente, para atuarem sobre os organismos. No entanto, nem sempre essa ação afeta a germinação das sementes das espécies receptoras, como pode ser verificado em pesquisa realizada por Maraschin-Silva e Aquila (2006) ao testar os extratos de folhas de cinco espécies nativas, entre as quais *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. & Boer (Moraceae), produzidos com água quente e fria e diluídos a 2 e 4%. Os quais não afetaram o percentual de germinação das sementes da espécie receptora (alface), porém interferiu no tempo médio de germinação das mesmas.

Já o extrato etanólico de folhas de *F. gomelleira* provocou inibição na germinação a partir 25% de concentração, sendo mais efetivo a 50 e 100%, (Figura 9). Nas concentrações 50 e 100% a percentagem de germinação foi mínima ou nula.

Resultado similar foi descrito por Mandal et al. (2010) ao usar o extrato etanólico das folhas e cascas de *Ficus bengalensis* L. e verificar a inibição da germinação de sementes de *Vigna radiate* (feijão-da-china), que atribuíram tal ação aos aleloquímicos presentes no referido extrato e que possivelmente podem ter atuado como herbicida natural.



**Figura 9-** Porcentagem de sementes de *Lactuca sativa* germinadas, submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Ficus gomelleira* em diferentes concentrações.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ )

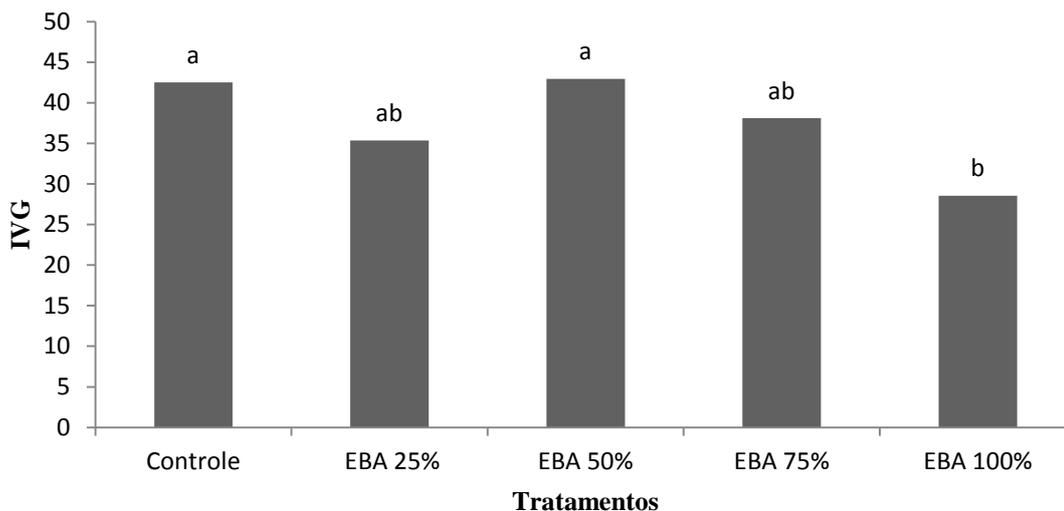
Conforme Carvalho e Nakagata (1980) e Souza Filho et al. (2006) a germinação depende de uma série de processos metabólicos como por exemplo, os sistemas enzimáticos incluindo as hidrolases, isomerases, oxigenases, oxidoredutases, polimerases, fosfatases, proteínas fosfoquinases e aminoácido oxidases, assim qualquer substância que interfira nesses processos pode inibi-la.

### Índice de velocidade de germinação (IVG)

Quanto ao índice de velocidade de germinação, o extrato aquoso de *F. gomelleira* a 25, 75 e 100% de concentração retardou o índice de velocidade de germinação das sementes de alface, contudo tal redução só foi significativa em relação às sementes

submetidas ao extrato a 100% de concentração (Figura 10). Já o IVG das sementes de alface submetidas aos extratos etanólico de *F. gomelleira* a 25, 50 e 100%, foi reduzido de modo significativo ao nível de 1% (Figura 11).

Segundo Ferreira e Borghetti (2004), o efeito alelopático frequentemente, não se pronuncia através da redução da germinação das sementes (percentual final de germinação), mas sobre a velocidade de germinação.

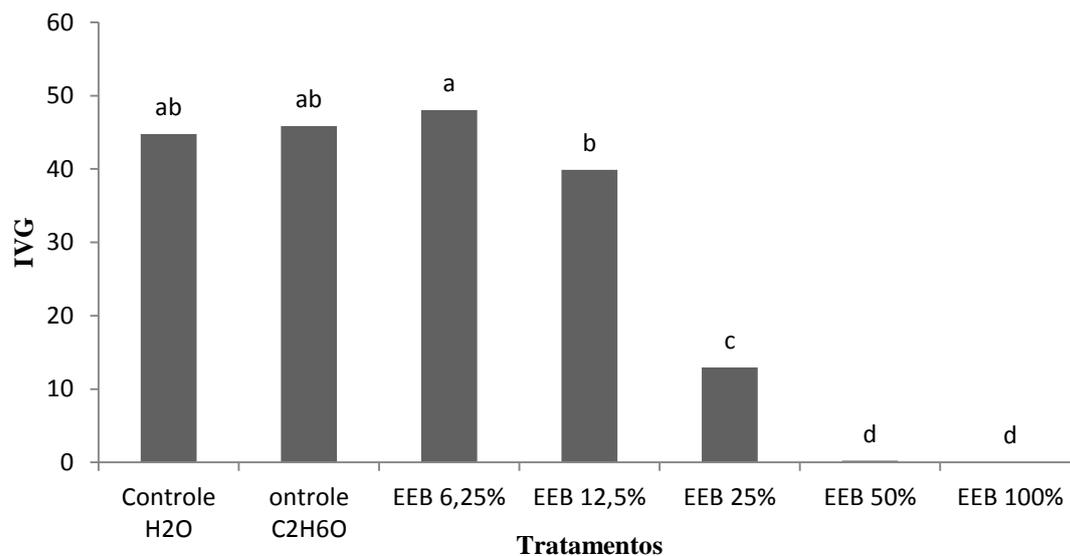


**Figura 10-** Índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Ficus gomelleira* em diferentes concentrações.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ).

Para Ferreira e Aquila (2000) o efeito visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os estudos sobre o efeito de aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de efeitos ocorridos a nível celular existindo poucas informações sobre estes mecanismos.

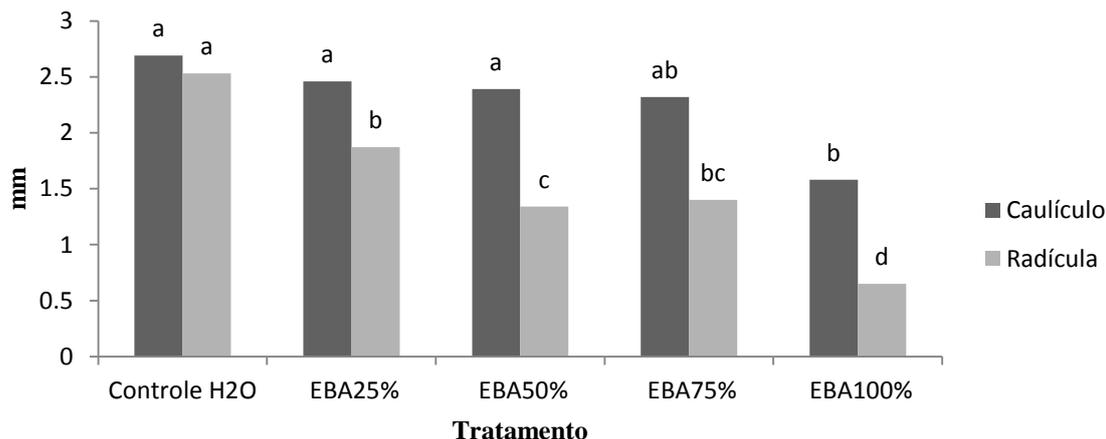


**Figura 11-** Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Ficus gomelleira*. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ )

### Comprimento do caulículo e radícula

Foi observada uma redução significativa no comprimento do caulículo das plântulas de *L. sativa* submetida ao extrato aquoso das folhas a 100% de concentração. Já o desenvolvimento da radícula das plântulas de alface foi inibido de forma significativa pelo extrato de *Ficus gomelleira* em todas as concentrações testadas (Figura 12).

Maraschin-Silva e Aqüila (2006) encontraram resultados similares, em relação ao crescimento inicial de plântulas de alface, submetidas aos extratos de *Cecropia pachystachya* Trec. (Urticaceae), *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Fabaceae), *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schldl (Rubiaceae), *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax (Euphorbiaceae) e *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. & Boer (Moraceae) tendo sido observado pelos referidos autores um efeito mais acentuado em relação a inibição do crescimento da radícula; Chung, Ahn e Yun (2001) sugerem um efeito alelopático mais efetivo sobre as raízes devido a um maior contato destas com a solução de aleloquímicos.



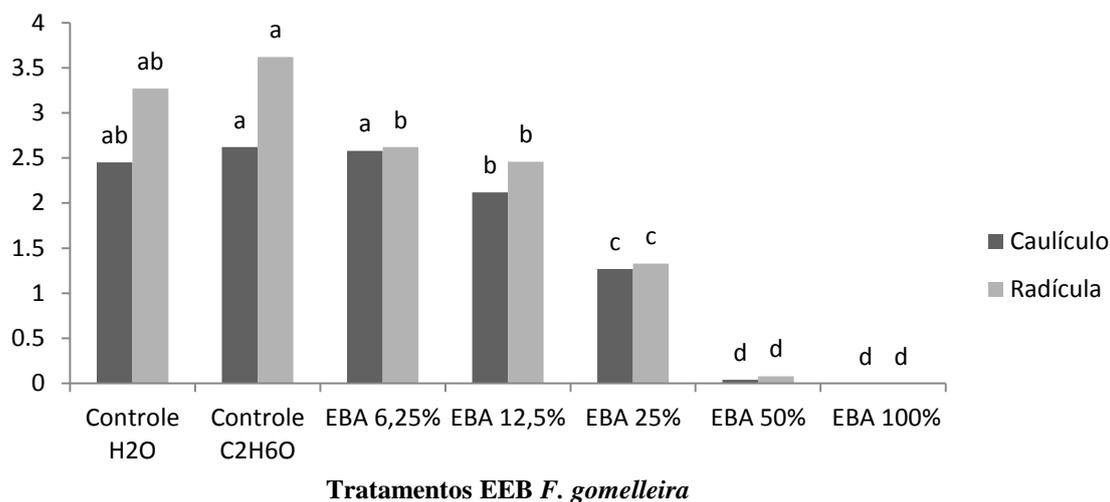
**Figura 12-** Comprimento do caulículo e da radícula de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Ficus gomelleira* em diferentes concentrações.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ).

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

O extrato etanólico das folhas de *Ficus gomelleira* também afetou de forma negativa o desenvolvimento das plântulas de alface, nas concentrações de 25, 50 e 100% promovendo uma diminuição no comprimento do caulículo e da radícula (Figura 13). Resultados similares foram obtidos por Mandal et al. (2010) com o extrato etanólico das cascas de *Ficus benghalensis*, inibindo o comprimento da parte aérea e das raízes do feijão-da-china.



**Figura 13-** Comprimento do caulículo e da radícula das plântulas de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Ficus gomelleira* em diferentes concentrações.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

### Potencial hidrogeniônico dos extratos aquosos e etanólicos de *Ficus gomelleira* Kunth

O pH do extrato aquoso de *F. gomelleira* nas diferentes concentrações variou de 3,13 a 3,33 (Tabela 6). Larcher (2000) ressaltou que valores de pH na faixa entre 6,0 – 7,5 favorecem os processos bioquímicos e a nutrição vegetal. Assim, foi necessário a correção do pH dos extratos aquosos de folhas frescas de *F. gomelleira*.

**Tabela 6-** Potencial Hidrogeniônico (pH) do extrato de *Ficus gomelleira* com valores de correção.

<b>EXTRATOS</b>				
<b>Concentrações</b>	<b>Aquoso</b>		<b>Etanólico</b>	
	<i>pH normal</i>	<i>pH corrigido com KOH</i>	<i>pH normal</i>	<i>pH corrigido com KOH</i>
<b>6,25</b>	-	-	6,7	-
<b>12,5</b>	-	-	6,4	-
<b>25</b>	3,13	6,80	6,13	-
<b>50</b>	3,20	6,08	6,09	-
<b>75</b>	3,27	6,03	-	-
<b>100</b>	3,33	6,04	6,01	-

**KOH:** Solução de hidróxido de potássio a 1% de Concentração

Todos os dados relacionados aos parâmetros descritos anteriormente estão sintetizados na tabela 7.

**Tabela 7-** Efeito de diferentes concentrações de extratos aquoso e etanólico de folhas frescas de *Ficus gomelleira* Kunth sobre a porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento radicular e da parte aérea de plântulas de alface.

Tratamentos	Extrato Aquoso				Extrato Etanólico			
	PG (%)	IVG (plant./dia)	C.C(cm)	C.R (cm)	PG (%)	IVG (plant./dia)	C.C(cm)	C.R (cm)
Con. H <sub>2</sub> O	86 a <sup>ns</sup>	42.49 a <sup>*</sup>	2.69 a <sup>*</sup>	2.53 a <sup>**</sup>	91 a <sup>**</sup>	44.76 ab <sup>**</sup>	2.45 ab <sup>**</sup>	3.27 ab <sup>**</sup>
Con. C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	-	-	-	-	93 a	45.86 ab	2.62 a	3.62 a
6,25 %	-	-	-	-	94 a	48.01a	2.58 a	2.62 b
12,5 %	-	-	-	-	80 a	39.90 b	2.12 b	2.46 b
25 %	88 a	35.34 ab	2.46 a	1.87 b	59 b	12.92 c	1.27 c	1.33 c
50 %	91 a	42.96 a	2.39 a	1.34 c	2 c	0.21 d	0.04 d	0.08 d
75 %	88 a	38.09 ab	2.32 ab	1.40 bc	-	-	-	-
100 %	79 a	28.56 b	1.58 b	0.65 d	0 c	0.00 d	0.0 d	0.00 d
CV%	9,22	18,43	17,36	17,31	13,46	13,22	13,29	24,33

(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Con: Controle; Palnt: Planta PG: porcentagem de germinação; IVG: Índice de Velocidade de Germinação; C.C: Comprimento caulículo; C.R.: Comprimento radícula. C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O: Etanol 66%. CV% coeficiente de variação em porcentagem.

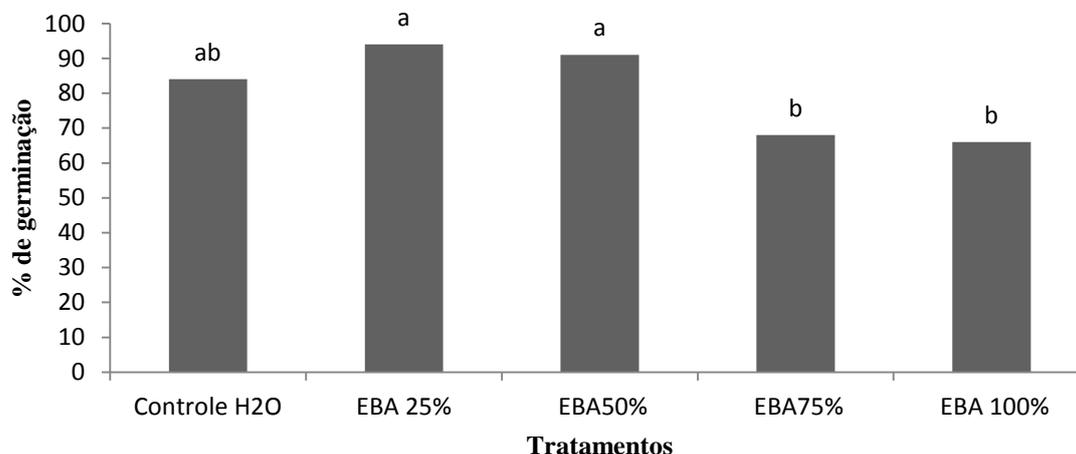
## 4.2. Efeito do extrato aquoso e etanólico das folhas de *Clusia nemorosa* sobre a germinação e desenvolvimento de *Lactuca sativa*

### Porcentagem de Germinação

O extrato aquoso das folhas de *C. nemorosa* (Clusiaceae) provocou uma diminuição no percentual de germinação das sementes de *L. sativa* na concentração de 75 e 100%; enquanto que as concentrações de 25 e 50% provocou um aumento no percentual de germinação (Figura 14).

Oliveira et al., (2011) ao pesquisar o potencial alelopático do extrato aquoso de folhas frescas de *Rhedia brasiliensis* (Mart.) Planch. & Triana (Clusiaceae) conhecida popularmente por bacuri, sobre a germinação de alface, verificaram que as sementes submetidas ao extrato a 20% de concentração sofreram uma inibição da germinação.

Em outras espécies de Clusiaceae não foi verificado tal efeito como pode ser observado em pesquisa realizada por Gatti, Perez e Ferreira (2007) sobre a ação alelopática de espécies do Cerrado entre as quais *Kielmeyera coriacea* (Spreng.) Mart. (Clusiaceae) não sendo observada interferência em relação à porcentagem de germinação em sementes de alface e gergelim.



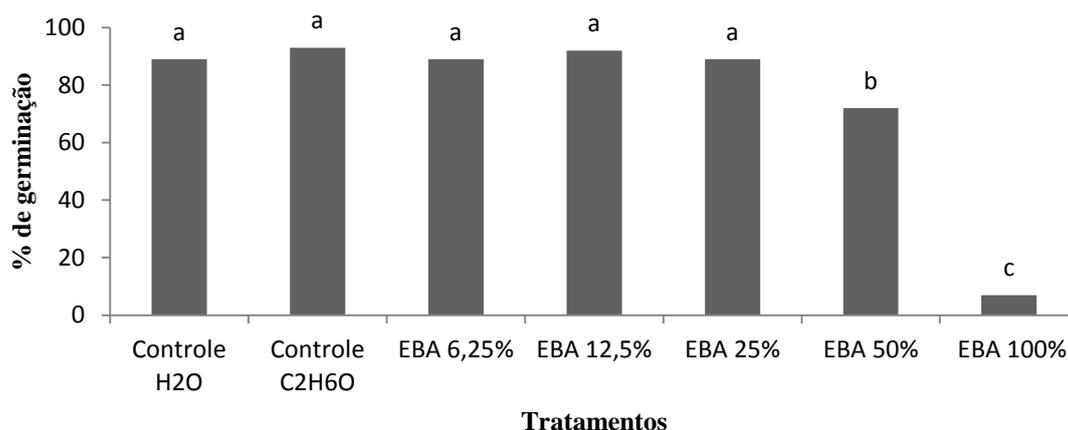
**Figura 14**-Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa*, submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

As sementes de alface submetidas ao extrato etanólico foram afetadas de forma negativa na concentração de 50 e 100%, uma vez que o percentual de germinação das mesmas foi reduzido (Figura 15).

Souza Filho et al., (2009) ao determinar os efeitos alelopáticos do extrato hidroalcoólico de folhas de *Mansoa standleyi* (Steerm.) A.H. Gentry (Bignoniaceae), popularmente conhecida por cipód'algo verificou que as concentrações de 1e 2% inibiram a germinação em 100% de *Mimosa pudica* L. Fabaceae/Mimosoideae (malícia).



**Figura 15-** Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações.

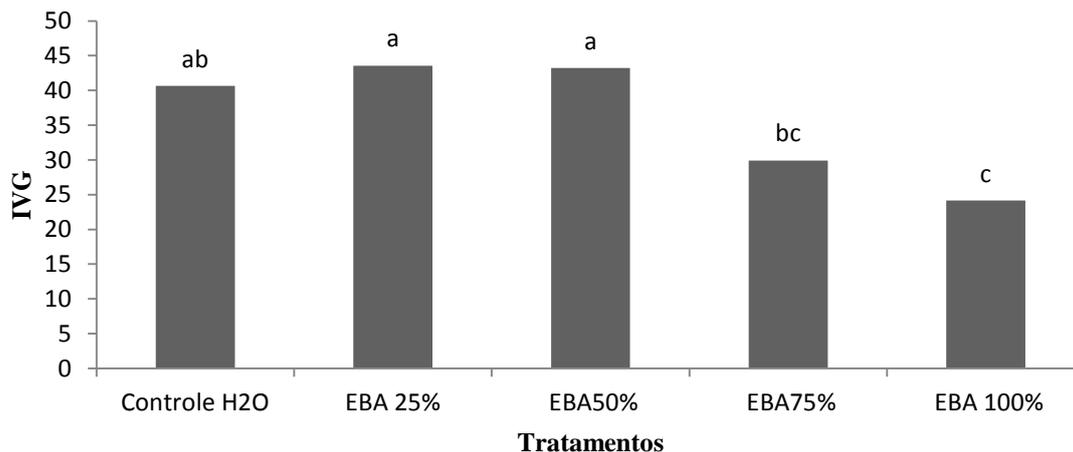
Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ )

### Índice de velocidade de germinação (IVG)

O índice de velocidade de germinação das sementes de alface submetidas ao extrato aquoso de *Clusia nemorosa* a 75 e 100% de concentração foi diminuído (Figura 16). Nossos resultados corroboram com os obtidas por outros autores trabalhado com outras espécies de Clusiaceae como é o caso de Oliveira et al. (2011) ao constatar que o extrato aquoso do bacupari (Clusiaceae) a 20% de concentração, reduziu o IVG das sementes de alface, enquanto nas concentrações de 16, 12, 8 e 4% não foi verificado nenhum efeito.

Wandscheer et al. (2011) também verificaram a inibição do IVG das sementes de alface submetidas ao extrato de *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae), corroborando com os resultado desta pesquisa, já que ambos os testes interferiram na velocidade da germinação de alface.



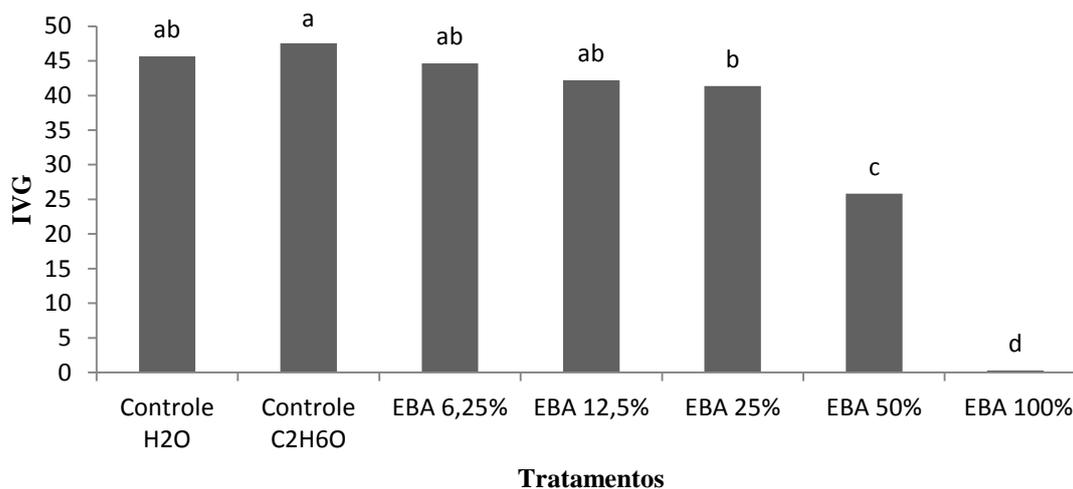
**Figura 16-** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ )

O extrato etanólico de *C. nemorosa* inibiu o índice de velocidade de germinação das sementes de alface submetidas ao extrato a 25, 50 e 100% de concentração, em relação ao grupo controle constituído por  $C_2H_6O$ .

Miranda e Mayworm (2008) em ensaios realizados com extrato etanólico das folhas de *Clusia criuva* Camb. (Clusiaceae) verificaram uma interferência significativa no IVG das sementes de *L. sativa*, corroborando com os resultados obtidos em nossa pesquisa.



**Figura 17-** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Clusia nemorosa* em diferentes concentrações.

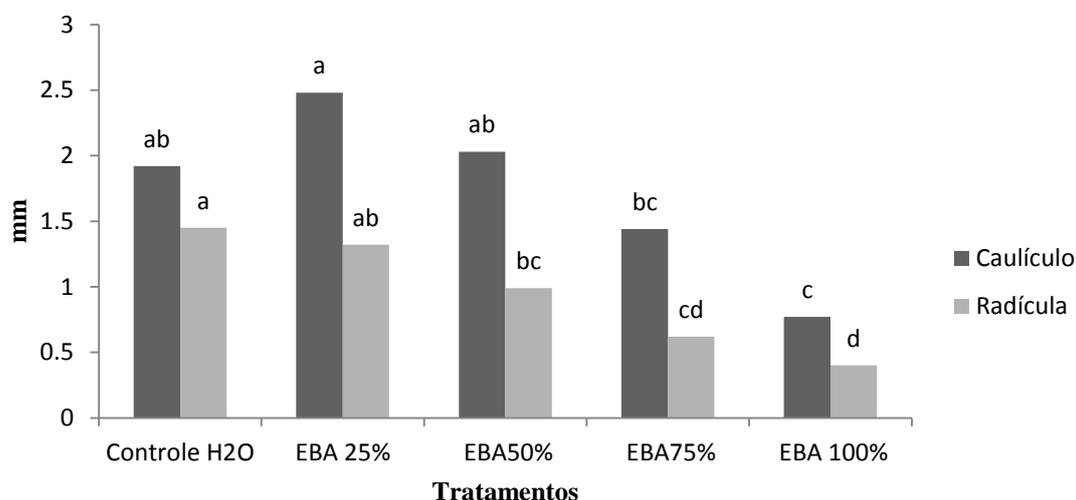
Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

### Comprimento do caulículo e radícula

O extrato aquoso das folhas de *Clusia nemorosa* afetou de forma negativa o desenvolvimento das plântulas de alface promovendo uma diminuição no comprimento do caulículo das plântulas submetidas ao extrato nas concentrações de 75 e 100%, e da radícula nas concentrações de 50, 75 e 100% (Figura 18).

Segundo Maraschin-Silva e Aqüila (2010) os efeitos alelopáticos geralmente tendem a ser dependentes da concentração dos aleloquímicos, ou seja, quanto maior a concentração maior é o efeito. Entretanto, Reigosa et al. (1999) afirmaram que os efeitos alelopáticos podem escapar deste padrão, já que resultam do somatório de uma série de alterações moleculares como, a formação de pontes anafásicas, micronúcleos e pontes telofásicas.

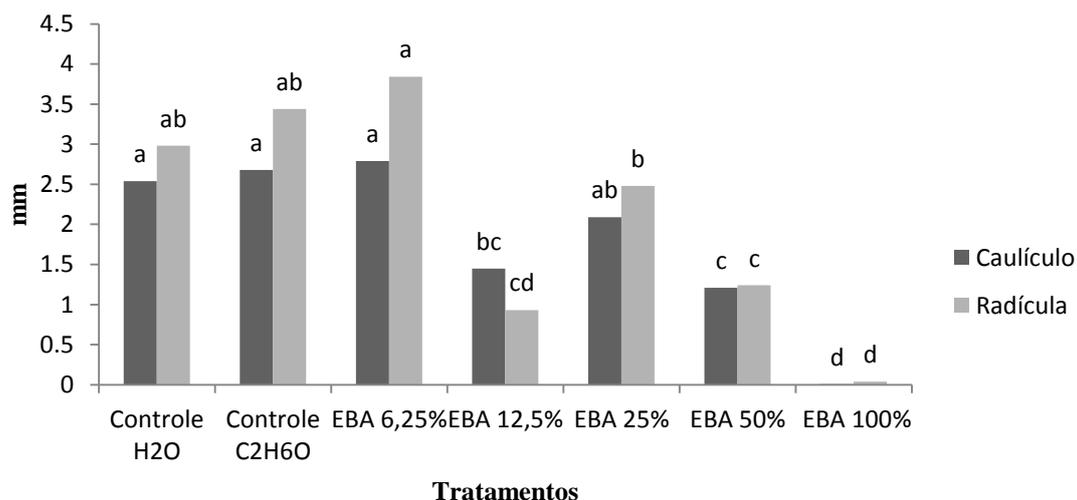


**Figura 18-** Comprimento do Caulículo e da Radícula de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Aquoso Bruto (EBA) das folhas de *Clusia nemorosa*.

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

Foi observada uma redução significativa no comprimento do caulículo e da radícula das plântulas de *L. sativa* submetidas ao extrato etanólico das folhas de *Clusia nemorosa* a 12,5; 50 e 100% de concentração (Figura 19). Miranda e Mayworm (2008) observaram que extratos do caule e folha de *Clusia criuva* reduziram significativamente o comprimento do eixo hipocótilo-radicular de plântulas de alface em comparação com as plântulas do grupo controle.



**Figura 29-** Comprimento do Caulículo e da Radícula de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Etanólico Bruto (EEB) das folhas de *Clusia nemorosa*. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (\*\*) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

#### Potencial hidrogeniônico dos extratos aquosos e etanólicos de *Clusia nemorosa*

O pH do extrato etanólico de *C. nemorosa* em todas as concentrações variou de 3,65 a 4,25 tendo sido feita a correção como pode ser observado na tabela 8.

Borella, Tur e Pastorini (2010) ressaltam que verificar o pH em testes de alelopátia é muito importante, pois faixas muito ácidas (abaixo de 4,0) ou muito alcalinas acima de 10, podem causar efeitos deletérios e afetar a germinação das sementes e/ou o desenvolvimento de plântulas, dando uma falsa impressão de atividade alelopática.

**Tabela 8-**Potencial Hidrogeniônico (pH) dos extrato aquosos e etanólicos de *Clusia nemorosa*, com valores de correção.

<b>EXTRATOS</b>				
<b>Concentração</b>	<b>Aquoso</b>		<b>Etanólico</b>	
<b>Tratamento</b>	<i>pH normal</i>	<i>pH corrigido com KOH</i>	<i>pH normal</i>	<i>pH corrigido com KOH</i>
<b>6,25</b>	-	-	4,25	6,40
<b>12,5</b>	-	-	4,20	6,00
<b>25</b>	6,00	-	3,89	6,40
<b>50</b>	5,97	-	3,75	6,14
<b>75</b>	5,98	-	-	-
<b>100</b>	5,92	-	3,65	6,00

**KOH:** Solução de hidróxido de potássio a 1% de concentração

Todos os dados relacionados aos parâmetros descritos anteriormente estão sintetizados na tabela 9.

**Tabela 9-** Efeito de diferentes concentrações de extratos aquoso e etanólico de folhas frescas de *Clusia nemorosa* G. Mey. sobre a porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento radicular e da parte aérea de plântulas de alface.

Tratamentos	Extrato Aquoso				Extrato Etanólico			
	PG (%)	IVG (plant./dia)	C.C (cm)	C.R (cm)	PG (%)	IVG (plant./dia)	C.C (cm)	C.R (cm)
<b>Con. H<sub>2</sub>O</b>	84 ab*	40.65 ab**	1.92 ab**	1.45 a**	89 a**	45.64 ab**	2.54 a**	2.98ab**
<b>Con. C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O</b>	-	-	-	-	93 a	47.55 a	2.68 a	3.44 ab
<b>6,25 %</b>	-	-	-	-	89 a	44.63 ab	2.79 a	3.84 a
<b>12,5 %</b>	-	-	-	-	92 a	42.18 ab	1.45 bc	0.93 cd
<b>25 %</b>	94 a	43.55 a	2.48 a	1.32 ab	89 a	41.37 b	2.09 ab	2.48 b
<b>50 %</b>	91 a	43.22 a	2.03 ab	0.99 bc	72 b	25.83 c	1.21 c	1.24 c
<b>75 %</b>	68 b	29.9 bc	1.44 bc	0.62 cd	-	-	-	-
<b>100 %</b>	66 b	24.14 c	0.77 c	0.4 d	7 c	0.28 d	0.008 d	0.04 d
<b>CV%</b>	13.619	16.753	24.790	23.471	8.913	7.739	21.63795	27.23055

(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p < 0,05$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Con: Controle; Palnt: Planta PG: porcentagem de germinação; IVG: Índice de Velocidade de Germinação; C.C: Comprimento caulículo; C.R.: Comprimento radícula. C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O: Etanol 66%. CV% coeficiente de variação em porcentagem.

### 4.3 Atividade moduladora e prospecção química do extrato etanólico das folhas de *Ficus gomelleira* Kunth

A caracterização fitoquímica mostrou a presença de fenóis e flavonoides (Tabela 10). Os ensaios antibacterianos e antifúngicos do extrato etanólico das folhas de *Ficus gomelleira* não demonstraram resultados relevantes, com MICs  $\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$ .

**Tabela 10-** Classe de metabólitos secundários identificados no extrato etanólico de folhas de *Ficus gomelleira*.

Classes de metabólitos	Presença ou ausência
Alcalóides	-
Antocianidinas	-
Antocianinas	-
Auronas	-
Catequinas	+
Chalconas	-
Fenóis	+
Flavonas	+
Flavonóis	+
Flavononas	+
Flavononóis	+
Leucoantocianidinas	-
Taninos Flobabênicos	-
Taninos Pirogálicos	-
Xantonas	+

+ presença; -, ausência

Já à atividade moduladora do referido extrato frente à aminoglicosídeos, revelou atividade sinérgica quando combinada com amicacina, neomicina gentamicina em *Escherichia coli* 27 reduzindo a CIM de 625 a 39,06 $\mu\text{g/ mL}$ , 312,5 a 78,125 $\mu\text{g/ mL}$  e 156,25 a 9,76 $\mu\text{g/ mL}$ , respectivamente, desta bactéria Gram-negativa e modulou sinergicamente também ação da amicacina de 78,125 a 39,06 $\mu\text{g/ mL}$  em *Staphylococcus aureus* 358 Gram-positiva, em relação à *Pseudomonas aeruginosas* 03 não revelou atividade moduladora, antagônica e sinérgica (Tabela 11). A combinação do extrato com antifúngicos não mostrou qualquer atividade moduladora contra cepas de *Candida sp.*

**Tabela 11-** Extrato etanólico das folhas de *Ficus gomelleira* em concentração subinibitória (MIC/8 µg/mL), modulando a atividade antibacteriana com aminoglicosídeos.

<b>Modulação de Antibióticos por EEFG</b>						
<b>Extrato/ Antibiótico</b>	<i>Escherichia coli 27</i>		<i>Staphylococcus aureus 358</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa 03</i>	
	<b>CIM Ant.</b>	<b>EEFG + Ant.</b>	<b>CIM Ant.</b>	<b>EEFG + Ant.</b>	<b>CIM Ant.</b>	<b>EEFG + Ant.</b>
EEFG/ Amicacina	625	39,06	78,125	39,06	78,125	39,06
EEFG/ Nomicina	312,5	78,125	1250	1250	1250	1250
EEFG/ Gentamicina	156,25	9,76	9,76	9,76	9,76	9,76

**Produto natural isolado (*Ficus gomelleira*) CIM ≥ 1024 µg/ mL**

**Ant.:** Antibiótico; **CIM:** Concentração Inibitória Mínima **EEFG:** Extrato etanólico de *Ficus gomelleira*

Mandal et al. (2010) verificaram que os extratos aquoso e metanólico das cascas de *F. bengalensis* não inibiu a concentração inibitória mínima de *E. coli*. corroborando com nossos resultados. Entretanto, verificaram que o extrato aquoso inibiu a CIM de *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus subtilis* bactérias Gram-positivas.

Reschke, Marques e Mayworm (2007) observaram que extratos etanólicos das folhas de *F. benjamina*, inibiram as cepas de *Staphylococcus aureus* na concentração de 512mg/mL, sendo mais efetivo sobre *Pseudomonas aeruginosa* cujas cepas foram inibidas na concentração 256µg/mL. Mousa et al. (1994), testando extratos de fruto de *F. benjamina*, *F. sycomorus*, *F. benghalensis* e *F. religiosa* observaram a presença de halos de inibição no crescimento de 22 Cepas de bactérias, entre elas, *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e *P. aeruginosa*. Desta forma, estes estudos comprovam a eficácia das espécies de *Ficus* sobre a inibição do crescimento bacteriano.

Os mecanismos pelos quais os extratos podem inibir o crescimento de microrganismos são variados, e podem ser em parte devido à natureza hidrofóbica de alguns componentes. Como resultado, eles podem mostrar uma maior interação com a bicamada lipídica da membrana celular, afetando a cadeia respiratória e a produção de energia (NICOLSON; EVANS; O'TOOLE, 1999). Vários componentes de extratos podem permear a membrana celular, e aumentar a penetração de antibióticos

(HELANDER et al., 1998). A interferência nos sistemas de enzimas bacterianas pode ser também um mecanismo potencial de ação (WENDAKOON; SAKAGUCHI, 1995). Estes mecanismos de ação podem ser obtidos pela combinação do antibiótico com extrato em concentração de relevância clínicas, aplicados diretamente ao meio de cultura (COUTINHO et al., 2008; 2009).

A bioatividade observada do extrato modulando a ação de antibióticos deve-se também a presença dos flavonóides demonstrado no perfil fitoquímico EEFG. Estes efeitos de modulação podem estar relacionados às propriedades inibitórias que os flavonóides desempenham, nos vários sistemas enzimáticos incluindo hidrolases, isomerases, oxigenases, oxidoredutases, polimerases, fosfatases, proteínas fosfoquinases e aminoácido oxidases (FERGUSON, 2001). Várias subclasses de flavonóides apresentam atividade antimicrobiana e podem atuar em conjunto com as drogas testadas, aumentando a atividade das drogas em baixa dosagem.

O EEFG apresenta uma relevante atividade consorciada com aminoglicosídeos amicanina, neomicina e gentamicina sobre as cepas multirresistentes de *E. coli* 27, mostrando desenvolver sensibilidade a tais antibióticos, assim como em *S. aureus* 358 desenvolveu sensibilidade ao antibiótico amicacina. Este trabalho é pioneiro sobre a atividade modulatória contra aminoglicosídeos da espécie *Ficus gomelleira*.

#### **4.3.1 Atividade moduladora e prospecção química do extrato etanólico das folhas de *Clusia nemorosa* G. Mey.**

Os ensaios antibacterianos e antifúngicos do extrato etanólico de *Clusia nemorosa* (EECN) em nossa pesquisa não demonstraram resultados clinicamente relevantes, com MICs  $\geq 1024$ mg/mL como recomendado por Houghton et al. (2007). Entretanto, como mostra a tabela 12, a ação do EECN, frente as bactérias multirresistentes, *E. coli* 27 e *S. aureus* 358 modulou sinergicamente a ação da amicacina, neomicina, e gentamicina o mesmo também modulou a bactéria *P. aeruginosa* 03 somente com amicacina e gentamicina.

**Tabela 12-** Extrato etanólico das folhas de *Clusia nemorosa* ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) modulando a atividade antibacteriana de aminoglicosídeos.

Modulação de Antibióticos por EECN						
Extrato/ Antibiótico	<i>E. coli</i> 27		<i>S. aureus</i> 358		<i>P. aeruginosa</i> 03	
	CIM Ant.	EECN + Ant	CIM Ant.	EECN + Ant	CIM Ant.	EECN + Ant
EEFG/ Amicacina	19,53	4,88	39,06	9,76	156,25	39,06
EEFG/ Nomicina	156,25	39,06	156,25	39,06	1250	625
EEFG/ Gentamicina	9,76	2,44	312,5	19,53	39,06	9,76

**Produto natural isolado** (*Clusia nemorosa*) CIM  $\geq$  1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$

**Ant.:** Antibiótico; **EEFG:** Extrato etanólico de *Ficus gomelleira*

A prospecção fitoquímica mostrou que o principal grupo de metabólitos presente no extrato etanólico de *C. nemorosa* são os compostos fenólicos e especificamente os flavonóides, onde podemos encontrar flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis e flavononas. Compostos estes com atividade microbiológica comprovada. Os resultados para os extratos estudados são apresentados na tabela 13.

**Tabela 13-** Classe de metabólitos secundários identificados no extrato etanólico de folhas de *Clusia nemorosa*.

Classes de metabólitos	Presença ou ausência
Alcalóides	-
Antocianidinas	-
Antocianinas	-
Auronas	-
Catequinas	-
Chalconas	-
Fenóis	+
Flavonas	+
Flavonóis	+
Flavononas	+
Flavononóis	+
Leucoantocianidinas	-
Taninos Flobabênicos	-
Taninos Pirogálicos	-
Xantonas	+

+ presença; -; ausência

Ribeiro et al. (2011) avaliando a atividade de compostos isolados e também de extratos polares provindos de *Clusia burllemarxii*, verificaram que houve atividade contra Gram-positivas dentre elas *S. aureus*, onde o extrato etanólico das folhas obteve uma CIM de 62,5µg/ml embora não tenha observado atividade em Gram-negativas. Os resultados dos referidos autores corroboram com os obtidos em nossa pesquisa. Do mesmo modo Suffredini, et al. (2006) pesquisando extratos etanólicos de *C. columnaris* frente a Cepas bacterianas determinou uma CIM para a Gram-negativa *P. aeruginosa*, igual a 180µg/ml, mostrando similaridade com nossos resultados.

Os compostos fenólicos naturais têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (HASLAM, 1996). Os flavonóides são sintetizados por plantas em resposta à infecção microbiana (DIXON; DEY; LAMB, 1983) e são eficazes contra uma ampla variedade de microrganismos. Tal atividade provavelmente se deve à sua capacidade de formar complexos com proteínas solúveis que se ligam à parede celular bacteriana. Alguns flavonóides lipofílicos podem também causar ruptura da membrana plasmática de microrganismos (TSUCHIYA et al., 1996).

O uso popular de espécies de *Clusia* está relacionado à presença de látex e resinas, sendo popularmente utilizados como febrífugas, anti-reumáticas, purgativas e para problemas estomacais (CARMO; FRANCESCHILENE, 2002). Muitas espécies desse gênero apresentam látex contendo terpenóides, benzofenonas, flavonóides e outros compostos fenólicos (CHEDIER et al., 1999; LOKVAM et al., 2000). Além disso, elementos da família Clusiaceae, possuem também outras propriedades farmacológicas como ação antiinflamatória, antimicrobiana, antifúngica e citotóxica (PINHEIRO et al., 2003).

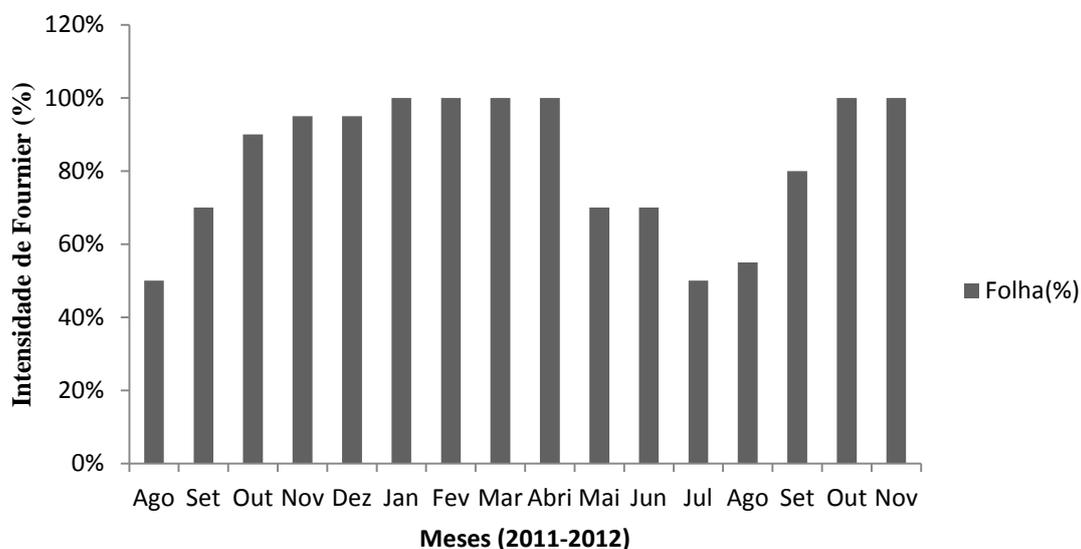
#### **4.4 Aspectos fenológicos de *Ficus gomelleira***

Verificou-se que todos os indivíduos apresentaram uma redução foliar em média de 50% de acordo com o índice de Fournier, não chegando a perder 100% de suas folhas, no período de observação. A queda foliar coincidiu com o período de estiagem (agosto-setembro); concomitantemente a esta ocorrência teve início o brotamento de folhas novas, ao ponto de se observar em um espécime 50% de folhas velhas e 50% de folhas jovens. Tais eventos fenológicos foram observados de forma mais efetiva naqueles

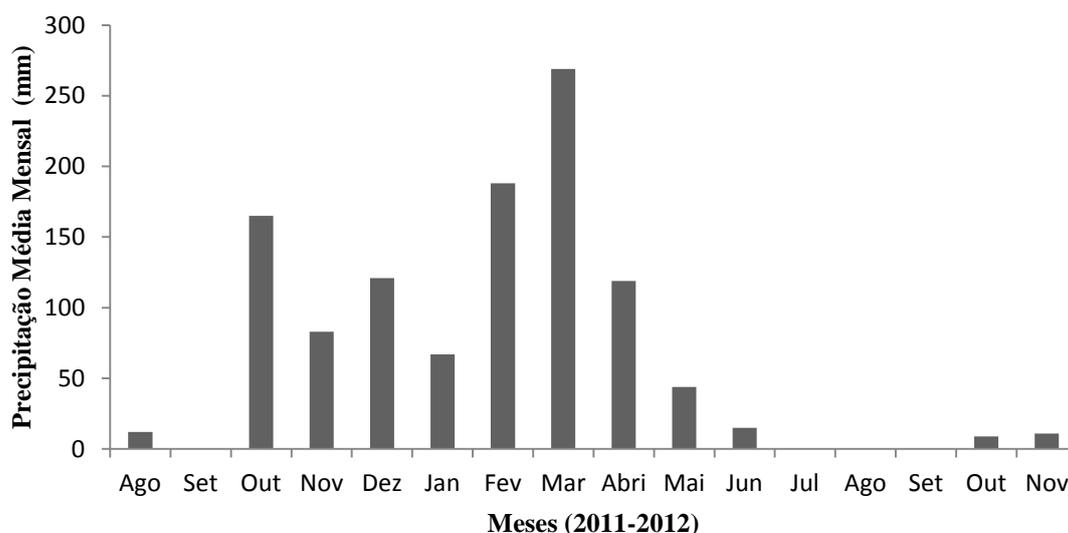
indivíduos que aparentemente apresentavam um estado de amadurecimento mais perceptível (Figura 20).

Resultados semelhantes foram encontrados por Ballestrini, Tezara e Herrera (2011) ao monitorar a perda foliar de *Ficus obtusifolia* em 2003, quando perceberam que apenas 50% das folhas foram perdidas antes da estação chuvosa.

De acordo com Reich e Borchert (1984), em árvores tropicais, as mudanças fenológicas podem ocorrer de forma assíncrona por períodos relativamente curtos durante os equinócios, independentemente do padrão de precipitação sazonal.



**Figura 203-** Brotamento e queda foliar de *Ficus gomelleira* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012, em uma área de APA na encosta da Chapada do Araripe, Crato-CE.

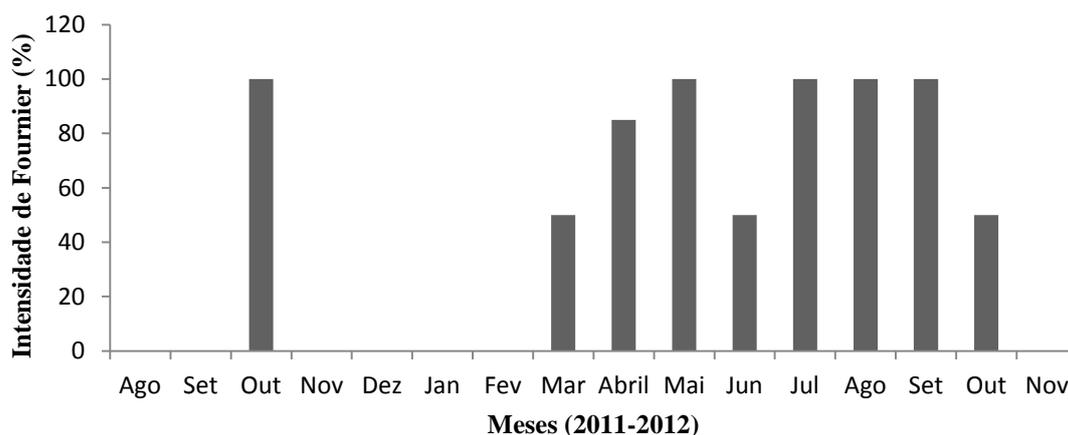


**Figura 21-** Precipitação média mensal no posto Belmonte, Crato-CE.

A produção dos sicônios de *F. gomelleira*, ocorreu em outubro de 2011 e de março a outubro de 2012 incluindo períodos de estiagem, levando a crêr que a referida espécie, pode ser consideradas espécie chave para a manutenção da fauna, no período onde há escassez de alimento. Durante quase todo o ano, as figueiras se mantem frutificadas e também ocorre um assincronismo entre os indivíduos, caracterizado por períodos de frutificação distintos entre eles. Indivíduos observados em outras localidades como no Sítio Farias Barbalha-Ce, apresentaram frutificação no mês de dezembro no ano de 2012. A maioria dos espécimes observados (70%) apresentou padrão subanual para a frutificação, com sucessivas frutificações no mesmo ano, porém no mês de outubro de 2011, foi observada frutificação em somente um indivíduo. A floração e frutificação demonstraram ser curta, com duração em média de um mês (Figura 22).

Através de estudos realizados no Panamá foi também verificado que picos de reprodução de espécies de *Ficus* podem se encaixar com períodos de escassez de frutos por parte de outras espécies, o que além de incorporar os sicônios na dieta de animais frugívoros, minimiza a competição interespecífica pelos agentes disseminadores (WINDSOR et al., 1989).

Espécies estranguladoras como *Ficus clusiifolia* Schott. atinge grande porte e apresenta uma abundante produção de sicônios pequenos e comestíveis, muito apreciados pela fauna nativa (CARAUTA, 1989).

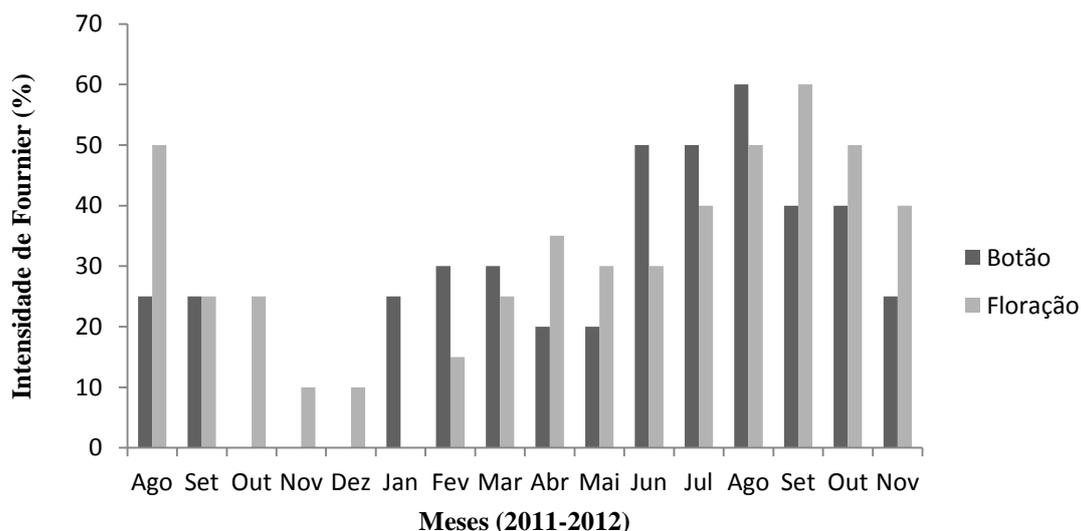


**Figura 4-** Período de floração e frutificação de *Ficus gomelleira* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de APA na encosta Chapada do Araripe, Crato-CE.

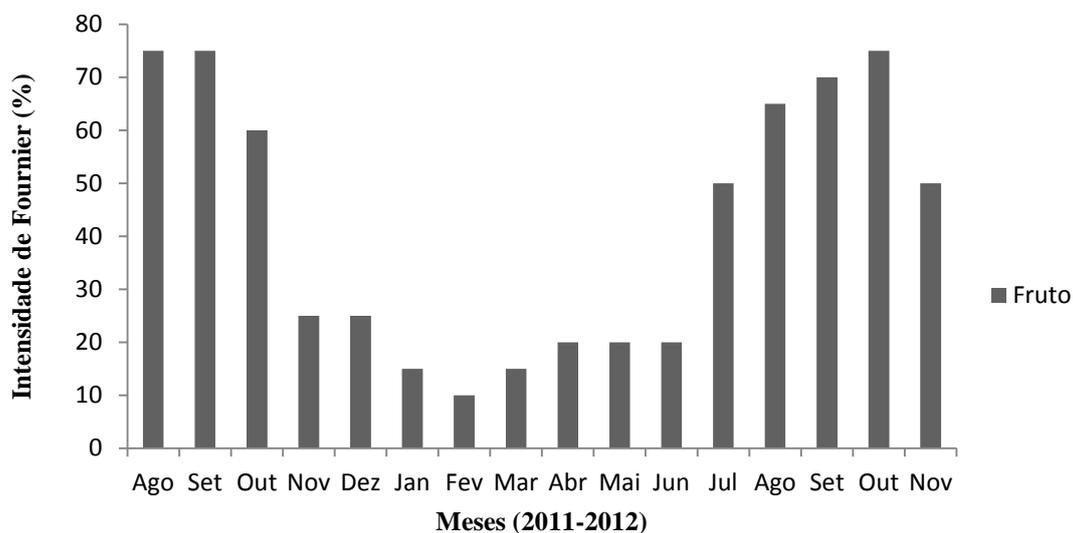
#### 4.4.1 Aspectos Fenológicos de *Clusia nemorosa*

Com relação ao processo de brotamento e caducidade foliar, *Clusia nemorosa* demonstra ter uma perenidade, apresentando constantemente botões foliares e folhas jovens. Uma observação importante sobre este aspecto foi à mudança de folhas no mês de outubro prosseguindo até meados de novembro. Indivíduos com perda total de folhas não foram observados. Este processo de mudança das folhas pode estar atrelado ao início das chuvas, que ocorrem no mês de outubro e se estendem até meados de dezembro.

A incidência de botões florais e a floração mostra certo sincronismo (Figura 23). O pico de floração em 2012 ocorreu de agosto a setembro, período de estiagem de acordo com acompanhamento do índice de pluviométrico mensal disponibilizado pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. Sendo assim *C. nemorosa* também pode ser uma importante fonte de alimento para a fauna nos períodos de estiagem. Analizando a mesma figura, percebemos que em todos os meses do ano ocorreu um dos dois fenômenos fenológicos, predominando a floração e, conseqüentemente como observado na figura 24, à presença e frutos em *C. nemorosa* é anual, mostrando que tanto a floração quanto a frutificação são contínuos com curtos intervalos no mesmo ano. No entanto, o período de pico nos dois anos de observação é justamente o momento mais crítico pela escassez de chuvas, indicando que outro fator, como o ciclo circadiano pode ser responsável pela manifestação dos frutos na espécie em estudo.



**Figura 235-** Período de floração de *Clusia nemorosa* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de mata úmida da Chapada do Araripe, Crato-CE.



**Figura 246-** Frutificação de *Clusia nemorosa* durante os meses de agosto de 2011 a novembro de 2012 em uma área de mata úmida da Chapada do Araripe, Crato-CE.

Marques e Oliveira (2004) ao determinar o padrão de frutificação de *Clusia criuva* Camb. na Florestas de Restinga do Mel no sul do Brasil, classificou o mesmo como contínuo, assim como observado em nossa pesquisa para *C. nemorosa*, em relação a frutificação e a mudança foliar.

## CONCLUSÕES

- Os extratos etanólico de *Ficus gomelleira* (25, 50 e 100% de concentração) e aquoso (75 e 100%) e etanólico de *Clusia nemorosa* (25, 50 e 100%) influenciaram negativamente o potencial de germinabilidade de *Lactuca sativa*;
- O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi influenciado de forma negativa pelo extrato aquoso e etanólico de *Clusia nemorosa* e *Ficus gomelleira*, em todas as concentrações testadas sendo mais efetivo a 100% de concentração;
- Os extratos aquosos e etanólicos de *Clusia nemorosa* e *Ficus gomelleira* interferiram de forma negativa no desenvolvimento das plântulas de *Lactuca sativa* submetidas às maiores concentrações;
- O extrato das folhas de *Ficus gomelleira* (EEFG) e *Clusia nemorosa* (EECN) causou sinergismo em combinação com os antibióticos aminoglicosídeos. Portanto o extrato das folhas de *F. gomelleira* e *C. nemorosa* atuou como um agente modulador da atividade antimicrobiana;
- *Ficus gomelleira* e *Clusia nemorosa* apresentaram um padrão fenológico perenifólio. A ocorrência dos frutos em *Ficus gomelleira* ocorreu durante todo o ano, com mais intensidade nos períodos de estiagem (padrão subanual). Em *Clusia nemorosa* a produção de flores e frutos foi contínua.
- O principal grupo de metabolitos presente no extrato etanólico de *Ficus gomelleira* e *Clusia nemorosa* são os compostos fenólicos e os flavonóides.

## REFERÊNCIAS

ABRAHAM, L. C. N.; MASAKUNI, T.; ISAO, H.; HAJIME, T. Antioxidant flavonoid glycosides from leaves of *Ficus pumila* L. **Food Chemistry**, v. 109, p. 415-420, 2008.

ALMEIDA, G. D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista da Faculdade Agronomia**, v. 1, n. 61, p. 4237-4247, 2008.

ANDERSON, J. E.; GOETZ, C. M.; McLAUGHLIN J. L.; SUFFNESS M. A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. **Phytochemical Analysis**, v. 2, p. 107-111, 1991.

AYINDE B. A.; AGBAKWURU, U. Citotoxic and inhibitory effects of the methanol extract *Struchirum sparganophora* Ktze. (Asteraceae) leaves. **Pharmacognosy Magazine**, v. 6, p. 293-297, 2010.

AZEVEDO, F. R.; MOURA, M. A. R.; ARRAIS, M. S. B.; NERE, D. R. Composição da entomofauna da Floresta Nacional do Araripe em diferentes vegetações e estações do ano. **Revista Ceres**, v. 58, p. 740-748, 2011.

BALLESTRINI, C.; TEZARA, W.; HERRERA, A. Environmental drivers of leaf phenology in trees of the tropical species *Ficus obtusifolia*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, p. 113-122, 2011.

BERG, C.C. *Moreae, Artocapeae, and Dorstenia* (Moraceae) with introductions to the family and *Ficus* and with additions and corrections to Flora Neotropica Monograph 7. **Flora Neotropica Monograph**, v. 83, p. 1-346, 2001.

BERG, C.C.; SIMONIS, J. E. Moraceae. Flora de Venezuela. Moraceae-Cecropiaceae. **Fundación Instituto Botánico de Venezuela**, p. 5-189, 2000.

BERG, C.C.; VILAVICENCIO, X. Taxonomic studies on *Ficus* (Moraceae) in the West Indies, extra-Amazonian Brazil, and Bolivia. **Ilicifolia**, v. 5, p. 1-177, 2004.

BITTRICH, V. **Clusiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB006830>), 2013.

BRAGA, M. F. B. M. **Prospecção química do extrato etanólico das folhas de *Lygodium venustum* SW (LYGODIACEAE) e avaliação das bioatividades antioxidantes, antiepimatigota, antipromastigota, citotóxica, e antimicrobiana, de extratos e frações (in vitro)**. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular), Universidade Regional do Cariri, Crato, 228 p, 2012.

BORELLA, J.; TUR, C. M.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicon esculentum*. **Revista Biotemas**, v. 23, n. 1, p. 13- 22, 2010.

BROOKS, J. S.; FEENY, P. Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 769-782, 2004.

BUENO, N. R.; CASTILHO, R. O.; COSTA, R. B.; POTT, A.; POTT, V. J.; SCHEIDT, G. N.; BATISTA, M. S. Medicinal plants used by the Kaiowa and Guarani indigenous populations in the Caarapó, Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 39-44, 2005.

CABRAL, F.N. **As Clusiaceae Lindl. (Guttiferae Juss) S.S., Calophyllaceae J. Agardh e Hypericaceae Juss. no Parque Nacional do Viruá (Roraima) e biologia reprodutiva de *Clusia* s.p. (*Clusia nitida* Bittrich, ined).** Dissertação (Mestrado em Botânica), INPA, Manaus, 98 p, 2011.

CAMPANILI, M.; PROCHNOW, M. **Mata Atlântica: uma rede pela floresta.** Brasília: RMA, 322p, 2006.

CARAUTA, J. P. P. *Ficus* (Moraceae) no Brasil: conservação e taxonomia. **Albertoa**, v. 2, p. 1-365, 1989.

CARMO, R. M., FRANCESCHILENE, E. V. Polinização e biologia floral de *Clusia arrudae* Planchon & Triana (Clusiaceae) na Serra da Calçada, município de Brumadinho, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 505-513, 2002.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência tecnologia e produção.** Campinas: Fundação Cargill, 1980, 326 p.

CARVALHO, S. I. C. **Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. vulgaris cv. bandeirante.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 72 p, 1993.

CHEDIER, L. M.; PAIVA, S. R.; COSTA, J. L. M.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. **Jornal of High Revolution Chromatography**, v. 22, p. 527-530, 1999.

CHOU, C. H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, p. 609-630, 1999.

CHUNG, I. M.; AHN, J. K.; YUN, S. J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928, 2001.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. **BMC Complementary and Alternativa Medicine**, v. 9, p. 13, 2009.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O.; FALCÃO – SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. *In vitro* interference of *Momordica charantia* l. And

chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides, **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n.11, p. 1056-1059, 2008.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, p. 564-582, 1999.

DAMU, A. G.; KUO, P.; SHI, L.; LI, C.; KUOH, C.; WU, P.; WU, T. Phenanthroindolizidine Alkaloids from the of *Ficus septica*. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 1071-1975, 2005.

DIXON, R.A., DEY, P.M. & LAMB, C.J. Phytoalexins: enzymology and molecular biology. **Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology**, v. 55, p. 1-69. 1983.

EINHELLING, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.

EINHELLING, F. A.; LEATHER, G. R. Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, p. 1829-1844, 1988.

FEENY, N.; FOA, E.; TREADWELL, K.; MARCH, J. Posttraumatic stress disorder inouth: A critical review of the cognitive and behavioral treatment outcome literature. **Professional Psychology**, v. 35, p. 466-476. 2004.

FEENY, P. P.; BOSTOCK, H. Seasonal change in the tannin content of oak leaves. **Phytochemistry**, v. 7, p. 871-880. 1968.

FERGUSON, L. R. Role of plant polyphenols in genomic stability. **Mutation Research**, v. 475, p. 89-111, 2001.

FERNANDES, L. A. V.; MIRANDA, D. L. C.; SANQUETTA, C. R. Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze. **Revista Academica de Curitiba**, v. 5, n. 2, p. 139-146, 2007.

FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Edição especial, v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**, Porto Alegre: ARTMED, 2004. 323p.

FOURNIER, L. A. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas em árboles. **Turrialba**, v. 24, p. 422-423, 1974.

FUNCEME. Calendário das chuvas: Disponível em: < <http://www.funceme.br/index.php/areas/tempo/calendariodaschuvas> > Acesso em: 22 Dec. 2012

- GABOR, W. E.; VEATCH, C. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. **Weed Science**, v. 29, p. 155-159, 1981.
- GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. de A.; FERREIRA, A. G. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 174-176, 2007.
- GNIASZDOWSKA, A.; BOGATEK, R. Allelopathic interactions between plants. Multisite action of allelochemicals. **Acta Physiology Plant**, v. 27, p. 395-407, 2005.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 137- 147, 2000.
- HARBONE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. London: Academic. Ed 3, 1988.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 205-215. 1996.
- HELANDER, I. M.; ALAKOMI, H. L.; LATVA-KALA, K.; SANDHOLM, T. M.; POL, I.; SMID, E. J. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal Agricult Food Chemistry**, v. 46, p. 3590-5, 1998.
- HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualising an elephant. **Journal Ethnopharmacology**, v. 110, p. 391 – 400, 2007.
- INDERJIT, K. M. M.; DAKSHINI, F. A. On laboratory bioassays in allelopathy. **Botanical Reviews**, v. 61, p. 29–44, 1995.
- IPLANCE - FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PLANEJAMENTO DO CEARÁ. **Atlas do Ceará. Governo do Estado do Ceará, Secretaria do Planejamento e Coordenação – SEPLAN**, 65p, 1997.
- JALAL, M. A. F.; READ, D. J.; HASLAM, E. Phenolic composition and its seasonal variation in *Calluna vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 1397-1401, 1982.
- JAVADPOUR, M. M.; JUBAN, M. M.; LO, W. C.; BISHOP, S. M.; ALBERTY, J. B.; COWELL, S. M.; BECKER, C. L.; MCLAUGHLIN, M. L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 107–3113, 1996.
- KIM, S. K.; SAKAMOTO, I.; MORIMOTO, K.; SAKATA, M.; YAMASAKI, K.; TANAKA, O. Seasonal variation of saponins, sucrose and monosaccharides in cultivated ginseng roots. **Planta Medica**, v. 42, p. 181-186, 1981.

KHODARAHMI, G. A.; NASROLLAH, G. N.; HASSANZADEH, F.; MARZIEH, S. Cytotoxic effects of different extracts and latex of *Ficus carica* L. on HeLa cell Line. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 10, p. 273-277, 2011.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, Rima. São Paulo, 2000. 529p

LOKVAN, J.; BRADDOCK, J. F.; REICHARDT, R. B.; CLAUSEN, T. P. Two polyisoprenylated benzophenones from the trunk latex of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v. 55, p. 29-34, 2000.

MACIAS, F. A.; GALLINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G. Plant biocommunicators: Application of allelopathic studies. **In 2000 years of natural products research - past, present and future**, Ed Teus J.C. Luijendijk, p. 137-161. 2000.

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 Food and Chemistry**, v. 48, n. 66, p. 2512-2521, 2000.

MACIAS, F. A.; VARELA, R. M.; TORRES, A.; OLIVA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G. Bioactive norsesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potential allelopathic activity. **Phytochemistry**, v. 48, p. 631- 636, 1998.

MANDAL, S. G.; SHETE, R. V.; KORE K. J.; OTARI K. V.; KALE B. N.; MANNA A. K. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY & LIFE SCIENCES Review: Indian national tree (*Ficus bengalensis*). **International Journal of Pharmaceutical and Life Sciences**, v. 1, p. 268-273, 2010.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S.; The antioxidant activity and free radical scavenging potential of different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1000-1007, 2008.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza. 3 ed : Edições UFC, 2009. 150p.

MARA. Ministério da Agricultura e reforma agrária. **Regras para Análise de Sementes**. SNDA/DNDU/CLU, Brasília, 1992.

MARQUES, M. C. M.; OLIVEIRA, P. E. A. M. Fenologia de espécies do dossel e do sub-bosque de duas Florestas de Restinga na Ilha do Mel, sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 713-723, 2004.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 61-69, 2006.

MARTINS, E. G. A.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Moraceae. **Boletim Botânico**. Univ. São Paulo, v. 28, p. 69-86, 2010.

- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p. 231-238, 2003.
- MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia – importância e suas aplicações. **Horti Sul**, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.
- MILLER, D. A. Allelopathy in forage crop systems. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 854-859, 1996.
- MIRANDA, C. D. S.; MAYWORM, M. A. S. Análise do Potencial Alelopático de Extratos de *Clusia criuva* Camb. (Clusiaceae), In: Congresso de Iniciação Científica, 5<sup>a</sup> Mostra de Pós-Graduação da Universidade de Santo Amaro, 11., 2008, São Paulo. Resumos... São Paulo: Universidade de Santo Amaro, 2008. P. 673
- MOLISCH, H. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere Allelopathie**. Verlag, Jena: Gustav Fischer, p. 106, 1937.
- MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. da S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, p. 105-111, 2001.
- MOUSA, O.; VUORELA, P.; KIVIRANTA, J.; WAHAB, S. A.; HILTUNEN, R.; VUORELA, H. Bioactivity of certain Egyptian *Ficus* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 41, p. 71-6, 1994.
- NARESSI, M. A. **Estudo químico e avaliação da atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante e moluscicida de *Ficus radicans* Variegata**. Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2009.
- NDAMBA, J.; LEMMICH, E.; MØLGAARD, P. Investigation of the diurnal, ontogenetic and seasonal variation in the molluscicidal saponin content of *Phytolacca dodecandra* aqueous berry extracts. **Phytochemistry**, v. 35, p. 95-99. 1994.
- NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland Tropical Rain Forest Trees at La Selva, **Biotropica**, v. 26, p. 141-159, 1994.
- NCCLS. Performance Standards of Antimicrobial Disk Susceptibility Test: Ninth Informational Supplement. NCCLS document M100-S9. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, p. 120–126. 2008.
- NICOLSON, K.; EVANS, G.; O'TOOLE, P. W. Potentiation of methicillin activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by diterpenes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 179, p. 233-239, 1999.
- NUÑEZ, L. A.; T. ROMERO, J. L.; VENTURA, V.; BLANCAS, A. L.; ANAYA; ORTEGA, R.G. Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill. **Plant Cell Environment**, v. 29, p. 2009–2016. 2006.

- OLIVEIRA, A. K. M.; RIBEIRO, J. W. F.; MATIAS, R.; de GUSMÃO, D. H. E.; PEREIRA, K. C. L. Potencial alelopático de folhas frescas de bacupari (*Rheedia brasiliensis* (Mart.) Planch. & Triana) na germinação de alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 550-553, 2011.
- OLIVEIRA, C. C.; CABRINE, D. A.; SANTOS, E. P.; MARQUES, M. C. A.; BUCHI, D. F.; Canova medication and medicinal plants in South of Brazil. Trends and Developments in Ethnopharmacology. Kerala, **Research Signpost**, p. 111-29, 2008.
- OLOFSDOTTER, M.; MALLIK, A. U. Allelopathy symposium. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 1-2, 2001.
- PAVELA, R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 75, p. 745-9, 2004.
- PHILLIPSON, G. W.; ANDERSON, A. C. **Journal Ethnopharmacology**, v. 25, p. 61-65, 1998.
- PINHEIRO, L. NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; Antibacteria xanthones from *Kielmeyera variabilis* Mart. (Clusiaceae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 98, p. 549- 552, 2003.
- PINHEIRO, L.; CORTEZ, D. A. G.; VIDOTTI, G. J.; YOUNG, M. C. M.; FERREIRA, G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 157-160, 2003.
- PITAREVIC, I.; KUFTINEC, J.; BLAEVIC, N.; KUŠTRAK, D. Seasonal variation of essential oil yield and composition of dalmatian sage, *Salvia officinalis*. **Journal of Natural Products**, v. 47, p. 409, 1984.
- PRATES, H. T.; PAES, J. M. V.; MOURA PIRES, N.; PEREIRA FILHO, I. A.; MAGALHÃES, P. C. Efeito de extrato aquoso de Leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 909-914, 2000.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007.
- REICH, P. B.; BORCHERT, R. Water stress and tree phenology in a tropical dry forest in the lowlands of Costa Rica. **Journal Ecology**, v. 72, p. 61-74, 1984.
- REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, p. 577-608, 1999.
- RÊGO, P. S.; ARARIPE, J.; SILVA, W. A. G.; ALBANO, C.; PINTO, T.; CAMPOS, A.; VALLINOTO, M.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H. Population Genetic Studies of Mitochondrial Pseudo-Control Region in the Endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). **The Auk**, v. 127, p. 335-342, 2010.

RESCHKE, A.; MARQUES, L. M.; MAYWORM, M. A. S. Atividade antibacteriana de *Ficus benjamina* L. (Moraceae). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 9, p. 67-70, 2007.

REZENDE, C. P. J. C.; PINTO, A. R.; EVANGELISTA E. I.; SANTOS, P. A. **Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. Boletim Agropecuário**, Universidade Federal de Lavras, MG. v. 54, p. 1-55, 2003.

RIBEIRO, P. R.; FERRAZ, C. G.; GUEDES, M. L.; MARTINS, D.; CRUZ, F.G. A new biphenyl and antimicrobial activity of extracts and compounds from *Clusia burlemarxii*. **Fitoterapia**, v. 82, p. 1237-1240, 2011.

RICE, E. L. 1984. **Allelopathy**, 2. New York : Academic, 1984, 422 p.

ROMANIUC NETO, S., CARAUTA, J.P.P., VIANNA FILHO, M.D.M., PEREIRA, R.A.S., RIBEIRO, J.E.L. DA S., MACHADO, A.F.P., SANTOS, A. DOS, PELISSARI, G., PEDERNEIRAS, L.C. 2012. *Moraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB010137>)

SALMINEN, J. P.; OSSIPOV, V.; HAUKIOJA, E.; PIHLAJA, K. Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of *Betula pubescens*. **Phytochemistry**, v. 57, p. 15- 22, 2001.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R. H.; SUAREZ, E.Y. Screening of some plants from northern argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n. 5, p. 293-297, 2001.

SCHMIDT, T. J.; BOMME, U.; ALFERMANN, A. W. Sesquiterpene lactone content in leaves of in vitro and field cultivated *Arnica montana*. **Planta Medica**, v. 64, p. 268-270, 1998.

SCHWOB, I.; BESSIERE, J. M.; MASOTTI, V.; VIANO, J. Changes in essential oil composition in Saint Jhon's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 735-745, 2004.

SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. A hectare of cerrado. II. Flowering and fruting of thick-stemmed wood species. **Phyton**, v. 41, p. 129-158, 2001.

SILVA, W. A. G.; LINHARES, K. V.; CAMPOS, A. A. **Plano de ação nacional para a conservação do soldadinho-do-araripe**. ICMBio: Brasília, 2011.

SIMO, C. C. F.; KOUAM, S. F.; POUMALE, H. M. P.; SIMO, I. K.; NGADJUI, B. J.; GREEN, I. R.; KROHN, K. Benjaminamide: A new ceramide and other compounds from the twings of *Ficus benjamina* (Moraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p. 238-234, 2008.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. da C.; CONCEIÇÃO, S. da R.; KUSTER, R. M.; FILHO, A. M. de O.; LAGE, C. L. S. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, p. 46-49, 2004.

SMITH, A. E.; MARTIN, D. L. Allelopathic characteristics of three cool-season grass in the forage ecosystems. **Agronomy Journal**, v. 8, p. 243-246, 1994.

SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; ZOGHBI, M. G. B.; CUNHA, R. L. Análise Comparativa Do Potencial Alelopático Do Extrato Hidroalcoólico e do Óleo Essencial De Folhas De Cipó-D'algo (Bignoniaceae). **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 647-653, 2009.

SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A.; SANTOS, T. 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**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.

SOUZA, P. P. **Moraceae Gaudich. De Viçosa, Minas Gerais, Brasil: Florística e anatomia foliar de *Ficus mexiae* Standl.** Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 79 p, 2009.

SOUZA, S. A. M.; STEIN, V. C.; CATTELAN, L.V.; BOBROWSKI, V. L.; ROCHA, B. H. G. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, p. 3-9, 2005.

SUFFREDINI, I. B.; PACIENCIA, M. L. B.; NEPOMUCENO, D. C.; YOUNES, R. N.; VARELLA, A. D. Antibacterial and cytotoxic activity of Brazilian plant extracts - Clusiaceae. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 3, p. 287-290, 2006.

STEVENS P. F. Clusiaceae–Guttiferae. In: Kubitzki K. (Ed.), The families and genera of vascular plants. **Springer, Germany**, v. 19, p. 48–66, 2007.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em Ecologia**, 3 ed. Porto Alegre : Artmed, 576 p, 2010.

TROPICOS. *Ficus Linnaeus*. Disponível em:  
<<http://www.tropicos.org/Name/40009268?tab=maps>> Acesso em: 27 Nov. 2012.

TROPICOS. *Clusia Linnaeus*. Disponível em:  
<<http://www.tropicos.org/Name/40010645?tab=maps>> Acesso em: 09 Dec. 2012.

TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; FUJIWARA, S.; TANIGAKI, S.; HYAMA, M.; TANAKA, T.; JINUMA, M. Comparative study on the antibacterial Activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 50, p. 27–34, 1996.

WANDSCHEER, A. C. D.; BORELLA, J.; BONATTI, L. C.; PASTORINI, L. H. Atividade alelopática de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis* Th unb. (Rhamnaceae) sobre a germinação de *Lactuca sativa*. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, p. 25-30, 2011.

WATCHO, P.; NGADJUI, E.; EFOUET, P. A. N.; NGUELEFACK, T. B.; KAMANYI, A. Evaluation of In Vitro Uterotonic Activities of Fruit Extracts of *Ficus asperifolia* in Rats. **Hindawi Publishing Corporation**, 2011.

WEI, S. P.; LUAN, J. Y.; LU, L. N.; WU, W. J.; JI, Z. Q. A New Benzofuran Glucoside from *Ficus Tikoua* Bur. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 4946-4952, 2011.

WENDA KOON, C.; SAKAGUCHI, M. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. **Journal Food Protect**, v. 58, p. 280-3, 1995.

WESTON, L. A. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. **Agronomy Journal**, v. 88, n. 6, p. 860-866, 1996.

WINDSOR, D. M.; MORRISON, D. W.; ESTRIBI, M. A. e LEON B. de Phenology of fruit and leaf production by strangler figs on Barro Colorado Island, Panama. **Experientia**, v. 45, p. 647-653, 1989.

WINK, M. physiology of secundar product formation in plant. In: CHARLWOOD, B. V.; RHODES, M. J. C. **Secondary product from plant tissue culture**. Oxford: Charendon, 1990.

WHO. WORLD HEALTH ORGANISATION. Guideline for the Assessment of herbal medicines. Who Expert Committee on specification for pharmaceutical preparation. **In: Technical Report Series**. Geneva, 863 p. 1996.

ZIDORN, C.; STUPPNER, H. Evaluation of chemosystematic characters in the genus *Lentodon* (Asteraceae). **Taxon**, v. 50, 115-133, 2001.