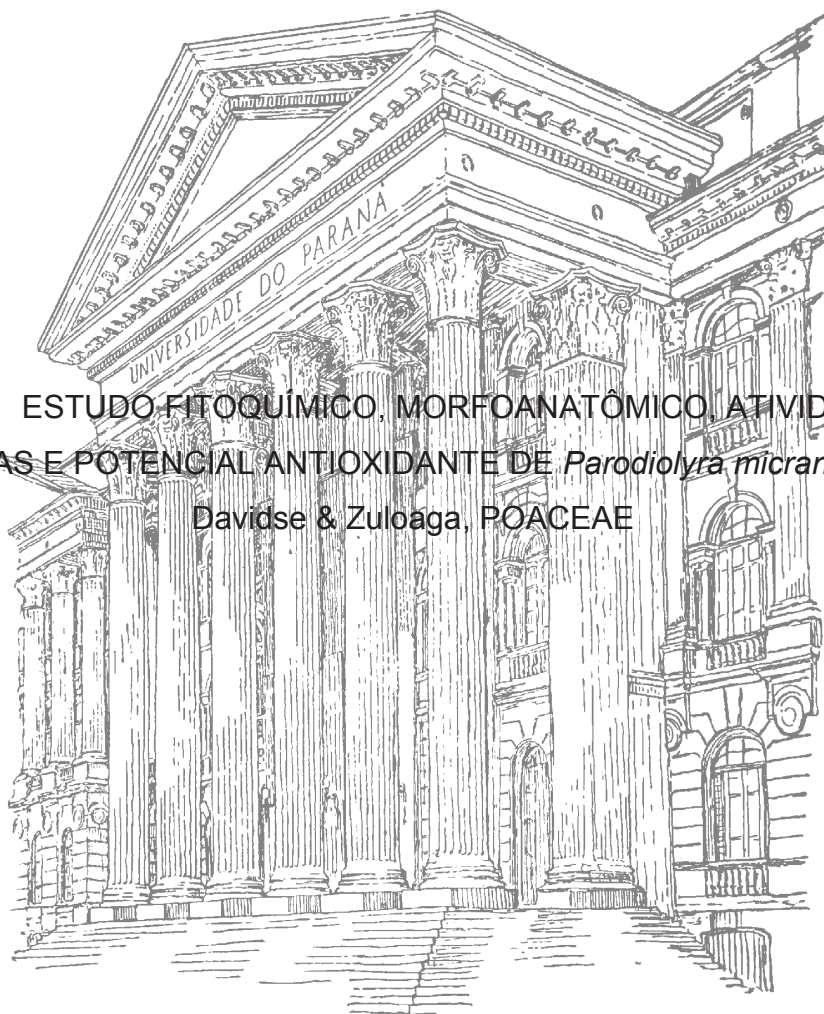


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELISIANE DE BONA SARTOR

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOANATÔMICO, ATIVIDADES
BIOLÓGICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE *Parodiolyra micrantha* (Kunth)
Davidse & Zuloaga, POACEAE



CURITIBA

2020

ELISIANE DE BONA SARTOR

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOANATÔMICO, ATIVIDADES
BIOLÓGICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE *Parodiolyra micrantha* (Kunth)
Davidse & Zuloaga, POACEAE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Marilis Dallarmi Miguel
Coorientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

CURITIBA

2020

Sartor, Elisiane de Bona

Estudo fitoquímico, morfoanatômico, atividades biológicas e potencial antioxidante de *Parodiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga, Poaceae [recurso eletrônico] / Elisiane de Bona Sartor – Curitiba, 2020.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2020.

Orientadora: Professora Dra. Marilis Dallarmi Miguel
Coorientador: Professor Dr. Obdulio Gomes Miguel

1. Bambu. 2. Arbutin. 3. Toxicidade. 4. Alelopatia. 5. Hemólise. I. Miguel, Marilis Dallarmi. II. Miguel, Obdulio Gomes. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 584.9



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÉUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ELISIANE DE BONA SARTOR** intitulada: **Estudo Fitoquímico, Morfoanatômico, Atividades Biológicas e Potencial Antioxidante de *Paradiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga, Poaceae.**, sob orientação da Profa. Dra. MARILIS DALLARMI MIGUEL, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 18 de Fevereiro de 2020.


MARILIS DALLARMI MIGUEL

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


SAMANTA DALIANA GOLIN PACHECO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho ao meu esposo José Roberto Angelo, pelo amor incondicional, por tudo e por tanto.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa De Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

À Profa. Dra. Marilis Dallarmi Miguel, orientadora, pelo acolhimento e ensinamentos no decorrer do mestrado.

Ao Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel, pelo conhecimento transmitido e por todas as conversas.

Ao Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais, professores, técnicos e alunos de mestrado e doutorado.

Aos queridos amigos, Alexandre, Ana Maria, Bianca, Diego, Fabiane e Matheus, nossas conversas, encontros e gargalhadas tornaram as dificuldades muito mais leves ao longo desses dois anos de trabalho.

À amiga Fabiula M. Feltrin, a sua amizade fez morada em meu coração. Aquelas horinhas madrugadeiras no laboratório de farmacotécnica foram essenciais e especiais.

Aos amigos doutorandos, Émmelie, Gustavo, Larissa, Paula e Carol, por todo o companheirismo e apoio.

À querida Katlin Rech, por ampliar os horizontes da química.

À técnica Maria da Graça, pelo apoio e ajuda com os equipamentos da Central Analítica. E por sempre estar pronta a ouvir com um sorriso no rosto.

Ao curador do MBM, Marcelo Brotto, pelo depósito da exsicata.

Ao curador do Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi, Pedro L. Viana, pela identificação da espécie.

Às professoras, Dra. Ana Zannin (Herbário Flor - UFSC) e Dra. Vanilde Citadini-Zanette (Herbário Pe Dr. Raulino Reitz - UNESC) pelas primeiras orientações na identificação botânica da espécie.

Ao Departamento de Química da UFPR, pela realização das análises de CG-MS (Meira Ballesteros) e Difractometria de raio X de monocristal (Francielli Santana).

Ao Departamento de Nutrição da UFPR (Dra. Suelen Avila), pela realização dos ensaios de antioxidantes.

Às professoras do Departamento de Botânica da UFPR, Dra. Cleusa Bona e Dra. Erika Amano.

À Gladis F. dos Santos Hoffmann, pela amizade e afeto de uma vida inteira.

Às nonas, Brigida de Bona Sartor Mariot (*in memoriam*) e Helena Cesconetto de Bona Sartor (*in memoriam*) por cultivarem as ervas dos quintais e as flores dos jardins.

Aos irmãos Anderson e Sabrina, e amados sobrinhos Vítor e Enrico.

Aos meus pais, Elisa e Walmor (*in memoriam*), que permitiram o acesso ao Conhecimento, transformando o meu caminhar.

A Deus, sempre.

RESUMO

A espécie *Parodiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga (Poaceae) é um bambu herbáceo nativo do Brasil, com ocorrência confirmada em todas as regiões do país. O objetivo desta pesquisa foi realizar o estudo morfoanatômico, fitoquímico e avaliar o potencial antioxidante e as atividades biológicas das folhas da espécie de Poaceae. O material vegetal foi coletado em Urussanga, Santa Catarina, Brasil. O estudo morfoanatômico foi realizado por microscopia óptica além da realização de testes histoquímicos. A folha apresentou estômatos com células-guarda em forma de halteres, presença de corpos silicosos e células buliformes na epiderme e células fusóides no mesofilo, além de papilas na epiderme da superfície abaxial. Os testes histoquímicos foram positivos para compostos fenólicos e lipídios. O óleo essencial foi extraído por Clevenger, resultando em um rendimento de 0,1% e seus compostos majoritários foram fitol e ácido hexadecanóico. A triagem fitoquímica preliminar resultou na presença de flavonoides, taninos e triterpenos/esteroides. A extração das folhas foi realizada por Soxhlet e após o fracionamento, resultou nas frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente. A partir da fração folha acetato de etila foi isolado e identificado o composto químico arbutin monohidratado. Foram realizados os doseamentos de fenólicos e flavonoides totais, com melhores resultados na fração acetato de etila. Os ensaios antioxidantes por formação do complexo fosfomolibdênio e redução do radical DPPH apresentaram propriedade antioxidante, com destaque também para a fração acetato de etila. No ensaio de toxicidade in vitro frente à *Artemia salina*, o extrato bruto e frações foram considerados tóxicos. Na alelopatia, houve estímulo do crescimento do hipocótilo e radícula no extrato bruto, frações hexano e remanescente de folhas para *Lactuca sativa* e inibição para *Allium cepa*. Obteve-se atividade hemolítica na faixa de 40% nas concentrações de 750 e 1000 µg/mL da fração clorofórmio. A caracterização do óleo essencial, o isolamento e identificação do arbutin, bem como a avaliação do potencial antioxidante e das atividades biológicas, são resultados inéditos para a espécie *Parodiolyra micrantha*.

Palavras - chave: Bambu. *Parodiolyra*. Arbutin. Toxicidade. Alelopatia. Hemólise.

ABSTRACT

The species *Parodiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga (Poaceae) is a herbaceous bamboo native to Brazil, with confirmed occurrence in all regions of the country. The aim of this research was to realize morphoanatomical, phytochemical studies and to evaluate the antioxidant potential and biological activities of the leaves of the Poaceae species. The plant material was collected in Urussanga, Santa Catarina, Brazil. The morphoanatomical study was performed by optical microscopy in addition to performing histochemical tests. The leaf presented stomata with guard cells in the shape of dumbbells, presence of siliceous bodies and buliform cells in the epidermis and fusoid cells in the mesophyll, in addition to papillae in the epidermis of the abaxial surface. Histochemical tests were positive for phenolic compounds and lipids. The essential oil was extracted by Clevenger, resulting in a yield of 0.1% and its major compounds were phytol and hexadecanoic acid. Preliminary phytochemical screening resulted in the presence of flavonoids, tannins and triterpenes / steroids. Leaf extraction was performed by Soxhlet and after fractionation, it resulted in the hexane, chloroform, ethyl acetate and remainder fractions. From the ethyl acetate leaf fraction, the chemical compound arbutin monohydrate was isolated and identified. The assays of phenolic and total flavonoids were performed, with better results in the ethyl acetate fraction. The antioxidant tests for formation of the phosphomolybdenum complex and reduction of the DPPH radical showed antioxidant properties, with an emphasis also on the ethyl acetate fraction. In the in vitro toxicity test against *Artemia salina*, the crude extract and fractions were considered toxic. In allelopathy, the growth of the hypocotyl and radicle in the crude extract, hexane fractions and remaining leaves for *Lactuca sativa* and inhibition for *Allium cepa* were stimulated. Hemolytic activity in the range of 40% was obtained at concentrations of 750 and 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ of the chloroform fraction. The characterization of essential oil, the isolation and identification of arbutin, as well as the evaluation of antioxidant potential and biological activities, are unprecedented results for the species *Parodiolyra micrantha*.

Keywords: Bamboo. Arbutin. Toxicity. Allelopathy. Hemolysis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	-	DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DE BAMBUS.....	26
FIGURA 2	-	DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DE BAMBUS HERBÁCEOS (TRIBO Olyreae)	28
FIGURA 3	-	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO <i>Paradiolyra</i> NO BRASIL.....	42
FIGURA 4	-	CARACTERÍSTICAS VEGETATIVAS DE <i>Paradiolyra</i> <i>micrantha</i> (Kunth) Davidse & Zuloaga.....	44
FIGURA 5	-	LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DA ÁREA DE COLETA.....	46
FIGURA 6	-	FOTOGRAFIA DA ESPÉCIE <i>Paradiolyra micrantha</i> NO LOCAL DE COLETA.....	46
FIGURA 7	-	FOLHAS, FLORES E FRUTOS DE <i>Paradiolyra</i> <i>micrantha</i>	47
FIGURA 8	-	FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DA PESQUISA.....	48
FIGURA 9	-	CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DA LÂMINA FOLIAR DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	77
FIGURA 10	-	CROMATOGRAMA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	84
FIGURA 11	-	COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	85
FIGURA 12	-	ESTRUTURA QUÍMICA DO ARBUTIN.....	89

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -	CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Parodiolyra micrantha</i> COMPARADAS AO ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)	96
GRÁFICO 2 -	CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Parodiolyra micrantha</i> COMPARADAS À RUTINA.....	97
GRÁFICO 3 -	CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Parodiolyra micrantha</i> COMPARADAS AO BHT.....	98
GRÁFICO 4 -	FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> SEM INFLUÊNCIA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i>	103
GRÁFICO 5 -	FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE INFLUENCIARAM POSITIVAMENTE NO IVG DE SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i>	105
GRÁFICO 6 -	FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE INFLUENCIARAM NEGATIVAMENTE NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Allium cepa</i>	106
GRÁFICO 7 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE INFLUENCIARAM NEGATIVAMENTE NO IVG DE SEMENTES DE <i>Allium cepa</i>	108
GRÁFICO 8 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE <i>Lactuca sativa</i>	110
GRÁFICO 9 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE INIBIRAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE <i>Allium cepa</i>	112

GRÁFICO 10 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE INFLUENCIARAM POSITIVAMENTE NO CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE <i>Lactuca sativa</i>	114
GRÁFICO 11 -	EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE <i>Allium cepa</i>	116
GRÁFICO 12 -	CAPACIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> COMPARADAS AO TRITON 1%.....	121
GRÁFICO 13 -	CAPACIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> COMPARADAS ÁGUA POTÁVEL.....	122

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 -	SUBFAMÍLIAS PERTENCENTES À FAMÍLIA POACEAE.....	25
QUADRO 2 -	DENOMINAÇÕES TUPI-GUARANI PARA TAQUARAS E TABOCAS NO SUL DO BRASIL.....	38
QUADRO 3 -	ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Parodiolyra</i>	42
QUADRO 4 -	ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE <i>Parodiolyra micrantha</i> (Kunth) Davidse & Zuloaga.....	43
QUADRO 5 -	REATIVOS PARA O TESTE HISTOQUÍMICO.....	50
QUADRO 6 -	COMPOSIÇÃO DE FASES MÓVEIS E REVELADORES EM CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA.....	65
QUADRO 7 -	REAÇÃO REALIZADA NO TESTE DE HEMÓLISE.....	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	-	UMIDADE (PERDA POR DESSECAÇÃO) DAS FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	80
TABELA 2	-	CINZAS TOTAIS DAS FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	80
TABELA 3	-	ESTUDO DO PERFIL FITOQUÍMICO NO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	81
TABELA 4	-	ESTUDO DO PERFIL FITOQUÍMICO NO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	82
TABELA 5	-	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Paradiolyra micrantha</i> DETERMINADA POR CROMATOGRAFIA GASOSA.....	84
TABELA 6	-	TEOR DE SÓLIDOS E RENDIMENTO NO EXTRATO BRUTO DE FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	88
TABELA 7	-	RENDIMENTO DAS FRAÇÕES EXTRAÍDAS POR SOXHLET.....	88
TABELA 8	-	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PARA PESQUISA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS NO EXTRATO BRUTO.....	90
TABELA 9	-	PARÂMETROS DE CÉLULA UNITÁRIA UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA.....	91
TABELA 10	-	QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	93
TABELA 11	-	QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Paradiolyra micrantha</i>	94

TABELA 12 -	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Parodiolyra micrantha</i>	95
TABELA 13 -	POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO RADICAL DPPH FRENTE AO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i>	99
TABELA 14 -	INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> NA GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO.....	102
TABELA 15 -	INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> NO IVG DE <i>Lactuca sativa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO	104
TABELA 16 -	INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> NA GERMINAÇÃO DE <i>Allium cepa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO.....	105
TABELA 17 -	INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> NO IVG DE <i>Allium cepa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO	107
TABELA 18 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE <i>Lactuca sativa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO.....	109
TABELA 19 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra Micrantha</i> QUE INIBIRAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE <i>Allium cepa</i> EM ENSAIO AELOPÁTICO.....	110
TABELA 20 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE <i>Lactuca sativa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO.....	113

TABELA 21 -	EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE <i>Allium cepa</i> EM ENSAIO ALELOPÁTICO.....	114
TABELA 22 -	TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> EM <i>Artemia salina</i>	118
TABELA 23 -	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> FRENTE AO TRITON 1%.....	120
TABELA 24 -	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>Parodiolyra micrantha</i> FRENTE À ÁGUA POTÁVEL.....	120

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA	-	Atividade antioxidante
Abs	-	Absorbância
AH	-	Atividade hemolítica
AOB	-	Antioxidant of bamboo leaves
APG	-	Angiosperm Phylogeny Group
BHT	-	Hidroxitolueno butilado
BPG	-	Bamboo Phylogeny Group
CCD	-	Cromatografia em Camada Delgada
CG/EM	-	Cromatografia gasosa / Espectrometria de massas
CL50	-	Concentração letal 50%
DPPH•	-	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EBF	-	Extrato bruto folha
DMSO	-	Dimetilsulfóxido
FAA	-	Solução de formaldeído, ácido acético glacial e etanol 70%
FFA	-	Fração folha acetato de etila
FFC	-	Fração folha clorofórmio
FFH	-	Fração folha hexano
FFR	-	Fração folha remanescente
g	-	Gramas
GPWG	-	Grass phylogeny working group
HC50	-	Concentração hemolítica 50%
IC50	-	Concentração inibitória 50%
INBAR	-	International Network for Bamboo and Rattan
INPI	-	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
IVG	-	Índice de Velocidade de Germinação
mg	-	Miligramas
mL	-	Mililitros
m/m	-	Massa/ Massa
m/v	-	Massa/ Volume
n°	-	Número

N	-	Normal
OE	-	Óleo essencial
PBS	-	Phosphate-buffered saline
pH	-	Potencial hidrogeniônico
p/v	-	Peso/volume
Sisgen	-	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado.
UFPR	-	Universidade Federal do Paraná
UV	-	Ultravioleta
v/v	-	Volume/ Volume
%	-	Porcentagem
µg	-	Micrograma
µg/mL	-	Micrograma por mililitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	OBJETIVO GERAL	22
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
2	REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1	FAMÍLIA POACEAE	24
2.1.1	Subfamília Bambusoideae	25
2.1.1.1	Aplicações econômicas	29
2.1.1.2	Aplicações medicinais	32
2.1.1.3	Caracterização fitoquímica	35
2.1.1.4	Taquaras: herança tupi-guarani no sul de Santa Catarina	36
2.1.1.5	A Presença de bambus em áreas remanescentes da exploração carbonífera	39
2.2	GÊNERO <i>Parodiolyra</i> Soderstrom & Zuloaga	41
2.3	ESPÉCIE <i>Parodiolyra micrantha</i> (Kunth) Davidse & Zuloaga	42
3	MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1	ÁREA DE COLETA	46
3.2	MATERIAL VEGETAL	47
3.3	ESTUDO MORFOANATÔMICO	48
3.3.1	Preparo de lâminas semipermanentes	49
3.3.2	Preparo de lâminas permanentes	49
3.3.3	Testes histoquímicos	49
3.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	50
3.4.1	Umidade (perda por dessecação)	50
3.4.2	Cinzas totais	51
3.5	ESTUDO FITOQUÍMICO PRELIMINAR	51
3.5.1	Extrato hidroalcoólico	52
3.5.1.1	Pesquisa de alcaloides	52
3.5.1.2	Pesquisa de leucoantocianidinas	53
3.5.1.3	Pesquisa de heterosídeos flavônicos	53
3.5.1.4	Pesquisa de cumarinas	54
3.5.1.5	Pesquisa de antraquinonas	55

3.5.1.6 Pesquisa de esteroides e/ou triterpenos.....	55
3.5.2 Extrato aquoso.....	56
3.5.2.1 Pesquisa de heterosídeos antociânicos.....	56
3.5.2.2 Pesquisa de heterosídeos saponínicos.....	57
3.5.2.3 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos.....	57
3.5.2.4 Pesquisa de taninos.....	58
3.5.2.5 Pesquisa de ácidos voláteis.....	59
3.5.2.6 Pesquisa de ácidos fixos.....	59
3.5.2.7 Pesquisa de amino grupo.....	60
3.6 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	60
3.6.1 Identificação dos constituintes do óleo essencial.....	61
3.7 ANÁLISE FITOQUÍMICA: OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES	62
3.7.1 Preparo do extrato bruto.....	62
3.7.1.1 Teor de sólidos.....	62
3.7.1.2 Fracionamento do extrato bruto hidroalcoólico.....	63
3.8 ANÁLISE FITOQUÍMICA: ISOLAMENTO DO CONSTITUINTE QUÍMICO.....	64
3.8.1 Cromatografia em camada delgada.....	65
3.8.2 Difractometria de raios x de monocristal.....	66
3.9 DOSEAMENTO DE FENÓLICOS	66
3.10 DOSEAMENTO DE FLAVONOIDES.....	67
3.11 POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	68
3.11.1 FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO.....	68
3.11.2 REDUÇÃO DO RADICAL DPPH.....	69
3.12 ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	70
3.12.1 Atividade alelopática.....	70
3.12.1.1 Germinação.....	71
3.12.1.2 Crescimento.....	72
3.12.2 Toxicidade preliminar <i>in vitro</i>	72
3.12.3 Atividade hemolítica <i>in vitro</i>	73
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.1 MATERIAL VEGETAL	76

4.2 ESTUDO MORFOANATÔMICO.....	76
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	80
4.3.1 Umidade (perda por dessecação).....	80
4.3.2 Cinzas totais.....	81
4.4 ESTUDO FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	81
4.4.1 Extrato hidroalcoólico.....	81
4.4.2 Extrato aquoso.....	83
4.5 ÓLEO ESSENCIAL	84
4.5.1 Identificação dos constituintes do óleo essencial.....	84
4.5.1.1 Fitol.....	87
4.5.1.2 Ácido hexadecanóico.....	88
4.6 ANÁLISE FITOQUÍMICA: EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES.....	88
4.6.1 Preparo do extrato bruto e determinação do teor de sólidos.....	88
4.6.2 Preparo das frações.....	89
4.7 ANÁLISE FITOQUÍMICA: ISOLAMENTO DE CONSTITUINTE QUÍMICO.....	90
4.7.1 Cromatografia em camada delgada.....	91
4.7.2 Difractometria de raios x de monocristal.....	91
4.7.3 Arbutin.....	92
4.8 DOSEAMENTO DE FENÓLICOS	93
4.9 DOSEAMENTO DE FLAVONOIDES.....	94
4.10 POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	96
4.10.1 Formação do complexo fosfomolibdênio.....	96
4.10.2 Redução do radical DPPH.....	99
4.10.3 Discussão dos resultados de atividades antioxidantes.....	100
4.11 ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	101
4.11.1 Atividade alelopática.....	101
4.11.1.1 Germinação e IVG.....	103
4.11.1.2 Crescimento do hipocótilo.....	109
4.11.1.3 Crescimento da radícula.....	113
4.11.1.4 Discussão dos resultados de atividade alelopática.....	117
4.11.2 Toxicidade preliminar <i>in vitro</i>	119
4.11.3 Atividade hemolítica <i>in vitro</i>	120

5	CONCLUSÃO	124
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	126
	REFERÊNCIAS.....	127
	ANEXO 1 - DECLARAÇÃO DE TOMBAMENTO DA EXSICATA DE	
	<i>Parodiolyra micrantha</i> NO HERBÁRIO MUNICIPAL DE CURITIBA	
	(MBM).....	149
	ANEXO 2 - AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO	
	AO PATRIMÔNIO GENÉTICO.....	150

1 INTRODUÇÃO

Pesquisadores têm buscado uma variedade de abordagens fitoquímicas e farmacológicas para investigar o potencial farmacêutico de organismos tropicais. Nesse contexto, a biodiversidade brasileira é considerada uma fonte de substâncias biologicamente ativas e sua preservação é fundamental tanto pelo valor intrínseco dessa imensa riqueza biológica como pelo seu enorme potencial como fonte de novos fármacos (VALLI et al., 2018).

Nos últimos anos, o crescente interesse no uso de metabólitos vegetais para tratar doenças em humanos e animais e a alta solicitação de produtos de saúde originários de fontes naturais, em vez de sintéticas, reativaram a pesquisa sobre biodiversidade vegetal para identificar novas moléculas bioativas, inclusive de espécies vegetais menos estudadas (BIAZOTTO et al., 2019).

Entre as plantas de interesse crescente estão os bambus (Poaceae: Bambusoideae), com cerca de 1600 espécies e 120 gêneros catalogados no mundo, classificados em bambus lignificados (lenhosos) ou herbáceos (SORENG et al., 2015).

O bambu é considerado uma planta de múltiplos usos em função do seu potencial econômico, social e ambiental (AKINLABI; ANANE-FENIN; AKWADA, 2017). Em meio à crescente demanda por produtos sustentáveis, o bambu vem se destacando principalmente por ser um ótimo recurso renovável, aplicado nas mais diversas áreas. Atualmente, os principais focos de sua utilização são a indústria (móveis, papel e de celulose), construção civil, e alimentação (RODRIGUES et al., 2016). Ecologicamente são identificados como tendo grande potencial para reduzir o CO₂ atmosférico (RIAÑO et al., 2002; GROMBONE-GUARATINI et al., 2013; DABA, 2016), sendo que o desenvolvimento da planta com surgimento de novos brotos está diretamente ligado ao aumento da taxa de sequestro de carbono do ambiente (MAGEL et al., 2005; ZHOU; JIANG; MO, 2009).

Bambus são usados há séculos na Medicina Tradicional Oriental para o tratamento de diferentes enfermidades. Estudos com extratos de espécies asiáticas são descritos com atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-hipertensiva e anti-inflamatórias (ZHANG et al, 2006; PARK et al, 2007; WANG et al., 2012). Esses efeitos estão relacionados a uma série de metabólitos secundários presentes na planta como

compostos fenólicos, flavonoides, cinamatos (HU; ZHANG; KITTS, 2000), antocianinas, polissacarídeos, catequinas (JIN; YUAN; ZHANG, 2011) e vários compostos voláteis (FU; YOUNGMO ; BAZEMORE, 2002; TAKAHASHI; MIZUI.; MIYAZAWA., 2010).

Embora as espécies de bambu da Ásia Oriental já estejam bem estudadas, pouco se sabe sobre a composição química e atividades biológicas dos bambus nativos brasileiros. Porém, os estudos das espécies asiáticas se tornam diretrizes e norteiam o desenvolvimento das pesquisas com as espécies nativas do Brasil.

Os estudos com espécies asiáticas de bambus relatam a presença de compostos fenólicos, com atribuição de diversas atividades biológicas a essa classe de metabólitos secundários. Tendo como premissa o grande emprego de espécies asiáticas de bambus na medicina tradicional Chinesa, a hipótese deste estudo foi que espécies brasileiras de bambus são promissoras para uso medicinal, particularmente pela presença de substâncias fenólicas responsáveis pelas atividades biológicas.

É importante ressaltar que o Brasil é o centro de diversidade de bambus das Américas (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004), sendo que as espécies herbáceas correspondem a 36% das espécies nativas (GRECO et al., 2015).

Dessa maneira, a pesquisa realizada com a espécie *Paradiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga, bambu herbáceo e nativo do Brasil, é uma forma de contribuir com o estudo de caracterização dos seus componentes químicos e de suas propriedades biológicas e antioxidantes, uma vez que esses estudos são escassos para essa planta.

As perspectivas desse estudo se evidenciam com o estímulo à geração de produtos estratégicos na saúde e no meio ambiente, com prioridade na biodiversidade brasileira, tendo como alvo, a pesquisa de compostos bioativos potenciais no controle de microrganismos patogênicos.

1.1 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo fitoquímico aplicado às atividades biológicas e potencial antioxidante das folhas de *Paradiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar levantamento da espécie *Parodiolyra micrantha* e Família Poaceae;
- Realizar coleta da espécie e elaboração da exsicata;
- Solicitar autorização de pesquisa;
- Avaliar a morfoanatomia foliar;
- Realizar estudo sistemático fitoquímico preliminar;
- Identificar os constituintes químicos e classes de metabólitos;
- Obter óleo essencial, extrato bruto e frações;
- Isolar e identificar os compostos químicos no óleo essencial, extrato bruto e frações;
- Avaliar o teor de compostos fenólicos e de flavonoides totais presentes no extrato bruto e frações;
- Avaliar propriedade alelopática do extrato bruto e frações;
- Avaliar a toxicidade *in vitro* dos extratos bruto e frações;
- Avaliar a propriedade hemolítica *in vitro* do extrato bruto e frações;
- Avaliar o potencial antioxidante do extrato bruto e frações.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FAMÍLIA POACEAE

A família Poaceae, também conhecida por Gramínea, é uma das mais importantes famílias botânicas dentre as Angiospermas. É composta por cerca de 771 gêneros e 12.074 espécies (GPWG, 2001; GPWG II, 2012; SORENG et al., 2015), sendo considerada a quarta maior em número de espécies no mundo (BREMER, 2002), além disso, sua importância econômica é incontestável (SCHMIDT; LONGHI-WAGNER, 2009).

É uma família diversa, agregando plantas diferentes entre si, como cereais, capins e bambus. Representa um importante e abundante componente florístico em ecossistemas florestais e suas diversas espécies são largamente empregadas direta ou indiretamente nas indústrias agropecuária, energética e cosmética, na construção civil e ornamentação, ou ainda na área médica (RODRIGUES et al., 2016). Possui como características recorrentes a capacidade de adaptação a vários tipos de ambientes, capacidade de coexistir com variadas formas de animais e a possibilidade de uma forma de vida distinta (CLAYTON; RENVOIZE, 1986). As gramíneas, no geral, tendem a ocorrer como pioneiras e são espécies que normalmente resistem à seca (JUDZIEWICZ et al., 1999).

Na família Poaceae estão plantas de grande importância para população humana, com destaque para aquelas consumidas na alimentação: arroz (*Oryza sativa*), milho (*Zea mays*), trigo (*Triticum aestivum*), cana-de-açúcar (*Saccharum officinale*), sorgo (*Sorghum bicolor*) e aveia (*Avena sativa*). Há ainda espécies utilizadas como medicinais, como por exemplo, o capim-limão (*Cymbopogon citratus*) (SORENG et al., 2015)

Os metabólitos secundários considerados marcadores para a família Poaceae são compostos fenólicos (flavonoides, taninos, ácidos fenólicos e fenóis simples), açúcares e glicosídeos cianogênicos (APG IV, 2016)

Poaceae é considerada um táxon pertencente à ordem Poales, com 12 subfamílias reconhecidas, conforme QUADRO 1.

QUADRO 1 - SUBFAMÍLIAS PERTENCENTES À FAMÍLIA POACEAE

Anomochlooideae	Arundinoideae
Aristidoideae	Bambusoideae
Chloridoideae	Danthonioideae
Micraioideae	Oryzoideae
Panicoideae	Pharaoideae
Puelioideae	Pooideae

Fonte: APG IV, 2016.

2.1.1 Subfamília Bambusoideae

É caracterizada por abrigar as espécies de bambu distribuídas em três tribos, de acordo com suas características moleculares e morfológicas: Bambuseae, onde encontram-se os bambus lignificados tropicais; Olyreae, que compreende os bambus herbáceos e Arundinariaeae, que engloba os bambus lignificados temperados (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004; LODOÑO; KOBAYASHI, 2010; KELCHNER; BPG, 2013; SORENG et al., 2015).

São plantas anuais ou perenes, às vezes lignificadas, em geral rizomatosas e providas de colmos ocos ou sólidos (JUDZIEWICZ et al., 1999; FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004). O bambu pertence à divisão das Angiospermas e faz parte do grupo das monocotiledôneas, subgrupo das Gramíneas, sendo parente próximo do trigo, milho, cana-de-açúcar, cevada e capim (JUDZIEWICZ et al., 1999). São considerados plantas de múltiplos usos em função do seu potencial econômico, social e ambiental (AKINLABI; ANANE-FENIN; AKWADA, 2017).

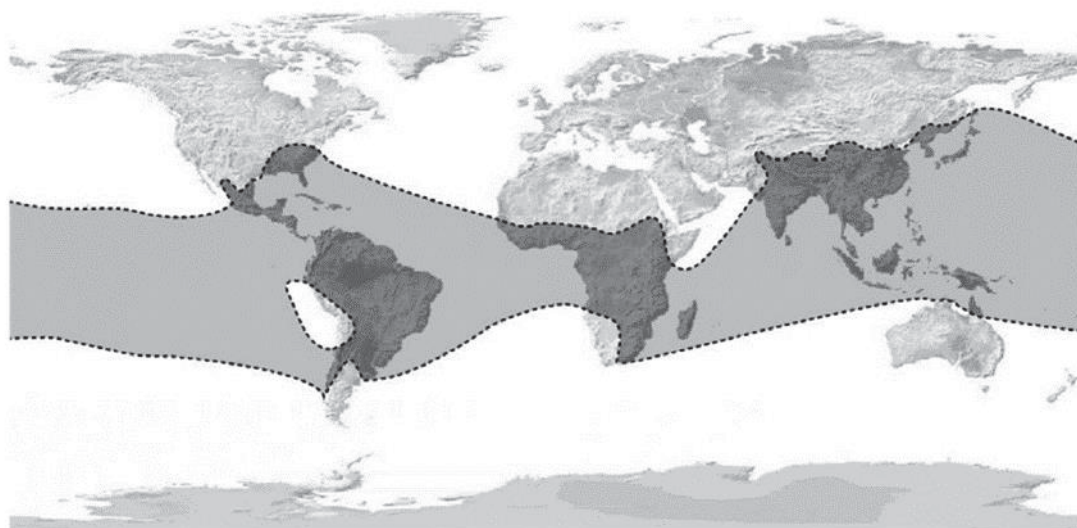
Bambus lenhosos e herbáceos apresentam diferenças quanto à sua altura, número de ramificações, tipo de colmos, comportamento de florescimento e tolerância ao sol. Os bambus do tipo lignificados medem entre 1,0 e 35,0 metros, enquanto os herbáceos medem menos de 2,0 metros, e em geral, os primeiros apresentam ramificações complexas, enquanto os segundos apresentam ramificações simples (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004). Ainda, bambus do tipo lenhoso apresentam florescimento sazonal ou monocárpico, que ocorrem em geral entre 7 e 120 anos e

que apesar de gerarem um número grande de sementes, podem levar a morte da planta parental (KELCHNER; BPG, 2013). Por outro lado, bambus do tipo herbáceo apresentam colmos pouco lignificados e florescimento anual, que pode se estender por meses, sendo classificados como policárpico (CLARK; LONDOÑO; RUIZ-SANCHEZ; 2015). Segundo Filgueiras e Gonçalves (2004), bambus herbáceos são espécies que não toleram uma exposição direta ao sol, enquanto os bambus considerados lenhosos toleram uma incidência solar direta.

Estão presentes desde o nível do mar até acima de 4.000 metros de altitude (SUNGKAEW et al., 2009), em solos variados, com exceção dos solos alcalinos, dos desertos e pântanos (YEASMIN et al., 2015). Em geral, devido a sua plasticidade fenotípica, apresentam-se nas florestas, disputando lugar em meio a enormes dosséis ou em meio a clareiras, sendo muitas vezes conhecidos como gramíneas de floresta (KELCHNER; BPG, 2013; CLARK; LONDOÑO; RUIZ-SANCHEZ, 2015).

Os bambus estão amplamente distribuídos na região tropical e subtropical do globo (FIGURA 1), sendo a única exceção o continente Antártico.

FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DE BAMBUS



Fonte: INBAR (2013).

Embora sejam cosmopolitas, a distribuição das espécies não ocorre de maneira igual. O continente Asiático apresenta-se como o maior detentor de espécies (somente na China são encontradas cerca de 626 espécies), enquanto a América do Sul, é a segunda no *ranking*, sendo Brasil, Venezuela e Colômbia os países que apresentam os maiores números de espécies em ordem decrescente, e por final o

continente africano, com apenas cinco espécies (BYSTRIAKOVA; KAPOS; LYSENKO 2003; DAS et al., 2008; CANAVAN et al., 2017). Ainda, de acordo com Kelchner e BPG (2013), 40% das espécies de bambus conhecidas são endêmicas das Américas.

O Brasil é detentor da maior diversidade de espécies de bambu nas Américas, compreendendo 34 gêneros e 256 espécies nativas (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004; GRECO et al., 2015). Das espécies descritas, 163 são da tribo Bambuseae – bambus lignificados, e 93 são da tribo Olyreae - bambus herbáceos (GRECO et al., 2015). A maioria destas espécies está no bioma Mata Atlântica, seguido da Amazônia e do Cerrado (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004). Na Amazônia, a existência de uma floresta de bambu nativo que cobre aproximadamente 600.000 ha de área entre Brasil, Peru e Bolívia, desperta o interesse de pesquisadores à nível mundial. Florestas de bambu são denominadas de "Tabocais" no Brasil e "Pacales" no Peru (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2004; DAS, 2008). Além das espécies nativas, o Brasil conta com mais de 20 espécies exóticas induzidas (FILGUEIRAS et al., 2013).

Os estados de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná e Bahia, possuem a maior diversidade de florestas de bambu (LODOÑO, 1999; GRECO et al., 2015).

A tribo Olyreae, dos bambus herbáceos, alvo desse trabalho, possui cerca de 110 espécies que estão concentradas principalmente na região Neotropical do Brasil, Paraguai, México e Índias Ocidentais (SORENG, 2015), conforme FIGURA 2. O sul brasileiro, possui oito espécies, e em Santa Catarina foram catalogadas quatro espécies dessa tribo, com endemia para apenas uma espécie (GRECO et al., 2015).

FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DE BAMBUS HERBÁCEOS (TRIBO Olyreae)



FONTE: Adaptado de KELCHNER; BPG (2013).

Apesar da representação do bambu na estrutura e composição dos biomas brasileiros e sua ampla aplicação no cotidiano, ainda são escassos estudos acadêmicos e ecológicos para esse grupo de plantas. Em áreas tropicais e subtropicais, os bambus representam aproximadamente 25% da biomassa total, o que contribui para seu *status* de um dos recursos renováveis mais importantes (MARAFON et al., 2019). Ecologicamente, devido ao seu rápido crescimento e produção de biomassa, as espécies de bambu foram identificadas como tendo grande potencial para reduzir o CO₂ atmosférico (RIAÑO et al. 2002; MAGEL et al. 2005).

Quimicamente, a subfamília Bambusoideae, se caracteriza pela ocorrência de diversos compostos já identificados em diferentes partes do vegetal. Compostos fenólicos, incluindo ácido caféico, ácido clorogênico e luteolina 7-glucosídeo foram identificados no extrato das folhas de *Phyllostachys nigra* var. *henonis* (HU; ZHANG; KITTS, 2000) e também apresentou atividade larvicida ao reduzir em 85% o número de larvas vivas de *Culex pipens pallens* em 24 horas (CAO et al., 2004).

Nishina et al. (1991) isolaram e identificaram o composto 2,6-dimetoxi-p-benzoquinona no extrato das folhas de *Phyllostachys heterocycla*. Posteriormente, foram identificados sesquiterpenos, ciclo-hexanona, etoxiquina, hidroquinona e benzoquinona nessa espécie (QUITAIN et al., 2004).

Guaiacol foi identificado como principal composto nos produtos obtidos da pirólise de *P. nigra*, *P. pubescens* e *P. bambusoides*, apresentando um efeito positivo no tratamento de lesões neuronais, em que a viabilidade celular foi restaurada quando comparada com células não tratadas. Segundo os autores, estes produtos podem ser

utilizados como suplemento no tratamento de lesões isquêmicas cerebrais (HONG et al., 2010).

O extrato obtido das folhas das espécies de *Phyllostachys* Siebold & Zucc., também é conhecido como antioxidante das folhas de bambu (AOB) e contém como principais componentes funcionais, flavonoides, lactonas e ácidos fenólicos, que incluem ácido cafeíco, ácido clorogênico, ácido p-cumárico, quercetina, naringina, luteolina, rutina, apigenina, além de alguns C-glicosídeos considerados os principais compostos funcionais (orientina, isorientina, vitexina, e isovitexina) (ZHANG, 2002; ZHANG et al., 2005).

Alguns estudos descrevem que os compostos fenólicos presentes em algumas espécies de bambu atuam como aleloquímicos (CHOU, 2010). Os compostos fenólicos (quercetina, rutina e ácido ferúlico) presentes nas folhas de *Aulonemia aristulata* (Döll) McClure, por exemplo, inibiram a germinação de *Lactuca sativa* L., indicando que esses compostos químicos atuam como aleloquímicos (GROMBONE-GUARATINI et al., 2009).

A influência da alelopatia na dominância de *Apoclada simplex* em área de Floresta Atlântica, através de análises da fitotoxicidade de extratos e frações, confirmou a presença do ácido p-benzóico no solo, sugerindo que a dominância da espécie ocorre por fitotoxicidade (TORRES, 2015)

Os bambus vêm ganhando seu espaço em diversos setores devido ao seu imenso potencial e ao aumento das pesquisas relacionadas a este grupo de plantas, que visam identificar e superar os gargalos científicos e tecnológicos na sua cadeia produtiva.

2.1.1.1 Aplicações econômicas

O bambu é considerado uma das quatro plantas nobres do Oriente, e juntamente com a orquídea, a ameixa e o crisântemo, inspirou as artes como a caligrafia, pintura e poesia (LAWS, 2013) Com exceção do arroz, nenhuma outra planta desempenhou um papel tão importante na história da China e do Oriente como os bambus. Estão presentes no dia a dia dessas populações, desde utensílios de uso

doméstico, na alimentação, na construção de moradias, na fabricação de papel e na medicina tradicional (TRIPATHI, 2011; CHONGTHAM et al., 2011; LAWS, 2013).

Do colmo ou caule, se originam desde produtos domésticos até aplicações industriais. O bambu é um dos materiais de construção mais antigos utilizados pela humanidade. Em muitas regiões excessivamente povoadas da Ásia, bambus fornecem o material adequado, barato e abundante para atender a ampla necessidade da população para a construção de suas habitações. A estrutura tem uma elevada elasticidade e baixo peso, por esta razão, as casas são seguras durante um terremoto (RATHAUR, 2013).

Assim como outras plantas, os bambus têm sido utilizados para fins medicinais e nutricionais por séculos pelos povos asiáticos. Os brotos de algumas espécies são consumidos *in natura*, fermentados ou enlatados, até os dias atuais e são considerados fonte de proteínas, vitaminas, minerais e fibras (MEJÍA et al., 2009; CHONGTHAM et al., 2011), além de substâncias fenólicas bioativas (NIRMALA; BISHT; LAISHRAM, 2014). Há relatos de cerveja oriunda da fermentação dos brotos do bambu, de suco feito a partir das folhas (SHUKLA et al., 2012) e também a utilização das folhas de bambu para realçar o sabor e a cor dos alimentos, especialmente no sul da China (NIRMALA; BISHT; LAISHRAM, 2014).

Além de seu uso na medicina tradicional asiática, folhas de bambu são utilizadas como aditivo alimentar antioxidante no Japão e na China (NAKAJIMA et al., 2003), produto conhecido como extrato antioxidante de bambus (AOB) (ZHANG et al., 2007).

O AOB, é um pó castanho claro, capaz de bloquear reações em cadeia de oxidação de lipídios. Foi demonstrado que o pré-tratamento de alimentos fritos com AOB, reduz significativamente a formação de acrilamida, composto tóxico e carcinogênico, que se forma durante o processo de fritura dos alimentos (ZHANG et al., 2006). É um produto seguro para ser usado como aditivo de alimentos, pois não é tóxico, não causa mutagenicidade nas células (LU et al., 2005) e é rico em substâncias antioxidantes, como os flavonoides e ácidos fenólicos (JIAO et al., 2007), sendo o seu uso regulamentado pelo Ministério da Saúde chinês (ZHANG et al., 2006).

São plantas de interesse global devido aos seus hábitos de crescimento característico, especialmente seu sistema de raízes que desempenha a função de

coesão, sendo utilizado no controle da erosão e reabilitação dos solos. Além da ação de conservação da água e redução de carbono (RIAÑO et al., 2002; DABA, 2016)

Na agricultura, os bioativos derivados dos bambus são uma opção segura e menos agressiva para o controle fitossanitário. Doenças fúngicas têm causado extensa perda econômica em muitas culturas, tornando-se um grande desafio para a produção agrícola (DARMA et al., 2016). Toan (2018), pesquisou os efeitos da folha do bambu *Phyllostachys pubescens* em crescimento micelial de *Pyricularia grisea*, fungo que causa a doença denominada ferrugem no arroz, e sugeriu a folha do *P. pubescens* como potente fonte natural antifúngica para controle da infestação por esse fungo nos cultivares de arroz.

Atualmente, a aplicação econômica do bambu conta com quatro áreas principais: Ambiental (no controle da erosão e sequestro de carbono), Energética (na produção de bioenergia, energia renovável), Biomassa (produção de fibras naturais para a substituição de madeira, plástico e vidro) e Alimentação (adição de derivados do bambu aos alimentos com função nutricional e antioxidantes) (BRASIL, 2018).

Nesse contexto, da cadeia produtiva do bambu, o Brasil vem há pouco tempo discutindo pontos importantes para a implantação de uma bioeconomia do bambu, alinhada com os objetivos do desenvolvimento sustentável e avaliando as perspectivas e desafios (BRASIL, 2018).

Vale ressaltar que o Brasil é maior centro de ocorrência nas Américas, dispondo de solo e clima favoráveis para o plantio de variedades de bambu, além de contar com um bosque com predominância de bambus na fronteira do Brasil com o Peru, considerado a maior reserva natural mundial (DRUMOND; WIEDMAN, 2017; BRASIL, 2018).

No entanto, a atividade econômica com bambu no Brasil é bastante restrita. Esse cenário deve-se à ausência de tradição no emprego do bambu como matéria-prima e, também, às lacunas de conhecimento e tecnologias que permitam usar tanto as espécies de clima temperado, adequadas aos países, quanto as espécies tropicais nativas, que têm excelentes propriedades, além de grande potencial comercial (DRUMOND; WIEDMAN, 2017).

2.1.1.2 Aplicações medicinais

As aplicações medicinais dos bambus são descritas em diferentes Farmacopeias Asiáticas de Medicina Tradicional. Na Medicina Tradicional Indiana, conhecida como Ayurvédica, assim como na Medicina Tradicional Chinesa e Tibetana, as folhas dos bambus são utilizadas como afrodisíaco, estimulante, emanagogo, anti-helmíntico, para tratamento de doenças respiratórias e gastrointestinais, febre, infecções, hemorragias e hanseníase (NAZREEN et al., 2011; TRIPATHI, 2011; SANGEETHA et al., 2015). Sua ação desintoxicante é conhecida há mais de mil anos na medicina oriental (NI et al., 2012). Preparações medicamentosas de uso popular para a prevenção e tratamento da hipertensão, arteriosclerose, e doenças cardiovasculares também são de uso comum (ZHANG et al., 2005; LU et al., 2005; TRIPATHI, 2011; SANGEETHA et al., 2015).

O suco de seus brotos é indicado por suas propriedades calmantes, depurativas, estomacais e antidisentéricas. A água armazenada nos colmos combate febres, infecções, hemorragias e paralisias, além de ser empregada em tratamentos antiofídicos e contra hanseníase (NAZREEN et al., 2011; SANGEETHA et al., 2015).

Tabasheer ou *Banslochan*, é uma substância branca translúcida, composta principalmente de sílica e água com vestígios de cal e potássio, obtidos das articulações nodais de algumas espécies de bambu, como do *Bambusa arundinacea* Retz. É rica em dióxido de silício (SiO₂) e utilizada tradicionalmente como afrodisíaco e tônico para asma e tosse (RATHAUR, 2013). Em Java (Indonésia), usa-se essa seiva em tratamentos de icterícia (NIRMALA et al., 2014).

Já em Naga (Filipinas), os brotos tenros de *Bambusa tulda* são fervidos e aplicados de maneira tópica no tratamento de catapora e outras doenças dermatológicas (NIRMALA et al., 2014).

Shukla et al. (2012), ressalta que nos livros de medicina tradicional chinesa, há relatos de que todas as partes do bambu encontram aplicações medicinais, as folhas em especial, são muito utilizadas para tratamento da febre.

Kumar, Kumar e Prakash (2012) reportam que as folhas de *Bambusa vulgaris* Linn, uma espécie proveniente da Índia, são muito utilizadas popularmente como adstringente, febrífuga, como soluções oftálmicas, além de serem utilizadas como abortivo, estimulante do apetite, para o tratamento de doenças respiratórias e

gonorréia. Os mesmos autores relatam que no extrato aquoso dessa espécie foram encontrados alcaloides, alguns compostos fenólicos como flavonoides, taninos e antraquinonas, além de terpenoides. Na medicina tradicional nigeriana, a decocção das folhas desse bambu é usada como emanagogo e abortivo (KUMAR; KUMAR; PRAKASH, 2012)

Ainda na Índia, o uso de *Bambusa tulda* Roxb foi relatado para o tratamento de tétano, *Dendrocalamus giganteus* Wall ex. Munro para a produção de drogas estereoidais, e a decocção de folhas de *Dendrocalamus strictus* (Roxb.) Ness, utilizada como abortiva, e a infusão de folhas de *Schizostachyum capitatum* (Trin.) Rupr., para o tratamento de dores estomacais (SHARMA; BORTHAKUR, 2008).

Extratos de *Bambusa arundinacea* têm sido usados na medicina popular indiana para tratar várias condições inflamatórias. Em decocção é usada para estimular a menstruação e como antiespasmódico, para auxiliar no alívio da dor menstrual, em dismenorreia e amenorréia. O suco da folha é utilizado para fortalecer a cartilagem na osteoartrite e osteoporose. As mulheres tribais nos arredores de Salem em Tamil Nadu mastigam suas folhas para induzir o aborto (RATHAUR, 2013).

Sementes de *B. arundinacea* Willd, são usadas pelas tribos Kani distrito de Kanyakumari, Índia. A comunidade não só usa as sementes como alimento, mas também como produto comercial para melhorar a economia local. Eles acreditam que as sementes dessa planta melhoram a fertilidade, originando uma grande demanda dessa espécie para a indústria farmacêutica indiana, especialmente para a fabricação de medicamentos para fertilidade feminina (RATHAUR, 2013).

Tanaka et al (2014), realizaram um estudo para verificar os efeitos do extrato alcoólico e da decocção de várias partes do bambu *Phyllostachys pubescens* sobre a regulação da biossíntese de melanina (inibição ou estimulação), atividades antioxidante, antibacteriana e antialérgica. Diferentes partes do bambu apresentaram bioatividade, o que também variou com o solvente de extração. Os possíveis compostos responsáveis pela ação antialérgica foram apigenina 8-C-glicosilada, os derivados de luteolina e ácido clorogênico. A tricina foi o possível composto responsável pela atividade de inibição antibacteriana e regulação do metabolismo da melanina, enquanto derivados da apigenina podem ser os compostos responsáveis pela a atividade antioxidante. O estudo forneceu informações valiosas sobre o uso potencial do bambu na indústria cosmética e medicamentosa.

Sangeetha et al. (2015) em um compilado sobre o potencial medicinal e farmacológico dos bambus, ressalta as diferentes atividades biológicas que têm sido atribuídas para algumas espécies, como atividade antitumoral, antidiabética, anti-inflamatória e anti-hipertensiva.

O conhecimento popular indica que a água encontrada no interior do bambu denominado criciúma (sem identificação botânica) é utilizada para assepsia e cicatrização de ferimentos, sendo mencionada como “água oxigenada natural”. Chibante (2014), em pesquisa realizada com os usuários do ambulatório de curativos no Sistema Único de Saúde (SUS) de Niterói, Rio de Janeiro, identificou outras formas de cuidar das feridas que não a medicamentosa, sendo a utilização de plantas medicinais uma das alternativas, e também cita que a água encontrada no interior do bambu ou taquara (sem identificação botânica) é usada para assepsia e cicatrização de ferimentos.

Lasiacis ligulata Hitchc. & Chase e/ou *Arundinaria aristulata* Doell, conhecidas popularmente por “taquarinha”, foram indicadas como tratamento complementar ao câncer, por pacientes atendidos no Centro de Pesquisas Oncológicas – CEPON/SC (VIEIRA, 2008).

O uso da taboca (sem identificação botânica) como diurético, em forma de decocto, pela população urbana de Ouro Preto, Minas Gerais, foi mencionado por Messias et al. (2015).

No Paraná, onde é comum a utilização de plantas medicinais para resolução de problemas básicos de saúde, moradores das regiões que envolvem fragmentos florestais de Mata Atlântica, relatam a utilização das folhas e colmos da espécie *Chusquea ramosissima* Lindm, conhecida popularmente como Criciúma ou Bengala, utilizadas em infusão ou maceração para tratamentos em obstetrícia, ginecologia e doenças do trato urinário (BOLSON et al., 2015).

Pesquisas e prospecções têm avançado com espécies de bambus para comprovação das propriedades antes defendidas apenas pelo uso popular tradicional, analisando as atividades antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral, além de uma considerável atividade antifúngica e antimicrobiana (AKAO et al., 2004; FUJIMURA et al., 2005; HONG et al., 2010).

Embora existam relatos na literatura do uso de espécies de bambus para fins medicinais, principalmente as espécies lenhosas asiáticas, ainda são escassos

estudos com bambus nativos brasileiros, que busquem identificar os compostos responsáveis por tais atividades biológicas.

2.1.1.3 Caracterização fitoquímica

Um grande número de estudos demonstraram que os principais grupos de componentes biologicamente ativos em folhas de bambu são, em primeiro lugar, flavonas derivados da luteolina, representados por orientina, isorientina, vitexina, homovitexina e tricina; seguidos pelos composto fenólicos, representados por ácido p-cumárico, ácido clorogênico, ácido caféico e ácido ferúlico (JUN et al., 2004; JIAO et al., 2007; KIM et al., 2009; VAN HOYWEGHEN et al., 2012; SHUKLA et al., 2012; NI et al., 2012; COFFIE et al., 2014).

Kweon et al. (2001), isolaram e identificaram três substâncias fenólicas presentes nas folhas de *Phyllostachys edulis* (Carrière) J. Houz, todas derivadas do ácido clorogênico. Essas substâncias apresentaram uma capacidade antioxidante de sequestro do radical superóxido superior ao ácido ascórbico e ao tocoferol, potentes antioxidantes naturais. A capacidade antioxidante é uma das propriedades importantes relatadas para as folhas de bambu (JUN et al., 2004; LU et al., 2006; PARK et al., 2007; TANAKA et al., 2014; KIM et al., 2014; TRIPATHI, 2015; GONG et al., 2016; LIU et al., 2016; THOMAS et al., 2016).

As folhas de bambu, obtidos a partir de espécies comuns (*Phyllostachys*) têm sido recentemente utilizadas como uma fonte de flavonoides (por exemplo, vitexina e orientina), utilizados como antioxidantes. Os flavonoides podem reduzir a inflamação, promover a circulação, e inibir as reações alérgicas. No entanto, bambus também podem conter substâncias tóxicas ou irritantes, como glicosídeos cianogênicos (SHUKLA et al., 2012).

Dos flavonoides já descritos em bambus, há um grande interesse na tricina, por seu potencial como agente químico para prevenção de câncer (HUDSON et al., 2000; JIAO et al., 2007; LI et al., 2016).

Embora a maioria dos estudos fitoquímicos com espécies de bambus destaquem as substâncias fenólicas como os constituintes presentes em maior abundância, existem estudos que evidenciam a presença de outras classes de

metabólitos, como alcaloides (BARTHOLOMEW et al., 2013), glicosídeos cianogênicos (COFFIE et al., 2014) e terpenoides (TONGCO et al., 2014). Um exemplo é o isolamento e a identificação realizadas por Horst (2018), do composto friedelina, conhecido por sua ação anti-inflamatória e antibacteriana, e o flavonoide tricina das folhas de *Chusquea pinifolia*.

Estudos fitoquímicos dos bambus produziram informações sobre os constituintes químicos, mas nenhuma avaliação sistemática foi realizada, por isso é difícil determinar qual dos compostos identificados pode estar entre os componentes ativos primários responsáveis pelas atividades biológicas.

2.1.1.4 Taquaras: herança tupi-guarani no sul de Santa Catarina

Segundo estudos arqueológicos, os grupos tradicionais Guarani originários da Amazônia se dispersaram pelo território nacional ocupando as Bacias dos rios Paraguai, Paraná e Uruguai e o litoral Atlântico a aproximadamente 3000 anos e tiveram sua subsistência pautada no manejo ambiental e domesticação de recursos florestais. Na região sul do Brasil ocuparam distintas regiões fitogeográficas como ambientes florestais de Mata Atlântica e Pampas. As plantas citadas nas revisões bibliográficas, têm famílias botânicas com estreita relação com as formações florestais atlânticas (BONOMO et al., 2015).

Modificando o ambiente que se instalavam, os guaranis contribuíam diretamente na distribuição das espécies domésticas encontradas nas florestas (LEVIS et. al., 2017). Existem evidências sobre as modificações dos ecossistemas causadas pelos povos indígenas, e no caso dos Guarani, há registro de trilhas, caminhos ao longo das matas para conectar as diversas aldeias (DEAN, 2002). Estes caminhos formariam redes que conectariam as aldeias aos locais de exploração de recursos da mata, dos sistemas fluviais e do mar, característicos da ocupação do litoral meridional brasileiro, desde Rio Grande até Paranaguá, inteiramente dentro do Bioma Mata Atlântica (NOELLI, 2004). Dessa forma, fica claro a distribuição de espécies botânicas de famílias diferentes que sofreram disseminação e adaptação ao longo dos famosos caminhos guarani.

No litoral sul de Santa Catarina a ocupação ocorreu nas planícies arenosas e nas encostas da Serra Geral (CAMPOS et al., 2013) onde, atualmente, predominam as famílias botânicas Myrtaceae, Fabaceae, Asteraceae e Orchidaceae (GASPER, et al., 2012).

Pereira (2016), em vasto estudo realizado no sul catarinense, identificou 131 famílias botânicas utilizadas pelas populações indígenas guarani, onde a família Poaceae aparece em quinto lugar quanto à utilização, onde as taquaras, especialmente *Chusquea ramosissima* Lindm, considerada a espécie mais agressiva e abundante deste gênero no sul do Brasil.

As ligações das tabocas e taquaras com a história do Brasil são remotas. Na verdade, remontam o primeiro documento sobre a flora brasileira, a carta de Pero Vaz de Caminha ao Rei Dom Manoel I. Na carta, Caminha, relata o nome de 45 plantas, dentre elas, pelo menos três referem-se a tabocas e taquaras da Mata Atlântica (FILGUEIRAS; PEIXOTO, 2002). Através dos séculos essas plantas têm fornecido matéria prima para construção de casas, abrigos, arcos, cestos, balaios, flautas rituais e outros utensílios para uso das populações autóctones quanto dos habitantes do meio rural e urbano em várias regiões país (PEREIRA, 2016).

Tabocas e taquaras possuem inúmeros nomes que podem designar essas plantas, com ampla origem no tupi-guarani. O mero significado desses nomes revela uma gama de informações sobre as tabocas e taquaras, que seguramente, enriquecem o conhecimento dessas plantas como componentes da biodiversidade brasileira (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2007).

No tupi-guarani cada palavra que se forma a partir da matriz “taquara”, assume significado especial pela adição de sufixos ou de outras sutis modificações no original indígena. (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2007). A flora bambusóide do Brasil, agrega 34 nomes de origem tupi-guarani que se referem a tabocas e taquaras. Entre as espécies do sul do Brasil, as de maior importância são citadas no QUADRO 2.

QUADRO 2 - DENOMINAÇÕES TUPI-GUARANI PARA TAQUARAS E TABOCAS NO SUL DO BRASIL

Cambajuva	caracteriza <i>Aulonemia ulei</i> (Hack), taquarinha de porte médio, encontrada em campos turfosos de altitude no sul do Brasil;
Criciúma	designa tabocas e taquaras de porte pequeno a médio, formando às vezes, renques impenetráveis (crissiumal). Gêneros: <i>Aulonemia</i> Godot e <i>Chusquea</i> Kunth;
Gurixima	encerra a idéia de uma planta com caule trepador de certas espécies de <i>Chusquea</i> . Exemplo: <i>Chusquea capituliflora</i> , taquarinha das matas do sul;
Taboca	significa "taquara que estala". São conhecidos vários tipos de tabocas, designando diversas espécies botânicas;
Taquara	significa haste furada, oca. Taquá é sua forma abreviada.
Taquarembó	significa riacho de taquaras. Gêneros: <i>Actinocladum</i> Soderstr, <i>Apoclada</i> McClure, <i>Aulonemia</i> , <i>Colantheia</i> , <i>Chusquea</i> e <i>Gadua</i> .

FONTE: Adaptado de FILGUEIRAS; GONÇALVES (2007).

Exemplo da interação entre povos indígenas, ambiente e colonizadores é a origem do nome da cidade de Criciúma, localizada no sul catarinense e cidade polo da região de coleta da *Parodiolyra micrantha*, objeto dessa pesquisa.

A versão oficial da origem do nome da cidade remonta à época da colonização, quando as famílias de imigrantes italianos chegaram em 1880, e encontraram os povos indígenas Guarani e Xokleng. Foi deles que ouviram as expressões como "Kyruiy-Syiuâ" ou "Quirey-Cy-uâ". "Kyruiy" significa mole, "Syl" liso e "Uâ", o nome que chamavam a taquarinha ou capim, que existia em abundância às margens dos rios. O vocábulo foi mudando conforme os colonos italianos iam ouvindo a pronúncia dos índios, se aproximando assim de Cricixiúma, Cressúma e finalmente Cresciuma (BELOLLI; PIMENTEL, 1974).

Várias gramíneas são conhecidas por capim/taquara criciúma, entre eles *Chusquea bambusoides*, *Chusquea meyeriana* e espécies do gênero *Arundinariae*. Em termos indígenas, o nome Criciúma corresponde à "vara lisa e delicada, uma taquara pequena". O capim criciúma também era denominado entre os guaranis como *Takuarembó* (NOELLI, 1993; OLIVEIRA, 2009; CADOGAN, 1955; KELLER, 2010a).

A presença desta planta no dia a dia guarani é enfatizada por alguns historiadores. Seu uso é relatado para o corte, tanto para cabelos e pêlos corporais, mas também em casos emergenciais, como facas para cortar peixes e outros animais. Usando a cana faziam "hastes xamânicas" para as crianças, os caules e as folhas queimadas produziam colorante corporal preto, com fins terapêuticos e de proteção espiritual. (KELLER, 2010a; 2010b).

Atualmente, com a diminuição das áreas de mata nativa na região, o capim criciúma não é mais encontrado em grande escala, embora ainda se desenvolva em alguns remanescentes de mata atlântica na região sul catarinense.

2.1.1.5 A presença de bambus em áreas remanescentes da exploração carbonífera

Os fragmentos florestais remanescentes sofreram, em sua maioria, algum nível de exploração direta de seus recursos naturais, o que acarretou a alteração de seus habitats, da composição de suas espécies e de seus processos ecológicos (Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2014). Tais alterações criam condições ideais para a ocupação de espécies oportunistas de rápido crescimento e, por vezes, invasoras. Embora o termo espécie invasora seja normalmente atrelado às exóticas (não autóctones), que causam impactos econômicos e ecológicos negativos (BECK et al., 2008), espécies nativas (autóctones) também podem vir a causar danos que rivalizam com os acarretados pelas espécies invasoras (CAREY et al., 2012) e, portanto, recebem tal denominação.

Em Santa Catarina, a exploração de carvão mineral caracterizou-se, desde o início, como atividade econômica fundamental ao desenvolvimento de toda a região sul do estado (DE LUCA; GASTALDON, 1999). A extração, o beneficiamento e a utilização desse recurso energético são atividades potencialmente poluidoras, representando elevado risco de comprometimento ambiental, como a alteração da paisagem, das comunidades faunísticas e florísticas e contaminação do solo, do ar e dos recursos hídricos, além da interferência no microclima (COSTA; ZOCCHET, 2009).

A exploração do mineral pode ocorrer em lavras de minas subterrâneas ou a céu aberto. No processo de mineração a céu aberto, a remoção das camadas do solo é feita de forma desordenada, provocando a sua inversão e gerando pilhas de materiais geológicos que têm na sua base a camada fértil do solo, causando, portanto, perda do solo e conseqüente degradação (DE LUCA; GASTALDON, 1999; ARAÚJO et al., 2005; COSTA; ZOCCHET, 2009).

O material vegetal foi coletado na localidade de Santana, município de Urussanga, cidade integrante da bacia carbonífera de Santa Catarina. A área da

coleta do espécime *Parodiolyra micrantha*, caracteriza-se por ter sido exaustivamente explorada em busca do carvão mineral, tanto por lavra subterrânea quanto por lavra a céu aberto. Em seu entorno encontramos resquícios de mineração, reflorestamento por eucalipto e pequenos locais com remanescentes de Mata Atlântica, criando um mosaico ambiental complexo e alterado (DE LUCA; GASTALDON, 1999).

Em várias regiões do mundo, a degradação dos fragmentos florestais tem propiciado um intenso aumento populacional de bambus, que, por sua vez, está atrelado às modificações na estrutura e composição florísticas desses fragmentos, assim como às mudanças nos processos hidrodinâmicos e de ciclagem de nutrientes de seus respectivos ecossistemas (ABE et al., 2002; MARTINS et al., 2004; HOLZ; VEBLEN, 2006).

Bambus, de maneira geral, têm distribuição descontínua, mas são capazes de mostrar comportamento invasivo em habitats alterados, especialmente em lacunas e fronteiras florestais (VINHA et al., 2011). Embora o papel invasivo e degradante de populações de bambus ainda esteja, em grande parte, ausente das discussões técnico-científicas e das políticas públicas ligadas à conservação e ao uso dos recursos naturais, a dimensão dessa problemática já foi detectada em diferentes ecossistemas do mundo (SUZUKI, 2015; PIVELLO et al., 2018)

O Inventário Florestal Florístico de Santa Catarina detectou a frequente presença de bambus nativos em fragmentos florestais avaliados (VIBRANS et al., 2013a, 2013b). Pode-se inferir que parte significativa deles no sul do Brasil encontra-se sob pressão ecológica e possivelmente em processo de empobrecimento do componente arbóreo decorrente da ocupação em larga escala de espécies nativas de bambu que assumem caráter invasivo. Tais observações, aliadas a trabalhos de outros autores (BUDKE et al., 2010; KELLERMANN, 2011; LACERDA; KELLERMANN, 2013) demonstram a importância de avaliar com maior precisão a abrangência e os impactos que tais espécies têm sobre a conservação das florestas.

Poucas são as informações morfológicas ou químicas existentes acerca dos solos construídos após a mineração de carvão a céu aberto. Considerando que a fertilidade do solo reflete a distribuição e abundância de espécies vegetais (RODRIGUES et al., 2007), acredita-se que a composição química da planta tenha reflexos da composição química do solo, diferenciando-se das espécies coletadas em outros locais que não sofreram as consequências ambientais da mineração de carvão.

É importante a priorização de estudos sobre a biodiversidade em paisagens alteradas, incluindo os aspectos básicos: os diversos impactos causados pelas atividades de mineração e os processos adaptativos envolvendo a flora em tais circunstâncias (JOLY et al., 2011).

As paisagens carboníferas têm não apenas importância socioeconômica, mas também histórica, cultural e biológica, principalmente no que tange aos aspectos ecológicos. Além disso, é necessário a compreensão da amplitude dos impactos ecológicos dos bambus sobre fragmentos das florestas ombrófilas do sul do Brasil

2.2 GÊNERO *Parodiolyra* Soderstrom & Zuloaga

O gênero *Parodiolyra* pertence a tribo Olyreae (Poaceae: Bambusoideae), onde estão inclusos os bambus herbáceos (SORENG et al. 2015). As espécies estão distribuídas nas florestas tropicais e subtropicais do planeta, especialmente nos Neotrópicos, não alcançando as regiões temperadas e frias, ou altitudes acima de 1000 metros (JUDZIEWICZ et al., 1999; ZHANG; CLARK, 2000).

Seus representantes são plantas de sub-bosque de florestas, intolerantes à radiação direta do sol, rizomatosas (raro sem rizoma), ocasionalmente estoloníferas ou escandentes, entouceirantes, de pequeno a médio porte, com colmos não lignificados, de reduzida ramificação vegetativa, e com espiguetas unissexuadas, distribuídas em diferentes partes na mesma planta (JUDZIEWICZ et al. 1999; FILGUEIRAS; GONÇALVES 2004).

No Brasil, são conhecidas popularmente pelo termo indígena *taquari*, que significa taquara fina ou de pequeno porte (FILGUEIRAS; GONÇALVES, 2007). Segundo Oliveira et al. (2006), as maiores taxas de *Parodiolyra* ocorrem na Bahia, mas há ocorrência esporádica em todas as regiões do país (FIGURA 3).

FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO *Paradiolyra* NO BRASIL

FONTE: PARODIOLYRA, 2020

Paradiolyra é composto por quatro espécies florestais (QUADRO 3), ocorrendo da Costa Rica até o Paraguai e sul do Brasil (LONGHI-WAGNER, 2001), sendo apenas uma endêmica (FILGUEIRAS; VIANA, 2017).

QUADRO 3 - ESPÉCIES DO GÊNERO *Paradiolyra*

<i>Paradiolyra lateralis</i> (J.Presl ex Nees) Soderstr. & Zuloaga
<i>Paradiolyra luetzelburgii</i> (Pilg.) Soderstr. & Zuloaga
<i>Paradiolyra micrantha</i> (Kunth) Davidse & Zuloaga
<i>Paradiolyra ramosissima</i> (Trin.) Soderstr. & Zuloaga

FONTE: PARODIOLYRA, 2020

2.3 ESPÉCIE *Paradiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga

Paradiolyra micrantha é uma espécie sul americana, presente na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Peru, Paraguai, Venezuela e Guianas e com registro também para as Ilhas Fiji, onde provavelmente foi introduzida (VAN OHRNBERGER et al., 1999).

No Brasil, apresenta ampla distribuição, com citação para todas as regiões, especialmente para os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (BFG, 2015). Seu enquadramento taxonômico é apresentado no QUADRO 4.

QUADRO 4 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE *Paradiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga

HIERARQUIA	TAXONOMIA
ESPÉCIE	<i>Paradiolyra micrantha</i> (Kunth) Davidse & Zuloaga
GÊNERO	<i>Paradiolyra</i>
SUBTRIBO	OLYRINAE
TRIBO	OLYREAE
SUBFAMÍLIA	BAMBUSOIDEAE
FAMÍLIA	POACEAE
ORDEM	POALES
REINO	PLANTAE

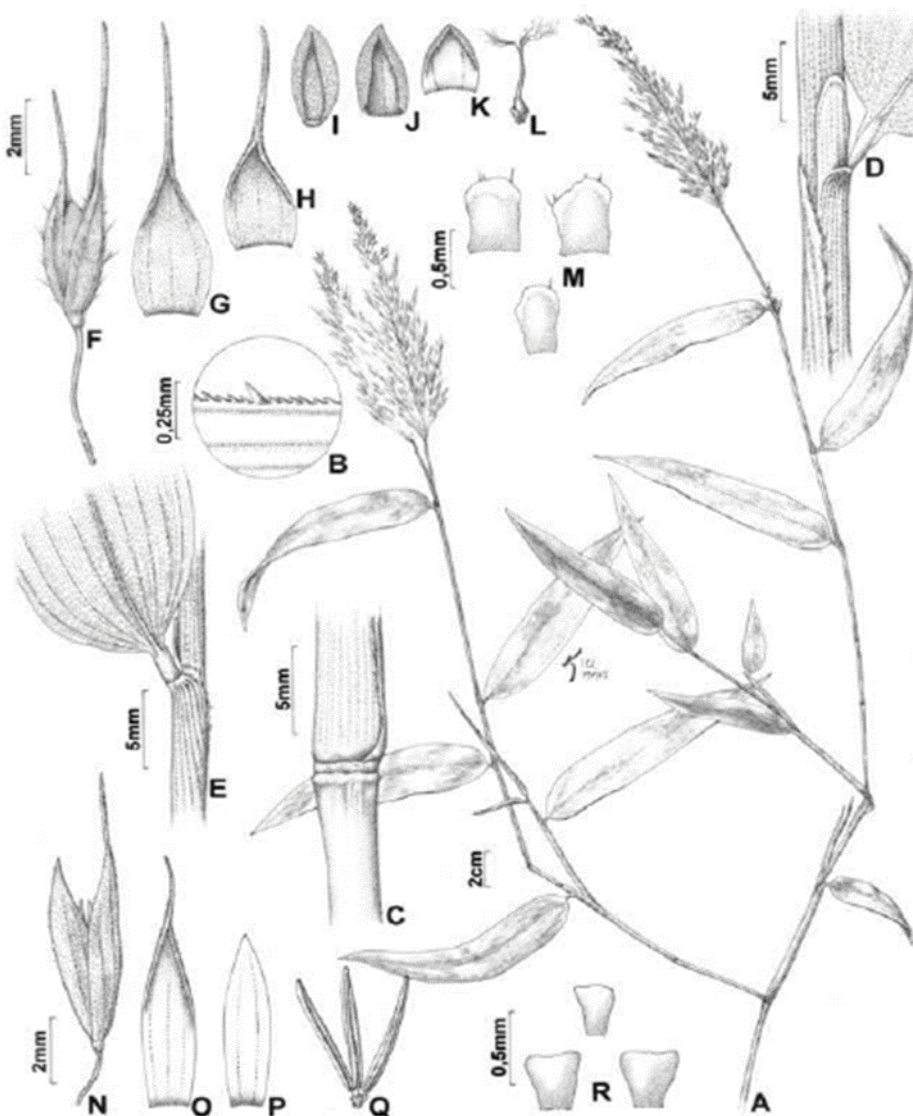
FONTE: PARODIOLYRA, 2020

A subtribo Olyrinae abriga bambus herbáceos com características morfológicas semelhantes. São plantas com bainhas foliares sem fímbrias no ápice e espiguetas estaminadas e pistiladas isoladas, distribuídas em diferentes partes da inflorescência ou em inflorescências distintas, na mesma planta. Compreende 18 gêneros neotropicais, dos quais 14 ocorrem no Brasil (*Agnesia*, *Arberella*, *Cryptochloa*, *Diandrolyra*, *Froesiochloa*, *Lithachne*, *Olyra*, *Paradiolyra*, *Piresia*, *Raddia*, *Raddiella*, *Rehia*, *Reitzia* e *Sucrea*) e quatro ocorrem no exterior (*Ekmanochloa*, *Maclurolyra*, *Mniochloa* e *Piresiella*) (JUDZIEWICZ et al., 1999; ZHANG; CLARK, 2000; SORENG et al., 2015).

Paradiolyra micrantha pode ser reconhecida, especialmente, pela superfície foveolada do antécio pistilado e pela peculiar lígula interna, muito conspícua atingindo 20 mm de comprimento, fusionada lateralmente a uma das margens da bainha. Os colmos crescem e se arqueiam na região apical e seguem em processo de crescimento até tocarem o solo (GRECO; ZANNIN, 2017).).

A FIGURA 4 apresenta as principais características vegetativas de *Paradiolyra micrantha*.

FIGURA 4 – CARACTERÍSTICAS VEGETATIVAS DE *Parodiolyra micranta* (Kunth) Davidse & Zuloaga



FONTE: SHIRASUNA, 2012.

NOTA: A. Ramo fértil. B. Margem da lâmina do colmo. C. Nó do colmo. D-E. Distintas vistas de um fragmento do colmo mostrando o ápice da bainha e base abaxial da lâmina. F. Espiguetas feminina. G. Gluma I. H. Gluma II. I. Antécio. J. Lema. K. Pálea. L. Flor feminina. M. Lodículas da flor feminina. N. Espiguetas masculina. O. Lema. P. Pálea. Q. Flos masculina. R. Lodículas da flor masculina.

Assemelha-se vegetativamente a *Olyra latifolia*, na altura da planta, dimensões da lâmina foliar e diâmetro basal dos colmos, e por ambas apresentarem frequentemente ramificações nos nós superiores e nós radicantes quando em contato com o solo. Diferem principalmente pela superfície do antécio pistilado, foveolada em

Parodiolyra micrantha e lisa (menos frequentemente rugoso na mesma planta) em *O. latifolia* (GRECO; ZANNIN, 2017).

O epíteto *micrantha* provém do grego *micros* (pequeno) e *anthos* (flor) em referência às espiguetas relativamente pequenas (SMITH et al., 1981). Devido à tolerância a exposição direta ao sol, poderia ser recomendado seu uso em projetos de recuperação de áreas degradadas, além de ser pioneira em ambientes florestais antropogênicos (SHIRASUNA; FILGUEIRAS, BARBOSA, 2013; FILGUEIRAS; VIANA, 2017).

É amplamente distribuída em florestas neotropicais (LONGHI- WAGNER et al., 2001), sendo uma das espécies mais comuns de bambus herbáceos. Possui grande amplitude ecológica, sendo encontrada nas bordas de florestas tropicais, matas ciliares, pântanos e até áreas montanhosas, como por exemplo as montanhas da Chapada Diamantina (OLIVEIRA, 2001).

Genericamente, é denominada taquara, taquarinha, taboca e capim criciúma, gerando um grande conflito quanto à correta identificação botânica, já que os gêneros *Chusquea* e *Guadua* também recebem as mesmas denominações (GRECO; ZANNIN, 2017).

Os levantamentos etnobotânicos e etnofarmacológicos de *Parodiolyra micrantha* são escassos. Bieski et al. (2015), em pesquisa de plantas medicinais utilizadas pela população do Mato Grosso, cita o uso da espécie, denominada popularmente como bambuzinho, para o tratamento de doenças gastrintestinais e renais (BIESKI et al., 2015).

Os dados encontrados na revisão da literatura, referente a *Parodiolyra micrantha*, são específicos para taxonomia e morfoanatomia botânica, além de estudos de composição florística e ambiental de alguns biomas. Não foram encontrados estudos de identificação dos seus compostos químicos e de suas possíveis atividades biológicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE COLETA

As folhas de *Parodiolyra micrantha* foram coletadas no distrito de Santana, município de Urussanga, Santa Catarina, nas coordenadas geográficas 28°26'39.8"S 49°20'22.3"W, no mês de agosto de 2018. A FIGURA 5 mostra a localização geográfica e a FIGURA 6, a espécie *Parodiolyra micrantha* no local de coleta.

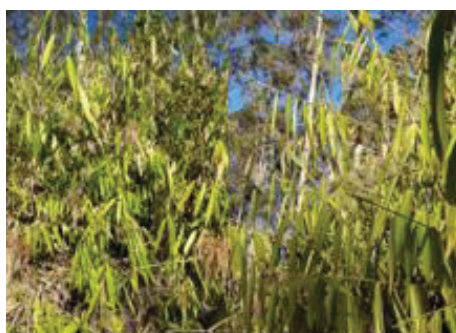
FIGURA 5 - LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DA ÁREA DE COLETA



Fonte: A Autora (2018).

O local da coleta do material vegetal, caracteriza-se por ter sido exaustivamente explorado em busca do carvão mineral, tanto por lavra subterrânea quanto por lavra a céu aberto. Em seu entorno encontramos resquícios de mineração, reflorestamento por eucalipto e pequenas áreas com remanescentes da Mata Atlântica, formando um mosaico ambiental complexo e alterado.

FIGURA 6 - FOTOGRAFIA DA ESPÉCIE *Parodiolyra micrantha* NO LOCAL DE COLETA



Fonte: A Autora (2018)

3.2 MATERIAL VEGETAL

Folhas (2,3 Kg) de *Parodiolyra micrantha* foram coletadas de quatro indivíduos diferentes na mesma área. Na FIGURA 7, mostra as folhas e a planta inteira com suas sumidades florais (espiguetas) e os frutos, característicos de gramíneas.

Do material coletado, foi confeccionada exsicata e sua identificação foi realizada pelo curador Pedro L. Viana do Herbário MG do Museu Paraense Emílio Goeldi, e o exemplar foi tombado no Herbário Municipal de Curitiba (MBM) sob o número MBM 415067 (ANEXO 1).

FIGURA 7 - FOLHAS, FLORES E FRUTOS DE *Parodiolyra micrantha*



Fonte: A Autora (2018)

NOTA: **A** – folhas. **B** - planta inteira com frutos (a esquerda) e planta inteira com flores (a direita)

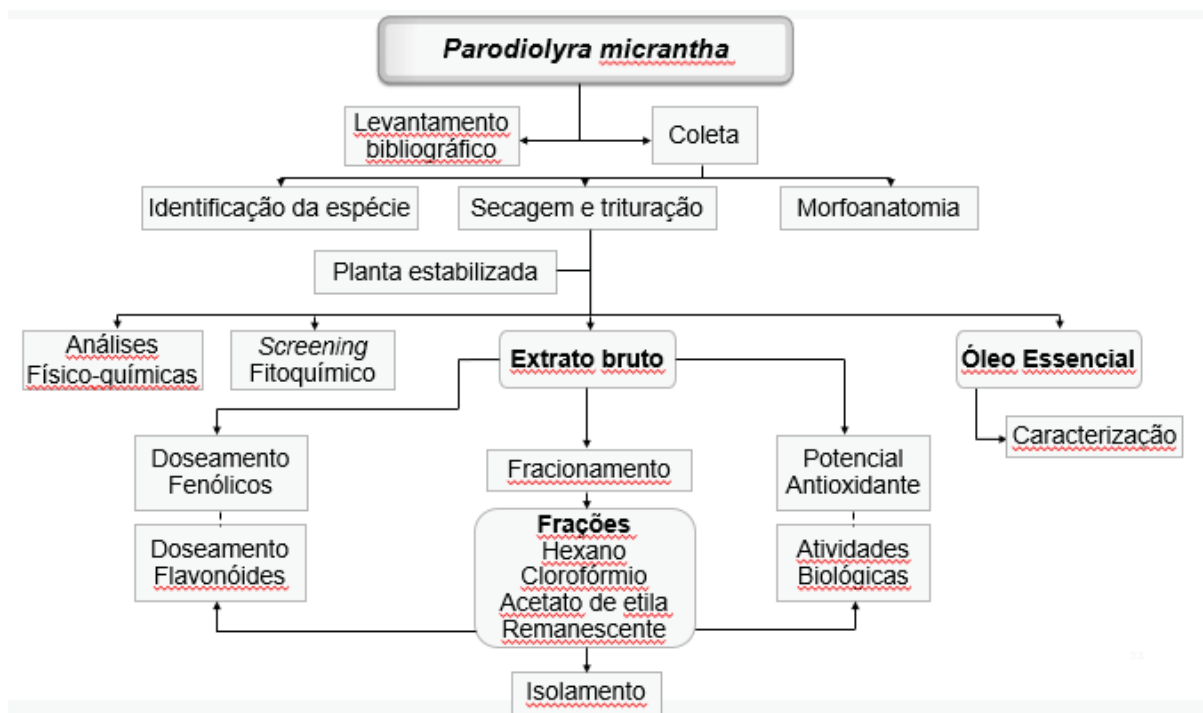
A utilização da espécie em estudo possui autorização de acesso ao patrimônio genético pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen, para acesso ao patrimônio genético: número de cadastro A339175 (ANEXO 2)

A secagem do material vegetal coletado foi realizada em ambiente com sombra e circulação de ar, obtendo o material de estudo.

Após a secagem, as folhas foram trituradas com o auxílio de um moinho de facas e martelos para a realização dos estudos descritos posteriormente, resultando em 1827,6 g de folhas secas. Esta quantidade foi utilizada nas análises físico-químicas, ensaio sistemático em análise fitoquímica e obtenção de extrato bruto.

A seguir é apresentado um fluxograma resumido (FIGURA 8) com as etapas dos procedimentos e execuções da pesquisa a partir da espécie vegetal.

FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DA PESQUISA



FONTE: A Autora (2018).

3.3 ESTUDO MORFOANATÔMICO

Folhas frescas foram coletadas e adicionadas em solução fixadora com o objetivo de preservar a estrutura celular mantendo-a o mais próxima possível das condições apresentadas pelo material vivo. A solução fixadora utilizada foi a FAA, composta de formaldeído, ácido acético e etanol 70%, na proporção 0,5:0,5:9 (v/v). Esta fixação preserva as estruturas celulares, bloqueando o seu metabolismo e processos vitais de autólise (JOHANSEN, 1940). Após uma semana de fixação, as folhas foram estocadas em etanol 70% (BERLYN; MIKSCHE, 1976) até o preparo das

lâminas utilizadas na identificação das estruturas por microscopia, realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

3.3.1 Preparo de lâminas semipermanentes

As lâminas semipermanentes foram obtidas através de secções transversais e cortes paradérmicos, à mão livre (OLIVEIRA; AKISUE, 1997), os quais foram corados pela técnica de dupla coloração, com Safrablau, uma mistura de safranina e azul de astra (O'BRIEN; FEDER; McCULLY, 1964). Com o azul de astra é possível corar celulose e xilema, já com a safranina é possível visualizar tecidos lignificados e epiderme. Para a montagem das lâminas foi utilizada glicerina 50%, com a função de manter os cortes hidratados (BERLYN; MIKSCHE, 1976). A lutagem foi realizada com esmalte incolor (BEÇAK; PAULETTE, 1976).

3.3.2 Preparo de lâminas permanentes

A técnica de inclusão em parafina foi realizada para a preparação das lâminas permanentes (CAPUTO; GINTINARA; MANSO, 2011), a partir do material vegetal previamente fixado e armazenado em etanol 70%. Neste material foram feitas secções de 7-9 μm no plano transversal em micrótomo rotatório Spencer 820. As secções foram hidratadas, distendidas em lâminas e secas em mesa térmica a 40°C. Para a coloração empregou-se corante Safrablau (O'BRIEN; FEDER; McCULLY, 1964) e como meio de montagem foi usado o Entellan®.

3.3.3 Testes histoquímicos

Para os testes histoquímicos foram feitas secções transversais à mão livre do material fixado e utilizados os reativos conforme o QUADRO 5.

QUADRO 5 - REATIVOS PARA O TESTE HISTOQUÍMICO

COMPOSTOS	REATIVO	REFERÊNCIA
Compostos fenólicos	Cloreto férrico	JOHANSEN, 1940
Lipídeos	Sudam III	SASS, 1951
Amido	Lugol	BERLYN; MIKSCHE, 1976

FONTE: A Autora (2019).

Os resultados foram registrados através de fotomicrografias em microscópio óptico acoplado à câmera digital.

3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

3.4.1 Umidade (Perda por dessecação)

A determinação de umidade é realizada com a finalidade de determinar a quantidade de substância volátil eliminada de qualquer natureza.

O método de escolha para avaliação de umidade na espécie *Parodiolyra micrantha* está descrito na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019).

Previamente a realização das análises, 3 cadinhos foram identificados e dessecados (triplicata). Amostras do material vegetal (folhas secas e trituradas), aproximadamente 2 g, foram colocadas nos cadinhos dessecados, e posteriormente pesados. Estes cadinhos foram levados a estufa por 2 horas em temperatura de 100°C. Após o resfriamento em dessecador, os cadinhos foram novamente pesados até observação de peso constante.

Posteriormente, foi calculada a porcentagem de umidade em relação ao material vegetal original através da fórmula (1):

$$(1) \% \text{ de umidade} = [(P2 - P1) / P3] \times 100$$

Onde:

P1 = Peso do cadinho com amostra após a dessecação em estufa;

P2 = Peso do cadinho com amostra antes da dessecação em estufa;

P3 = Peso da amostra inicial.

3.4.2 Cinzas totais

A determinação de cinzas totais é realizada com a finalidade de estabelecer a quantidade de substâncias inorgânicas não voláteis obtidas no processo de incineração.

O método de escolha para avaliação de cinzas totais na espécie *Parodiolyra micrantha* está descrito na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019).

Previamente a realização das análises, 3 cadinhos foram identificados, dessecados, resfriados e pesados (triplicata). Amostras do material vegetal (folhas secas e trituradas), aproximadamente 3 g, foram colocadas uniformemente nos cadinhos dessecados, os quais foram levados a incineração por 6 horas em mufla, com aumento gradativo de temperatura até $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$, tornando-se cinzas. Após o resfriamento em dessecador, estes cadinhos contendo resíduos foram novamente pesados.

Posteriormente, foi calculada a porcentagem de cinzas totais em relação ao material vegetal original através da fórmula (2):

$$(2) \quad \% \text{ de cinzas totais} = [(P2 - P1) / P3] \times 100$$

Onde:

P1 = Peso do cadinho após a dessecação e resfriamento em dessecador;

P2 = Peso do cadinho com amostra após a calcinação e resfriamento em dessecador;

P3 = Peso da amostra inicial.

3.5 ESTUDO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

O estudo fitoquímico preliminar é realizado com a finalidade de caracterizar qualitativamente os principais grupos químicos do metabolismo secundário da espécie vegetal em estudo.

Para elaboração destes testes, foi utilizada a metodologia desenvolvida por Moreira (1979) e adaptada por Miguel (2003). A partir do material vegetal seco e triturado, foram preparados extratos hidroalcoólico e aquoso das folhas, os quais passaram por reações colorimétricas ou precipitação.

Os componentes químicos pesquisados no extrato hidroalcoólico foram: alcaloides, leucoantocianidinas, flavonoides, cumarinas, compostos iridoides, antraquinonas, esteroides e/ou triterpenos. Já no extrato aquoso: heterosídeos antociânicos, heterosídeos saponínicos, heterosídeos cianogênicos, taninos, amino grupos, ácidos fixos e ácidos voláteis.

3.5.1 Extrato hidroalcoólico

O preparo do extrato hidroalcoólico foi realizado a partir de 40 g do material vegetal (folhas secas e trituradas), o qual foi macerado com 200 mL de etanol 70%, em banho-maria a 70 °C por 1 hora. Este macerado resultante foi filtrado em papel de filtro.

Em seguida, o extrato hidroalcoólico foi fracionado. Esta partição ocorreu em funil de separação, com solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Por meio da solubilidade, estes solventes utilizados no particionamento orientam a pesquisa dos compostos químicos, em relação à sua estrutura molecular.

No funil de separação, contendo o extrato hidroalcoólico, foram adicionados 40 mL do primeiro solvente, hexano. O funil foi agitado, ocorrendo a separação da fração dissolvida. Esta etapa foi repetida por 5 vezes; e completou-se o volume da fração com o solvente extrator para 200 mL. Este procedimento foi repetido com o clorofórmio e acetato de etila, obtendo-se 200 mL de cada fração. O resíduo do extrato foi chamado de fração hidroalcoólica remanescente, e seu volume completado para 200 mL com etanol 70%. As frações foram mantidas refrigeradas até a realização da pesquisa de cada marcador.

3.5.1.1 Pesquisa de alcaloides

Os alcaloides são compostos básicos e sua solubilidade varia de acordo com variações no pH. A pesquisa qualitativa se baseia na capacidade de combinação dos alcaloides, em estado de sal (extratos ácidos), com o iodo e metais pesados (bismuto, mercúrio, tungstênio), formando precipitados coloridos.

Nesta técnica, 50 mL de cada uma das frações foi levada a secura em banho-maria a 70°C e os resíduos foram dissolvidos em 1 mL de etanol e 20 mL de ácido clorídrico 1% (v/v). Para cada fração testada, foi transferido 1 mL para 4 tubos de ensaio. O quarto tubo foi utilizado como controle negativo, contendo somente o extrato clorídrico. Nos demais tubos, foram adicionadas duas gotas dos reativos gerais para alcaloides: Mayer (mercúrio tetraiodeto de potássio), Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio) e Bouchardart (iodo-iodeto de potássio).

O aparecimento de precipitado de diferentes colorações indica reação positiva para alcaloides, sendo branco para o reativo de Mayer, cor tijolo para o reativo de Dragendorff e alaranjado para o reativo de Bouchardat.

3.5.1.2 Pesquisa de leucoantocianidinas

As leucoantocianidinas são flavonoides monoméricos 3,4-diois. A reação se explica pela redução da leucoantocianidina em antocianidina, na presença de ácido clorídrico, com alteração de coloração de amarelo para vermelho.

Para esta reação, foram transferidos 10 mL das frações hexano, clorofórmio e acetato de etila para cápsulas de porcelana, as quais foram levadas a secura. A fração remanescente hidroalcoólica também teve seu volume transferido, porém não necessitava de concentração. Em seguida, foram adicionados 5 mL de etanol, 5 gotas de ácido clorídrico concentrado e as 4 cápsulas foram levadas a ebulição. O desenvolvimento de coloração vermelha indica reação positiva.

3.5.1.3 Pesquisa de heterosídeos flavônicos

Foram empregadas duas técnicas para identificação de flavonoides.

a) Pesquisa de flavonoides

Em banho-maria, cápsulas contendo 20 mL das frações hexano, clorofórmio e acetato de etila foram levadas a secura e posteriormente, redissolvidas com 10 mL de

etanol. Em seguida, foram transferidos 5 mL de cada uma das frações, inclusive a remanescente hidroalcoólica que não necessita ser seca, para tubos de ensaio.

Os tubos de ensaio foram colocados na capela em um béquer contendo gelo, devido a ocorrência de uma reação exotérmica na etapa posterior. Assim, foram adicionados 200 mg de limalha de magnésio e ácido clorídrico fumegante, lentamente. A reação positiva desenvolve coloração rosa.

b) Teste do oxálico bórico ou Reação de Taubock

Em banho-maria, cápsulas contendo 10 mL das frações remanescente hidroalcoólica, hexano, clorofórmio e acetato de etila foram levadas a secura. Ao resíduo, foram adicionadas 5 gotas de acetona e 30 mg de mistura de ácido bórico e ácido oxálico (1:1), os quais foram levados a secura e redissolvidos com 5 mL de éter etílico. Este volume foi transferido para tubos de ensaio para visualização de fluorescência em câmara de luz ultravioleta. A reação positiva desenvolve fluorescência amarela esverdeada, explicada pela formação de quelatos.

c) Ensaio com Zinco em HCl

Levar a secura em cápsula de porcelana, 10 mL das frações hexano, clorofórmio e acetato de etila. Não necessidade de concentrar a fração hidroalcoólica. Dissolver o resíduo em 10 mL de etanol 70%. Em seguida transferir 5 mL de das frações dissolvidas para tubo de ensaio, inclusive 5 mL da fração hidroalcoólica, juntar uma pastilha de zinco, adicionar HCl fumegante (reação exotérmica, realizada em banho de gelo, na capela). A reação positiva produz coloração rosa - violeta.

3.5.1.4 Pesquisa de cumarinas

Para esta análise, 30 mL das frações hexano, clorofórmio e acetato de etila foram concentradas em banho-maria até volume de 5 mL cada. Na remanescente hidroalcoólica, 30 mL da fração foi acidificada até pH 1,0 com ácido clorídrico concentrado e posteriormente, foi também concentrada até volume de 5 mL. Após o resfriamento, a fração remanescente concentrada foi transferida para funil de

separação e extraída com 2 porções de 10 mL de éter etílico. As frações etéreas das duas extrações foram misturadas e evaporadas em banho-maria até volume de 5 mL.

Foram colocados 3 mL de cada fração (hexano, clorofórmio, acetato de etila e etérea) em tubos de ensaio e posteriormente, foram adicionados 2 mL de hidróxido de sódio 1N recém preparado. Os tubos foram levados para uma câmara de luz ultravioleta em 366 nm, ficando expostos em repouso por 15 minutos. Para reação positiva é observada o aparecimento de fluorescência azul ou verde amarelada.

3.5.1.5 Pesquisa de antraquinonas

Antraquinonas e naftoquinonas são polifenóis que em solução alcalina formam fenolatos hidrossolúveis com coloração rósea, devido à presença de hidrogênio ácido nas hidroxilas fenólicas que reagem com a solução alcalina.

Balões de fundo chato foram levados à fervura contendo 30 mL de cada fração e 5 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico 10%. As soluções contidas nos balões, acoplados a um condensador de bolas, foram deixadas em refluxo por 30 minutos e decorrido este tempo, foram adicionados em cada balão, 30 mL de água destilada.

A fração remanescente hidroalcoólica foi transferida para funil de separação para extração com 2 porções de 10 mL de éter etílico.

O extrato etéreo e as demais frações foram concentradas em banho-maria, até um volume de 5 mL, os quais foram transferidos para tubos de ensaio. Nos tubos foram adicionados 5 mL de hidróxido de amônia, sob lenta agitação para realização da Reação de Borntraeger. A reação é considerada positiva para antraquinonas e/ou naftoquinonas com observação de coloração vermelha.

3.5.1.6 Pesquisa de esteroides e/ou triterpenos

Para a pesquisa de esteroides e/ou triterpenos foram realizadas duas técnicas.

a) Reação de Liberman-Bouchard

Foram evaporadas até *secura* em banho-maria, 30 mL de cada fração. Os resíduos foram, posteriormente, redissolvidos em 5 mL de clorofórmio e em seguida,

foram pipetados 0,1 mL, 0,5 mL e 1,0 mL do extrato clorofórmico de cada fração para 3 tubos de ensaio. Os volumes foram completados para 2 mL com clorofórmio.

Para esta reação, na capela, foram adicionados aos tubos de ensaio, 1 mL de anidrido acético e, lentamente, 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. O desenvolvimento de coloração rósea escura ou azul indica a presença da função carbonila na posição 3 e ligação dupla nas posições 5 e 6 do anel aromático. A coloração verde indica função hidroxila na posição 3 e dupla ligação entre 5 e 6 do anel aromático. O desenvolvimento de coloração amarela possivelmente indica um grupamento metila no carbono de posição 14.

b) Reação de Keller Kelliani

Para quatro tubos de ensaio, foram transferidos 2 mL das frações hexano, clorofórmio, acetato de etila, e remanescente hidroalcoólica, os quais foram levados à secura. Após, os resíduos foram dissolvidos com 2 mL de ácido acético glacial e 0,2 mL de solução aquosa de cloreto férrico 1% e transferidos para tubos de ensaio já contendo 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. O desenvolvimento de coloração azul ou verde na fase de contato dos dois líquidos ou na fase acética indica reação para desoxiaçúcares, sendo azul para esteroides e verde para triterpenos.

3.5.2 Extrato aquoso

O preparo do extrato aquoso foi realizado a partir de 40 g do material vegetal (folhas secas e trituradas), o qual foi macerado com 200 mL de água destilada, em banho-maria a 70°C por 1 hora. Este macerado resultante foi filtrado e completado o volume para 200 mL com o mesmo solvente extrator, lavando o material.

3.5.2.1 Pesquisa de heterosídeos antociânicos

As antocianinas estão presentes nas plantas na forma de sais como pigmentos hidrossolúveis, os quais são encontrados principalmente nas flores, frutos e tecidos. Apresentam colorações que se modificam com variações no pH. Em presença de

base, as antocianinas reagem com as hidroxilas fenólicas livres e apresentam coloração azul, devido a estrutura quinoide. Já com ácidos, há a formação de sais de oxônio que são corados em vermelho.

Nesta técnica, 5 mL do extrato aquoso foram transferidos para 3 tubos de ensaio. O primeiro tubo foi acidificado até pH 4,0. O desenvolvimento de coloração em tons avermelhados indica reação positiva. O segundo tubo foi alcalinizado até pH 10,0. O desenvolvimento de coloração em tons azulados indica reação positiva. O terceiro tubo de ensaio foi neutralizado até pH 7,0. O desenvolvimento de coloração em tons violáceos indica reação positiva.

O desenvolvimento de coloração verde em algum dos 3 tubos indica a presença de flavonoides.

3.5.2.2 Pesquisa de heterosídeos saponínicos

As saponinas esteroidais possuem características de formação de espuma estável devido a elevada tensão superficial e propriedades de hemolizar os glóbulos vermelhos. Elas são esteroides glicosídeos com presença de um núcleo epirostano.

Para a pesquisa qualitativa, foi colocada a mesma quantidade de extrato aquoso em 2 tubos de ensaio. Os tubos foram agitados energicamente com movimentos succionais por 5 minutos, e deixados em repouso por 30 minutos. A altura do anel de espuma formada é medida após a agitação e após o repouso. A reação é considerada positiva quando a altura do anel for persistente e superior a 1 cm.

3.5.2.3 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos

Nesta técnica, foi utilizada a reação de isopurpurato de sódio, a qual se baseia na formação de isopurpurato alcalino, a partir do ácido pícrico, na presença de liberação de ácido cianídrico.

Foram transferidos para tubo de ensaio, cuidando para não umedecer as paredes do tubo, 5 mL do extrato aquoso e 1 mL de ácido sulfúrico 1N. Uma tira de papel picro sódio foi suspensa com o auxílio de uma rolha de cortiça, de modo que a tira não entrasse em contato com o extrato.

O papel picro sódio é preparado a partir de tiras de papel de filtro embebidas em ácido pícrico 1%, as quais são secas ao abrigo da luz. Em seguida, as tiras são embebidas em solução de carbonato de sódio 10% e secas ao abrigo de luz.

O tubo de ensaio contendo o extrato aquoso e reagentes foi levado a banho-maria a 60°C por 30 minutos. O desenvolvimento de coloração avermelhada no papel picro-sódico indica reação positiva.

3.5.2.4 Pesquisa de taninos

Para a pesquisa de taninos, foi realizada a reação de Cloreto férrico e a reação com formol clorídrico (Ensaio de Staniasny), onde é detectada a presença de taninos condensados e hidrolisáveis.

Taninos condensados ou proantocianidinas são derivados de catecois, produtos do metabolismo do fenilpropanol e possuem a característica de não serem hidrolisados por ácidos. Taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos fenólicos, como ácido gálico e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato.

a) Cloreto férrico

Os taninos são facilmente oxidados por influência de metais, como o cloreto férrico. Para esta pesquisa, 1 mL de extrato aquoso e 5 gotas de cloreto férrico 1% foram adicionados em tubo de ensaio. O desenvolvimento de coloração azul indica reação positiva para taninos, coloração verde indica flavonoides e marrom indica polifenóis.

b) Reação com formol clorídrico (Reação de Staniasny)

Em balão de fundo chato, foram adicionados 30 mL do extrato aquoso, 6 mL de formaldeído 40% e 4 mL de ácido clorídrico 37%. O balão foi acoplado ao condensador de bolas e levado a refluxo por 1 hora. Após resfriamento, o extrato formol-clorídrico foi filtrado e reservado para a pesquisa de taninos hidrolisáveis.

O material retido no filtro foi lavado com uma solução de etanol 50% e acrescido de gotas de solução aquosa de hidróxido de potássio 5%. Ao gotejar o hidróxido de potássio, o desenvolvimento de coloração verde indica reação positiva para taninos condensados.

No filtrado reservado, foi adicionado excesso de acetato de sódio, sem agitação, e gotas de solução aquosa de cloreto férrico 1%. Ao adicionar o cloreto férrico, o desenvolvimento de coloração azul indica reação positiva para taninos hidrolisáveis.

3.5.2.5 Pesquisa de ácidos voláteis

Ácidos voláteis são líquidos voláteis ou gases, os quais podem ser evaporados e caracterizados por destilação. Nesta técnica, 10 mL de extrato aquoso foram acidificadas com 1 mL de ácido sulfúrico 1N em tubo de ensaio, cuidando para não umedecer a parede do tubo. Uma tira de papel tornassol foi suspensa com o auxílio de uma rolha de cortiça, de modo que a tira não entrasse em contato com o extrato

O tubo foi levado a banho-maria a 60°C por 30 minutos e a presença de ácidos voláteis é observada em coloração avermelhada na fita.

3.5.2.6 Pesquisa de ácidos fixos

Ácidos fixos são líquidos ou sólidos pouco voláteis. Nesta técnica, foi transferido para um balão de fundo chato, 20 mL de extrato aquoso e 2 mL de hidróxido de sódio 1N. O balão foi acoplado a um condensador de bolas e levado a refluxo por 30 minutos. Decorrido o tempo, o balão foi resfriado, seu conteúdo acidificado com ácido sulfúrico 1N e extraído, em funil de separação, com 3 porções de 10 mL de éter etílico. Os extratos etéreos foram reunidos, tratados com carvão ativo, sendo posteriormente filtrados e levados à secura em banho-maria a 50°C. O resíduo foi deixado em estufa a 100°C por 10 minutos. Em seguida, foi resfriado, 5 mL de hidróxido de amônio 1N foram adicionados, e a solução foi filtrada.

Em uma tira de papel de filtro, foram feitas 3 manchas com cerca de 1 cm de diâmetro. A primeira continha apenas o extrato amoniacal, a segunda continha extrato amoniacal e reativo de Nessler e a terceira continha apenas reativo de Nessler. O desenvolvimento de coloração diferente na segunda mancha, em relação à primeira e a terceira, indica reação positiva para a presença de ácidos fixos.

3.5.2.7 Pesquisa de amino grupo

Nesta técnica, 10 mL de extrato aquoso foram concentrados até 5 mL, em banho-maria a 60°C. Em uma tira de papel de filtro, foram adicionadas 5 gotas de extrato aquoso concentrado e em cima da mancha, foi gotejado reativo de Ninhidrina. Uma segunda mancha foi feita no papel apenas com o reativo de Ninhidrina, utilizado para controle. A fita foi levada a estufa a 100°C por 10 minutos e o desenvolvimento de coloração azul violácea indica reação positiva para a presença de amino grupos.

A ninhidrina, um agente oxidante, transforma o grupo amino de alfa amino ácido, oxidando-o, em grupo amino e hidrindantina. O imino ácido formado se decompõe em amônia. A hidrindantina reage com a amônia formando um complexo de coloração púrpura, o qual reage com outra amônia formando o complexo final de coloração azul escuro.

3.6 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial das folhas de *Parodiolyra micrantha* foi obtido através do aparelho de Clevenger modificado por Wasicky (1963), baseando-se na técnica descrita na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019). A extração foi realizada por hidrodestilação por arraste de vapor d'água.

Em um balão de fundo chato, foram adicionados 400 g de material vegetal (folhas secas e trituradas), adicionando-se quantidade suficiente de água destilada para cobrir o material e permitir a extração (3500 mL). O balão foi acoplado ao Clevenger e mantido sob manta de aquecimento a uma temperatura aproximada de 100°C. Assim que a primeira gota de óleo foi visualizada no tubo separador com escala graduada, o tempo de destilação foi marcado em 6 horas.

Decorrido o tempo da extração, foi realizada a leitura do volume do óleo essencial diretamente na escala do tubo separador do aparelho de Clevenger e, posteriormente calculado o rendimento (2) em mililitros de óleo essencial por 100 g da droga:

$$(2) \text{ Rendimento (\%)} = \frac{\text{Volume obtido de óleo essencial em mL} \times 100}{\text{Massa de material vegetal moído em g}}$$

O óleo obtido foi acondicionado e mantido em freezer, ao abrigo da luz, para evitar sua volatilização. A identificação dos componentes do óleo essencial foi baseada na comparação entre o índice de retenção e o espectro de massas destes com os das bibliotecas instaladas no equipamento (Adams 2007), de amostras autênticas e dados retirados da literatura ou, ainda, por comparação com espectros de massas registrados em banco de dados como NIST 08 (National Institute of Standards and Technology), onde são registrados mais de 65.000 compostos.

3.6.1 Identificação dos constituintes do óleo essencial

A caracterização dos componentes do óleo essencial das folhas de *Parodiolyra micrantha* foi realizada no Laboratório de Ecologia Química e Síntese de Produtos Naturais (LECOSIN) do Departamento de Química da UFPR.

A análise foi feita em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas Shimadzu® CG-EM QP2010 Plus, equipado com coluna capilar RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Injetor em modo Split a 250°C, interfase e fonte de íons a 250°C. A janela de massas foi ajustada para as análises na faixa entre 40-350 m/z, utilizando Hélio como gás de arrastre, com fluxo na coluna de 1,02 mL/minuto. Rampa de injeção para análise com temperatura do injetor em 250°C, pressão da coluna de 59 KPa, iniciando-se com temperatura de 60°C elevando-se para 250°C a uma razão de 3°C/min.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada através da comparação dos índices de retenção de Kovats obtidos nos espectros, com os documentados na literatura (ADAMS, 2007).

3.7 ANÁLISE FITOQUÍMICA: OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES

3.7.1 Preparo do Extrato bruto

O extrato bruto das folhas (EBF) foi obtido através do aparelho Soxhlet modificado por Carvalho (2009), que possui patente de modelo industrial no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) sob o nº 0601703-7 A2.

As folhas trituradas foram pesadas, aproximadamente 600 g, e colocadas no aparelho Soxhlet, o qual continha uma placa porosa e algodão para conter o material vegetal. Este aparelho foi acoplado a um condensador de bolas e a um balão de fundo chato contendo pérolas de vidro. O solvente utilizado para a extração foi o etanol 80°GL, em um volume de 2,2 à 3,5 litros. Esse sistema sofreu aquecimento, quando colocado sob uma manta. Então, foi mantido em refluxo, por aproximadamente 10 à 11 períodos de 4 horas, para a obtenção do extrato hidroalcoólico, que foi recolhido no balão de fundo chato, por extração do meio solvatado.

Através do aquecimento, o solvente é evaporado e o condensador de bolas faz com que esse solvente volte e percorra novamente o material vegetal. O aparelho de Soxhlet é economicamente viável, visto que o solvente é reutilizado em toda a extração (CARVALHO et al., 2009).

Obteve-se dessa forma o extrato bruto de folhas, que foi utilizado para realização das análises de teor de sólidos, fracionamento e atividades biológicas.

3.7.1.1 Teor de sólidos

O teor de sólidos se baseia na eliminação da fase líquida do extrato bruto. Para esta análise, foi utilizada a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019). Em 3 placas de Petri (triplicata), previamente dessecadas e taradas, foram adicionados 10 mL de extrato bruto hidroalcoólico das folhas. As placas foram levadas a estufa a 100°C por 2 horas e posteriormente pesadas, após resfriamento no dessecador, até a observação de peso constante. A diferença entre o peso da

placa com o resíduo sólido do extrato e da placa vazia fornece o teor de sólidos em 10 mL do extrato.

O teor de sólidos também permite o cálculo do rendimento dos extratos brutos conforme a fórmula (4):

$$(4) \quad \text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Volume EB X Teor de sólidos \%}}{\text{Planta seca}} \times 100$$

Onde:

Volume EB = Volume de extrato bruto obtido em mL.

Planta seca = Quantidade de planta seca e triturada em g utilizada para a obtenção do extrato bruto.

3.7.1.2 Fracionamento do extrato bruto hidroalcoólico

O extrato bruto hidroalcoólico das folhas foi concentrado em rotaevaporador até que se obteve aspecto de extrato fluido e a partir deste, a obtenção de frações foi realizada pelo sistema de partição líquido-líquido. Foram utilizados solventes que apresentam padrão analítico e polaridades diferentes, na seguinte ordem crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila.

O fracionamento do extrato bruto em escala de polaridade é realizado para auxiliar na identificação das classes de metabólitos com atividade nos bioensaios.

Para o fracionamento, foi utilizado o aparelho de Soxhlet modificado (PI 0601703-7 A2). O aparelho contendo o extrato bruto concentrado foi conectado ao condensador de bolas e ao balão de fundo chato contendo pérolas de vidro. Após ser adicionado o primeiro solvente, hexano, este sistema foi então levado a refluxo, para que os solventes pudessem realizar uma adequada extração. Este processo foi repetido com os demais solventes. O extrato restante foi denominado de fração remanescente.

Assim, foram obtidas quatro frações: hexânica, clorofórmica, acetato de etila e remanescente, correspondendo às quatro polaridades. Estas frações foram avaliadas

nos bioensaios e demais testes juntamente com o próprio extrato bruto, totalizando cinco amostras analisadas.

O rendimento de cada fração foi calculado conforme a fórmula (5):

$$(5) \quad \text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa da fração obtida em g} \times 100}{\text{Planta seca em g}}$$

Onde:

Planta seca = Quantidade de planta seca e triturada utilizada no fracionamento.

3.8 ANÁLISE FITOQUÍMICA: ISOLAMENTO DO CONSTITUINTE QUÍMICO

A partir das frações obtidas no particionamento do extrato bruto, foi escolhida a fração acetato de etila para a purificação em coluna cromatográfica, a qual apontou os resultados mais promissores de atividade antioxidante, apresentados posteriormente.

Previamente, a fração acetato de etila foi analisada por cromatografia em camada delgada para a investigação da presença de compostos fenólicos (flavonoides, taninos e cumarinas, os quais são responsáveis pelas atividades antioxidantes).

A coluna cromatográfica foi elaborada utilizando como fase estacionária sílica gel 60 Merck® (0,063 – 0,200mm) e fase móvel a mistura dos solventes hexano e acetato de etila, inicialmente partindo-se de 100% hexano até 100% acetato de etila. As misturas foram realizadas utilizando um volume máximo de 100 mL, aumentando-se o gradiente de polaridade de 5 mL em 5 mL.

A amostra da fração acetato de etila (cerca de 8,0 g) foi solubilizada em metanol PA e em seguida, houve a formação de uma pastilha a partir da incorporação da fração em sílica-gel 60 (fase fixa). A cromatografia em coluna foi realizada com esta pastilha, por um sistema de passagem de solventes com gradientes de polaridades crescentes, onde ocorre a eluição da amostra.

A fase móvel foi iniciada por Hexano: Acetato de etila (30:70), passando por Acetato de etila (100), Metanol: Acetato de etila (5:95), e finalizando com Metanol

(100), sempre em ordem crescente de polaridade com aumento e diminuição da proporção das fases em 5%. Para cada um destes gradientes, foram recolhidos frascos de 10 mL contendo a amostra eluída.

As frações coletadas foram evaporadas em temperatura ambiente e os frascos numerados 223 e 225, correspondentes a eluição Metanol: Acetato de etila (10:95), apresentaram precipitação de cristais. Amostras destes cristais foram enviadas para identificação do constituinte químico, pelo método de Difractometria de raios X de monocristal.

3.8.1 Cromatografia em Camada Delgada

O ensaio de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foi realizado com o extrato bruto e a fração folha acetato de etila. Estas amostras foram solubilizadas em metanol na concentração de 1 mg/mL e aplicadas, com o auxílio de capilares, em cromatoplasmas de sílica gel 60 UV254, da marca Whatman®, de dimensões 20 x 20 cm. Após a revelação, as placas foram observadas a olho nu e sob luz ultravioleta. O QUADRO 6 apresenta os solventes e proporções de fases móveis, assim como os reveladores utilizados nesta análise.

O ensaio de CCD foi direcionado para a pesquisa de compostos fenólicos, como flavonoides, taninos e cumarinas.

QUADRO 6 – COMPOSIÇÃO DE FASES MÓVEIS E REVELADORES EM CROMATOLOGRAFIA DE CAMADA DELGADA

CONSTITUINTE QUÍMICO	FASE MÓVEL	REVELADOR	RESULTADO ESPERADO	METODOLOGIA
Flavonoides	Acetato de etila: Ácido fórmico: Ácido acético glacial: Água (100:11:11:26)	Reativo de NEU	Presença de banda amarela sob luz UV (254 nm)	WAGNER, 1996
Taninos		Cloreto férrico 1%	Presença de banda azul (taninos hidrolisáveis) e/ou verde escura (taninos condensados) a olho nu	
Cumarinas	Tolueno: Acetato de etila (80:20)	Reativo de NEU e Hidróxido de sódio 1N	Presença de banda azul fluorescente sob luz UV (254 nm)	MIGUEL, 2003

FONTE: A autora (2019).

NOTA: Reativo de NEU - Difenoilboriloxietilamino a 1% em metanol

3.8.2 Difractometria de raios X de monocristal

Os cristais isolados passaram por análise de difratometria de raios X de monocristal (DRXM) realizado pelo Departamento de Química da UFPR.

Os dados de difração foram coletados empregando um difratômetro Bruker – D8 Venture equipado com detector de área Photon 100 CMOS, duas fontes de radiação monocromática de Mo-K α ($\lambda = 0,7107 \text{ \AA}$) e Cu-K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), e dispositivo Kryoflex II, para realização de coletas à baixa temperatura. A análise foi realizada a 100 K utilizando-se a fonte de Mo-K α . Para a realização da análise foi selecionado um fragmento cristalino de uma porção de cristais imersos em óleo mineral, o qual foi transferido cuidadosamente para um *micro-mount* que foi fixado no goniômetro do difratômetro. Os dados foram processados utilizando o programa APEX3. Os parâmetros de célula unitária encontrados foram comparados com dados da literatura utilizando a base de dados do CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre) e estão de acordo com o código de depósito MIDSAN, na base de dados.

3.9 DOSEAMENTO DE FENÓLICOS

As técnicas de doseamento de fenóis e flavonoides totais são técnicas espectrométricas, que, por meio de uma curva de calibração, compara-se com um padrão e calcula-se a concentração dos metabólitos.

O doseamento de compostos fenólicos totais presentes no extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965), com pequenas modificações. Este método se baseia na transferência de elétrons, em meio alcalino, entre o ácido fosfotúngstico/fosfomolibdênico e os compostos fenólicos, formando complexos azuis e que podem ser determinados espectrofotometricamente (AINSWORTH; GILLEPSIE, 2007)

Em microplaca com fundo redondo de 96 poços em formato de 'U', foi adicionada alíquota de 20 μL das amostras de extrato bruto e frações (8000 $\mu\text{g/mL}$), diluídas em metanol 50%, misturadas com 240 μL de água destilada e 15 μL do reativo de Folin-Ciocalteu. As amostras reagiram em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) por 3

minutos no escuro. Então, 15 μL de solução de carbonato de sódio (20%, *p/v*) foi adicionada, seguida de leve agitação, e as amostras permaneceram em repouso por 30 minutos.

O ensaio foi realizado em quadruplicata. A absorbância foi medida a 720 nm em espectrofotômetro Multiscan FC, Thermo Scientific®. Os resultados para fenólicos totais foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico.

3.10 DOSEAMENTO DE FLAVONOIDES

O doseamento de flavonoides totais presentes no extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* foi determinado pelo método colorimétrico que utiliza o cloreto de alumínio (AlCl_3) como agente complexante, descrito por Zhishen et al. (1999), com pequenas modificações. Nesta metodologia, o cátion alumínio se complexa com os oxigênios vicinais presentes nos flavonoides, ocorrendo um deslocamento dos seus máximos de absorção para regiões de maior comprimento de onda, possibilitando a determinação da quantidade de flavonoides (WOISKY; SALATINO, 1998).

Em microplaca com fundo redondo de 96 poços em formato de 'U', foi adicionada alíquota de 20 μL das amostras de extrato bruto e frações (8000 $\mu\text{g/mL}$), diluídas em metanol 50% e 90 μL de solução de nitrito de sódio (5% *p/v*). As amostras reagiram em temperatura ambiente por 5 minutos e em seguida foi adicionada solução de cloreto de alumínio (10% *p/v*). As amostras permaneceram novamente em temperatura ambiente por 5 minutos.

Após o período de 5 minutos, foram adicionados 90 μL da solução de hidróxido de sódio (1mol/L). As amostras permaneceram em repouso por 60 minutos, ao abrigo da luz.

O ensaio foi realizado em quadruplicata. A absorbância foi medida em 510 nm em espectrofotômetro Multiscan FC, Thermo Scientific®. Os resultados para flavonoides totais foram expressos em miligramas equivalentes de catequina.

3.11 POTENCIAL ANTIOXIDANTE

A avaliação de uma possível propriedade antioxidante exercida pela espécie *Parodiolyra micrantha* foi testada pelos métodos de formação do complexo fosfomolibdênio, de redução do radical DPPH.

3.11.1 Formação do complexo fosfomolibdênio

A técnica de avaliação da atividade antioxidante com formação de complexo fosfomolibdênio é fundamentada na redução do molibdênio (VI) a molibdênio (V), pela amostra com capacidade antioxidante, e formação de um complexo fosfato-molibdênio (V), de coloração verde em pH ácido, o qual é determinado espectrometricamente. O método de formação de complexo fosfomolibdênio permite avaliar a atividade de compostos lipofílicos e hidrofílicos (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999).

Para a reação de formação do complexo foi necessário o preparo, no momento do uso, de um reativo que consiste de uma solução aquosa de ácido sulfúrico 0,6 mol.L⁻¹, fosfato de sódio 28 mmol.L⁻¹ e molibdato de amônio 4 mmol.L⁻¹. Soluções padrões de Ácido ascórbico, Hidroxitolueno butilado (BHT) e Rutina, bem como as amostras a serem testadas (extrato bruto e frações), foram preparadas na concentração de 200 µg/mL em metanol.

Em tubos de ensaio, para cada amostra, foi pipetada uma alíquota de 0,3 mL, e adicionado 3 mL de reativo. O mesmo foi realizado com os padrões. O branco foi constituído de 0,3 mL de metanol e 3 mL de reativo para padrões e amostras de extrato bruto e frações. A análise das amostras foi realizada em triplicata. Os tubos foram fechados e colocados em banho-maria a 95°C por 90 minutos.

Ao atingir a temperatura ambiente, foi realizada a leitura das absorbâncias (Abs) em microplacas com fundo redondo de 96 poços em formato de 'U', a 690 nm em espectrofotômetro Multiscan FC, Thermo Scientific®.

Os resultados foram expressos como atividade antioxidante relativa (AAR%) da amostra em relação ao Ácido ascórbico, BHT e Rutina (padrões considerados com

atividade antioxidante 100%). A fórmula (6) demonstra o cálculo de atividade antioxidante frente a estes padrões

$$(6) \quad \text{AAR\%} = \frac{[\text{Concentração Padrão mg/mL} \times (\text{Abs amostra} - \text{Abs branco})]}{[\text{Concentração Amostra mg/mL} \times (\text{Abs padrão} - \text{Abs branco})]} \times 100$$

A análise de variância foi avaliada pelo teste ANOVA e a diferença estatística entre os resultados obtidos pelo teste de Tukey, sendo que valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Para estes estudos, utilizou-se o software Sisvar versão 5.6.

3.11.2 Redução do radical DPPH

O método de redução do radical DPPH é rápido, simples, econômico, e apresenta boa estabilidade na ausência de luz, sendo bastante utilizado (KEDARE; SINGH, 2011). As plantas medicinais que apresentam atividade antioxidante, reduzem o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), pela permuta de elétrons ou átomos de hidrogênio.

Este ensaio consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2 - difenil-1-picril-hidrazila - DPPH, de coloração púrpura e, após reação com o antioxidante ou uma espécie radicalar ($R\bullet$), o DPPH \bullet é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela. Consequentemente, ocorre diminuição da absorbância, podendo ser monitorada por espectrofotômetro de UV/visível para determinar a capacidade antioxidante da substância testada.

A atividade de eliminação do radical DPPH foi determinada de acordo com o método de Blois (1958), modificado por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995).

Em microplaca com fundo redondo de 96 poços em formato de 'U', foi adicionada alíquota de 10 μL das amostras de extrato bruto e frações (8000 $\mu\text{g/mL}$) e da solução padrão de Trolox, diluídas em metanol 50%, 190 μL da solução de DPPH (0,12mmol/L). Após 30 minutos de reação ao abrigo da luz e em temperatura ambiente, foi realizada a leitura das absorbâncias das amostras.

O ensaio foi realizado em quadruplicata. A absorvância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro Multiscan FC, Thermo Scientific®. Os resultados foram expressos em concentração equivalente de Trolox.

3.12 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

3.12.1 Atividade Alelopática

O método de avaliação da atividade alelopática para extrato bruto e frações foi baseado no método descrito por Macias (2000), Chon (2005) e Dias (2005).

O ensaio para verificação da influência da *Parodiolyra micrantha* nessa atividade biológica foi realizada em sementes de alface (*Lactuca sativa* L) e em sementes de cebola (*Allium cepa*).

Caixas gerbox foram limpas com soluções de hipoclorito e álcool 70% e identificadas de modo que fossem localizados seus quadrantes. Para cada amostra e controles testados, foram utilizadas 2 gerbox: uma para a verificação da Germinação e outra para o Crescimento. Em cada caixa foram adicionados 2 papéis filtro Whatman nº 6, anteriormente auto clavados.

Foi preparada uma solução mãe para cada amostra e a partir desta, foram feitas diluições em metanol a fim de se obter as concentrações de 1000, 750, 500, 250 e 100 µg/mL. Como controles, foram utilizados água purificada e metanol.

Em fluxo laminar, foram transferidos 6 mL de cada concentração para as caixas gerbox. Para o controle com metanol, foram transferidos 6 mL de solvente. As amostras e controle metanol foram deixados sob temperatura ambiente, por 24 horas, até total eliminação do solvente.

Após evaporação do solvente, novamente sob fluxo laminar, as amostras e controle metanol foram ressuspensos, umedecendo os papéis filtro com 6 mL de água destilada. Nesta etapa, foi preparado também um controle com água, pipetando 6 mL do solvente.

As caixas gerbox foram divididas em 4 quadrantes, que representa a quadruplicata do teste, e em cada um destes quadrantes foram depositadas 5 sementes de alface e cebola (totalizando 20 sementes para cada cultivar) Após a

acomodação das sementes, as caixas foram incubadas em estufa BOD $20 \pm 5^\circ\text{C}$, durante 7 dias para alface e 14 dias para cebola.

A espécies *Lactuca sativa* e *Allium cepa* são consideradas modelos universais para estudos envolvendo alelopatia, pois apresentam características importantes, como alta sensibilidade às diferentes concentrações de aleloquímicos, germinação rápida e uniforme, tolerância às variações de pH, além da alta sensibilidade a uma variedade de compostos (MAIRESSE, et al., 2007; STEIN et al., 2004).

Foram avaliados os parâmetros: germinação e crescimento das sementes dos dois cultivares.

3.12.1.1 Germinação

Na avaliação da germinação, foram realizadas leituras diárias, sempre no mesmo horário, abrindo-se as placas em fluxo laminar, durante 7 dias para *Lactuca sativa* e 14 dias para *Allium cepa*, com retirada das sementes germinadas. As sementes são consideradas germinadas com o aparecimento da protusão da radícula através do tegumento (FEO et al., 2002; ADEGAS et al., 2003).

Para a verificação das diferenças das médias estatisticamente significativas empregou-se o teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade, utilizando o software Sisvar versão 5.6. Foram calculados também os Índices de Velocidade de Germinação (IVG) (MAGUIRE, J. D.; 1962), conforme fórmula (8), os quais foram submetidos aos mesmos testes estatísticos.

$$(8) \quad \text{IVG} = \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}^*}{1^{**}} + \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}}{2} + \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}}{3} + \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}}{4} + \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}}{5} + \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}}{6} + \frac{\text{n}^\circ \text{ germ}}{7}$$

*Número de sementes germinadas

**Dia de leitura e retirada das sementes germinadas

3.12.1.2 Crescimento

A verificação do crescimento foi realizada no último dia do teste, por meio da leitura do crescimento do hipocótilo e da radícula com auxílio de uma régua. Para a verificação das diferenças das médias estatisticamente significativas empregou-se o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), utilizando o software Sisvar versão 5.6.

3.12.2 Toxicidade preliminar *in vitro*

A avaliação da toxicidade preliminar *in vitro* do extrato bruto e frações foi realizada frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. O método executado foi baseado no método descrito por Meyer (1982) e é considerado de baixo custo e de rápida execução.

Para a eclosão dos ovos, foi preparada uma solução salina (água do mar artificial) a partir da dissolução de 14,31 g de sal marinho (Instant Ocean Sea Salt) em 400 mL de água destilada. Esta solução foi aerada por 30 minutos e, durante a incubação, seu pH foi mantido entre 8,0 e 10,0 (pela adição de solução de carbonato de cálcio a 10%) para evitar a morte dos crustáceos que são sensíveis ao pH abaixo de 6 ou acima de 10,5 (LEWAN et al., 1992).

Ovos de microcrustáceo da espécie *Artemia salina*, 200 mg, foram colocados para eclodir em 400 mL de solução salina. A temperatura foi controlada entre 27 e 30°C e a solução foi mantida sob agitação e iluminação (20 W) constantes por 48 horas.

Foram preparadas soluções com o extrato bruto e frações (hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente hidroalcoólica) em concentrações de 1000, 750, 500, 350 e 100 µL/mL em metanol, todos em triplicata. As mesmas concentrações foram preparadas para o controle positivo Sulfato de quinidina

Os frascos contendo as soluções amostras e controles foram colocados em estufa a 40°C para total eliminação do solvente de diluição, inclusive o frasco controle negativo, contendo apenas o solvente da diluição (metanol e DMSO à 0,1%)

Após evaporação, os frascos, contendo as amostras e controles, foram ressuspensos com 1 mL de solução salina e a incubação de 10 náuplios foi realizada

na sequência. O volume dos frascos foi completado com solução salina para 5 mL e após 24 horas, realizou-se a contagem dos náuplios vivos e mortos em presença das concentrações analisadas, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observados próximos a uma fonte luminosa.

Procedeu-se a avaliação dos resultados a partir da aplicação de testes estatísticos pelo método Probitos (FINNEY, 1956) através do software SPSS versão 23.0. Nestes testes, foram determinadas as doses letais capazes de matar 50% e 90% dos náuplios, CL_{50} e CL_{90} respectivamente, bem como o intervalo de confiança de 95%. As amostras são consideradas tóxicas quando CL_{50} for menor que 1000 $\mu\text{g/mL}$ (MEYER et al., 1982).

3.12.3 Atividade hemolítica *in vitro*

O método para atividade hemolítica *in vitro* foi baseado no método descrito por Banerjee et al. (2008).

Anteriormente a realização do teste, foram preparados PBS (solução tampão fosfato-salino), sangue, soluções amostras e controles.

Para o preparo da solução tampão PBS foram utilizados: cloreto de sódio (8,0 g/L), cloreto de potássio (0,2 g/L), fosfato dissódico (1,15 g/L), fosfato monopotássico (0,2 g/L) e água destilada (q.s.p. 1000 mL). Posteriormente, o pH dessa solução foi ajustado para 7,4 e a mesma foi armazenada em geladeira, pois ao longo do teste, ela deve ser utilizada gelada.

No momento dos ensaios, o frasco de sangue desfibrinado de carneiro (adquirido da empresa Newprov®) foi homogeneizado, realizando leve agitação manual e foram transferidos 3 mL a um tubo de falcon para centrifugação durante 5 minutos a 3000rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi desprezado, e o precipitado lavado com cerca de 5 mL de PBS gelado. O processo se repetiu até a obtenção de sobrenadante incolor. Em seguida, a papa de hemácias foi diluída com PBS para obtenção de uma diluição a 2% (v/v).

As amostras de extrato bruto e frações foram obtidas a partir do preparo de uma solução mãe a 1000 $\mu\text{g/mL}$, solubilizando-as em metanol 10% em PBS.

A partir das soluções mãe, foram realizadas diluições em PBS até a obtenção das concentrações 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL. Como controles positivos foram utilizados Triton 1% em PBS e água potável, como controle negativo foi utilizado PBS e como padrão fitoquímico foram preparadas soluções e diluições de Saponina nas mesmas concentrações das amostras.

O teste de hemólise foi realizado em eppendorfs, em triplicata, e as reações procederam conforme o QUADRO 7.

QUADRO 7 - REAÇÃO REALIZADA NO TESTE DE HEMÓLISE

AMOSTRAS / BRANCOS / CONTROLES	REAÇÃO
Soluções Amostra: diluições Extrato bruto, Frações, Óleo essencial	200 µL de Amostra + 200 µL de Hemácia 2%
Padrão fitoquímico: diluições Saponina	200 µL de Saponina + 200 µL de Hemácia 2%
Controle positivo: Triton 1% em PBS	200 µL de Triton 1% + 200 µL de Hemácia 2%
Controle positivo: Água potável	200 µL de Água potável + 200 µL de Hemácia 2%
Branco - Cor: Controles positivos, Soluções amostra, Padrão Fitoquímico	200 µL de Controle positivo / Amostra / Padrão Fitoquímico + 200 µL de PBS
Branco – Solvente PBS: Triton 1%, Extrato bruto, Frações, Saponina.	200 µL de PBS + 200 µL de Hemácia 2%
Branco – Solvente DMSO 0,5% em PBS: Óleo essencial	200 µL de DMSO 0,5% em PBS + 200 µL de Hemácia 2%

FONTE: A Autora (2019)

Após as pipetagens, os tubos de eppendorfs foram incubados em estufa a temperatura de 37°C durante 3 horas. Decorrido este tempo, foram levados para centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido, 160 µL, para microplaca com fundo redondo de 96 poços em formato de 'U', para posterior leitura em espectrofotômetro Multiscan FC, Thermo Scientific® na faixa de 540nm.

A porcentagem da atividade hemolítica (AH%) foi calculada, em relação ao Triton 1% e em relação à Água potável, a partir das fórmulas (9 e 10):

$$(9) \text{ AH \% (Triton)} = \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco cor} - \text{Abs branco solvente})}{(\text{Abs triton} - \text{Abs branco cor} - \text{Abs branco solvente})} \times 100$$

$$(10) \text{ AH \% (Água)} = \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco cor} - \text{Abs branco solvente})}{(\text{Abs água} - \text{Abs branco cor})} \times 100$$

Na realização do cálculo, são subtraídas das absorbâncias do teste: as absorbâncias correspondentes ao branco cor, para descontar a influência da cor do

extrato bruto e frações; e as absorvâncias do branco solvente, para descontar a influência dos solventes de preparo das soluções.

A análise de variância foi avaliada pelo teste ANOVA e a diferença estatística entre os resultados obtidos pelo teste de Tukey, sendo que valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Para estes estudos, utilizou-se o software Sisvar versão 5.6.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MATERIAL VEGETAL

Folhas da espécie *Parodiolyra micrantha* foram coletadas, secas à sombra em temperatura ambiente por um mês, e depois, trituradas. A retirada de água da planta fresca é importante para manter uma maior estabilidade e evitar um meio reacional propiciado por reações químicas, fenômenos físicos e proliferação microbológica (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A quantidade de droga vegetal seca e triturada foi de 2300,0 g de folhas, sendo utilizada para análises físico-químicas (umidade e cinzas totais), ensaio sistemático em análise fitoquímica, obtenção de extrato bruto e do óleo essencial.

4.2 ESTUDO MORFOANATÔMICO

Os bambus podem apresentar folhas com diferentes morfologias e funções, podendo ser citadas, as folhas caulinares, catafilos dos rizomas, além das folhas fotossintetizantes ou das ramificações. As folhas caulinares, também referenciadas como folhas do colmo ou bainhas do colmo, são aquelas encontradas nos nós dos colmos e que envolvem os entrenós e as gemas em crescimento, formando uma estrutura semelhante a uma capa com função de proteção (EVERT, 2013). Uma vez finalizado o crescimento, a folha caulinar perde sua função e seca, podendo ficar ou não aderida à planta, dependendo da espécie (JUDZIEWICZ et al, 1999; EVERT, 2013). Este estudo aborda somente a morfoanatomia da lâmina foliar das folhas das ramificações.

A *Parodiolyra micrantha* é uma planta cespitosa, ereta, com tamanho em torno de 150 - 200 cm com colmos herbáceos a sublignificados. As folhas são lanceoladas a oval-lanceoladas, com base arredondada, leve a fortemente assimétricas, ápice acuminado, medindo em média 15,8 cm de comprimento e 3,5 cm de largura (LONGHI-WAGNER, 2001; SILVA; CONDE; LONGHI-WAGNER, 2012).

O gênero *Parodiolyra* é considerado muito heterogêneo tanto para os caracteres vegetativos quanto para os caracteres morfológicos das suas inflorescências (espiguetas), sendo esta última muito utilizada para delimitar as espécies, como pode ser conferido nas identificações de Soderstrom & Zuloaga (1989), Zuloaga & Davidse (1999) e Oliveira (2001). No entanto, essas estruturas nem sempre estão disponíveis nas coleções em herbários ou na pesquisa de campo, tornando necessário o uso de outras ferramentas para auxiliar na identificação da espécie *Parodiolyra micrantha*, como por exemplo, a anatomia da folha.

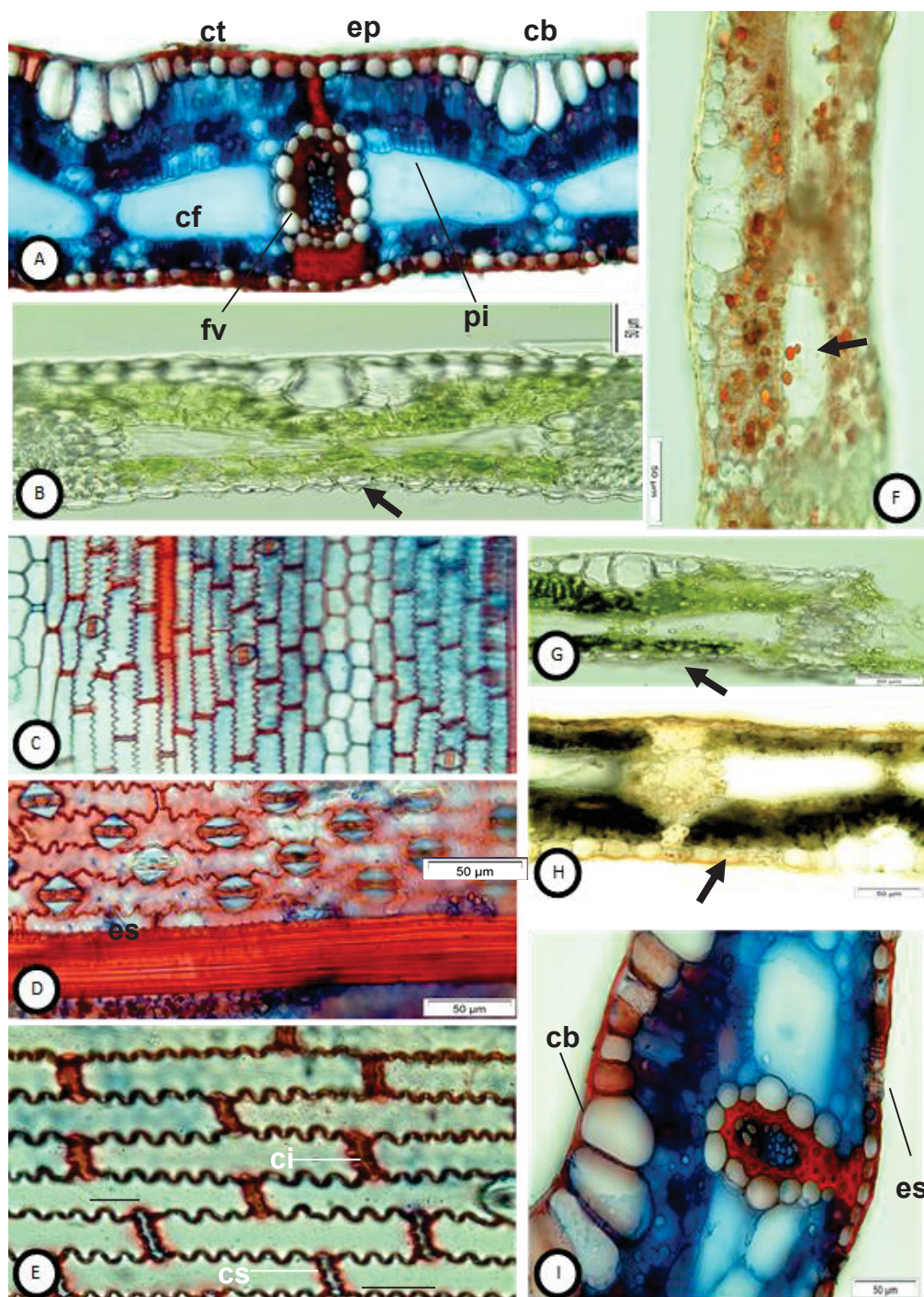
Em vista frontal, em corte paradérmico, FIGURA 9C, a epiderme se apresenta contínua e única em toda a extensão da folha. As células epidérmicas são longas e inter-espaçadas por células curtas, dispostas em fileiras paralelas, conforme descrito pelo GPWG (2001) para outras gramíneas. As células epidérmicas curtas podem ser silicificadas ou suberosas (FIGURA 9E).

Já em corte transversal, a epiderme foliar unisseriada (FIGURA 9A), apresenta as células da superfície adaxial maiores que as células da superfície abaxial, como evidenciado anteriormente por Vieira et al. (2002) e Oliveira et al. (2008a).

As células silicificadas e suberosas estão representadas na FIGURA 9E. As células suberosas apresentam paredes suberizadas e, em geral, armazenam material orgânico sólido, enquanto as silicificadas são assim denominadas por apresentarem acúmulo de corpos de sílica.

A sílica é absorvida pelas raízes das plantas e é translocada e depositada em tecidos, e geralmente isso pode estar relacionado ao ambiente em que elas crescem (LANNING; ELEUTERIUS, 1983). Diversas funções são atribuídas à presença de sílica nas células, como o aumento da resistência a insetos, bactérias e fungos fitopatogênicos, além da sustentação foliar. O formato, tamanho e distribuição dos corpos silicosos são considerados importantes para fins taxonômicos (LONDOÑO; KOBAYASHI, 1991).

Células longas da epiderme apresentam papilas conspícuas na superfície abaxial (FIGURA 9B). A morfologia e distribuição dessas papilas são importantes caracteres taxonômicos em bambus, como apontado por Oliveira et al. (2008a, 2008b), Vieira et al. (2002) para outros gêneros de Olyreae.

FIGURA 9 - CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DA LÂMINA FOLIAR DE *Parodiolyra micrantha*

FONTE: A Autora (2019).

NOTA: A. Secção transversal da lâmina folia, face adaxial e abaxial: cutícula, epiderme, célula buliforme, célula fusóide, parênquima invaginante, feixe vascular. B. Secção transversal sem coloração: superfície adaxial com papilas. C – E Secção paradérmica: estômatos em forma de haltere, corpos suberosos, corpos silicosos. F. Lipídios com Sudam III (seta). G. Lipídios sem coloração (seta). H. Compostos fenólicos (seta). I. Estômato e células buliforme.

LEGENDA: ct-cutícula, ep-epiderme, cb-célula buliforme, cf-célula fusóide, pi-parênquima invaginante, fv-feixe vascular; pp-papilas, es-estômato, cs-corpos suberosos, ci-corpos silicosos.

Células buliformes, são encontradas apenas na epiderme adaxial, dispostas ao longo de todo comprimento da lâmina foliar (FIGURAS 9A e 9I). Sua presença permite distinguir facilmente a face adaxial da abaxial. São células maiores que as demais, possuem parede celular fina e grande vacúolo. Em seção transversal, são facilmente reconhecidas pela forma de leque, cuja célula central é a mais alta (FIGURAS 9A e 9I). Não possuem cloroplastos e o seu vacúolo armazena água. Denominam-se também células motoras, por estarem, acredita-se, envolvidas no mecanismo de enrolamento e desenrolamento das folhas (JUDZIEWICZ et al., 1999; ALQUINI et al., 2006)

Os estômatos são as principais estruturas que controlam a entrada e saída de gases da folha. São formados por células-guarda com ostíolo entre elas. O complexo estomático de *Paradiolyra micrantha* é em forma de haltere (FIGURA 9C e 9I), característico de Poaceae (METCALFE 1960; ALQUINI et al., 2006). São organizados em fileiras paralelas, intercalados com células longas e curtas, como pode ser observado na FIGURA 9D.

As células fusóides são largas com paredes finas, desprovidas de cloroplastos e presentes no mesofilo foliar (FIGURA 9A). O comprimento e a forma dessas células fusóides podem variar entre outros gêneros de bambus herbáceos, como em *Raddia* e *Olyra* (OLIVEIRA et al., 2008b). Existem algumas hipóteses sobre a função dessas células fusóides, podendo estar relacionada à captura e reserva de CO₂, e a sua difusão entre as células do clorênquima e as duas faces da epiderme. Em *Paradiolyra micrantha*, o tamanho das células fusiformes é maior do que em outras espécies de *Olyrae*.

O mesofilo é constituído por tecido parenquimático clorofiliano (clorênquima) não diferenciado em paliçádico e lacunoso. O tecido parenquimático é formado por células invaginantes que estão arranjadas em paralelo, como pode ser observado na FIGURA 9A (ZULOAGA et al, 1993; JUDZIEWICZ et al, 1999).

Os feixes vasculares são colaterais cercados por bainha de duas camadas (FIGURAS 9A e 9I), uma delas formada por células parenquimáticas e a outra por células esclerenquimáticas.

Os testes histoquímicos revelaram a presença de compostos lipídicos (FIGURAS 9F e 9G) no mesofilo e compostos fenólicos (FIGURA 9H) na cutícula, células epidérmicas e parênquima foliar.

Dentre os marcadores morfoanatômicos que caracterizam a espécie *Parodiolyra micrantha*, pode-se destacar a presença de estômatos em formato de halteres, células buliformes e corpos silicosos na epiderme; células fusóides no mesofilo; papilas espalhadas na epiderme da superfície abaxial e feixes vasculares com dupla bainha.

Os testes histoquímicos, positivos para compostos fenólicos e lipídios, são inéditos para o gênero e corroboram com os resultados encontrados na análise do óleo essencial e do composto químico isolado e identificado.

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas são ensaios que auxiliam na identificação e controle de qualidade da espécie e identificação de impurezas, provenientes de adulterações do material botânico.

Na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019) não foram encontrados dados para estabelecer os limites máximos destas análises, portanto foi utilizado como parâmetro de comparação a espécie da família Poaceae descrita, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, na qual a determinação de cinzas totais não deve exceder 9% e a determinação de umidade não deve exceder a 11%.

4.3.1 Umidade (Perda por dessecação)

A determinação de umidade quantifica qualquer substância volátil eliminada da droga vegetal estudada, fornecendo um parâmetro de avaliação para o seu controle de qualidade e garantindo a estabilização e eficiência do processo de secagem. A TABELA 1 apresenta os resultados encontrados para a análise de umidade na espécie pesquisada.

TABELA 1 - UMIDADE (PERDA POR DESSECAÇÃO) DAS FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

MATERIAL VEGETAL	UMIDADE (%)	DESVIO PADRÃO (%)
Folhas	10,10	± 0,12

FONTE: A Autora (2018).

4.3.2 Cinzas totais

De maneira geral, as plantas apresentam, intrinsecamente, compostos inorgânicos. A quantificação destes compostos é avaliada por meio da determinação do resíduo por incineração, onde a planta calcinada à alta temperatura, resulta em compostos minerais na forma de cinzas. Ao exceder os limites propostos, a análise pode detectar possibilidades de adulteração e contaminação presentes na droga vegetal. A TABELA 2 apresenta os resultados encontrados para a análise de cinzas totais na espécie pesquisada.

TABELA 2 - CINZAS TOTAIS DAS FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

MATERIAL VEGETAL	CINZAS TOTAIS (%)	DESVIO PADRÃO
Folhas	6,8	± 0,21

FONTE: A Autora (2018).

4.4 ESTUDO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

O método de *screening* fitoquímico objetiva o conhecimento e avaliação das características dos constituintes químicos dos vegetais, indicando o grupo de metabólitos secundários e substâncias majoritárias da espécie e auxiliando no direcionamento dos experimentos.

4.4.1 Extrato hidroalcoólico

O extrato hidroalcoólico foi preparado para folha, apresentando coloração marrom e pH 5,0. Posteriormente, o extrato foi fracionado, obtendo-se as frações

hexano, clorofórmio, acetato de etila e a fração remanescente hidroalcoólica. A pesquisa dos constituintes químicos foi realizada em todas as frações e os resultados estão apresentados na TABELA 3.

TABELA 3 - ESTUDO DO PERFIL FITOQUÍMICO NO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

GRUPO FITOQUÍMICO	ANÁLISES	FRAÇÃO HEXANO	FRAÇÃO CLORO-FÓRMIO	FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	FRAÇÃO REMANESCENTE
Alcalóides	Reativo Mayer	-	-	-	-
	Reativo Dragendorff	-	-	-	-
	Reativo Bouchardat	-	-	-	-
Leucoantocianidinas	Não aplicável	-	-	-	-
Heterosídeos flavônicos	Flavonoides	-	-	+	+
	Oxálico bórico	-	-	+	+
	Zinco em HCl	-	-	+	-
Cumarinas	Não aplicável	+	-	-	-
Antraquinonas	Reação Borntrager	-	-	-	-
Esteroides/ triterpenos	Libermann Bouchard	+	-	-	+
	Keller Kelliani	+	+	-	+

FONTE: A autora (2018).

LEGENDA: (-) negativo; (+) positivo.

Nas folhas da espécie *Parodiolyra micrantha*, foi observada reação negativa para a pesquisa de alcaloides, leucoantocianidinas e antraquinonas.

A pesquisa de heterosídeos flavônicos apresentou resultados negativos para as frações hexano e clorofórmio, enquanto as frações acetato de etila e remanescente apresentaram resultado positivo para presença de flavonas, flavonóis e dihidroflavonol.

A presença de cumarinas foi evidenciada na fração hexano com o aparecimento de fluorescência azul e verde quando visualizada no ultravioleta.

A pesquisa de esteroides e/ou triterpenos foi realizada pelas reações de Libermann Bouchard e Keller Kelliani. Na reação de Libermann Bouchard, os resultados apresentaram-se positivos para a fração hexano com o desenvolvimento de coloração verde, a qual indica função hidroxila na posição 3 e dupla ligação entre as posições 5 e 6 do anel aromático, e, positivo também para fração remanescente com o surgimento da coloração rósea, indicando a presença da função carbonila na posição 3 e duplo enlace em 5 e 6. Enquanto, que na reação de Keller Kelliani, o resultado foi positivo para triterpenos, com o desenvolvimento de coloração verde na zona de contato das amostras, em todas as frações, com exceção da fração etila.

Como pode ser observado, os metabólitos presentes estão de acordo com os dados citados na revisão da literatura para a família botânica, com predominância de flavonoides, compostos fenólicos e esteroides e/ou triterpenos

4.4.2 Extrato aquoso

O extrato aquoso preparado das folhas apresentou coloração marrom e pH 5,0. A pesquisa dos constituintes químicos foi realizada e os resultados estão apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 - ESTUDO DO PERFIL FITOQUÍMICO NO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

GRUPO FITOQUÍMICO	EXTRATO AQUOSO FOLHAS
Heterosídeos antociânicos	-
Heterosídeos saponínicos	-
Heterosídeos cianogênicos	-
Taninos Reação Cloreto férrico	+
Taninos condensados	+
Taninos hidrolisáveis	+
Ácidos voláteis	-
Ácidos fixos	-
Amino grupos	+

FONTE: A autora (2018).

Legenda: (-) negativo; (+) positivo

No extrato aquoso de folhas de *Parodiolyra micrantha*, foram observados resultados negativos para heterosídeos antociânicos, saponínicos e cianogênicos, bem como ácidos fixos e voláteis.

A pesquisa de taninos, pela reação com o cloreto férrico, foi considerada positiva com o desenvolvimento de coloração verde para o extrato aquoso de folhas. Também apresentou taninos condensados com o desenvolvimento de coloração verde e taninos hidrolisáveis com o aparecimento de coloração azul na reação com formol clorídrico (Ensaio de Staniasny).

A presença de amino grupo com o desenvolvimento de coloração azul violácea foi observada para o extrato aquoso de folhas.

O resultado positivo para taninos, substâncias fenólicas solúveis em água, está de acordo com a literatura para metabólitos secundários da família Poaceae.

4.5 ÓLEO ESSENCIAL

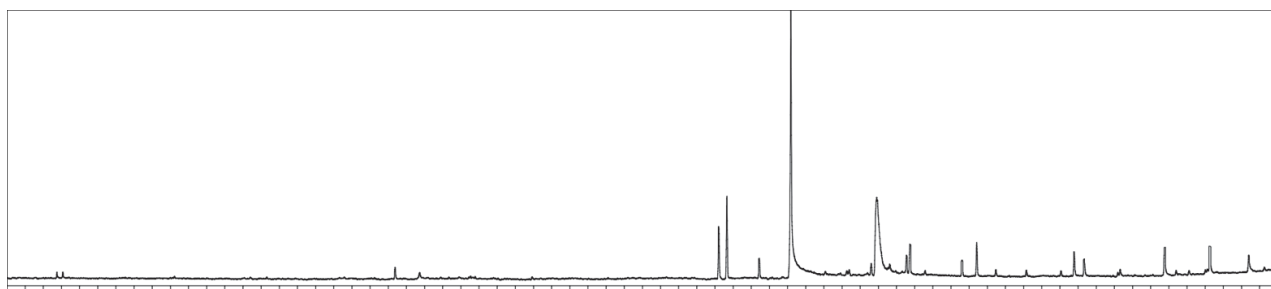
Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas e odoríferas, obtidas de matérias primas vegetais (SIMÕES et al., 2017). Desempenham importante papel no metabolismo das plantas, principalmente para defesa vegetal, pois geralmente são antimicrobianos e possuem propriedades antioxidantes (ALEKSICS-SABO; KNEZEVIC, 2019). Possuem propriedades medicinais conhecidas, como atividades antibacteriana, antifúngica e antioxidante (JIN; YUAN; ZHANG, 2011; REZENDE et al., 2013; ALEKSICS-SABO; KNEZEVIC, 2019).

O óleo essencial das folhas de *Parodiolyra micrantha*, obtido por hidrodestilação por arraste de vapor d'água em aparelho de Clevenger, apresentou coloração amarela-esverdeada e odor suave. A extração resultou na obtenção de 0,4 mL de óleo, correspondente a um rendimento de 0,1%. Por conter alcanos em sua composição, possui o aspecto de oleorresina.

Oleorresinas consistem em duas frações, uma composta de óleos voláteis e outra que apresenta componentes não voláteis (resinas compostas por ácidos graxos, ceras e componentes lipofílicos. Podem ser extraídas de diferentes partes da planta, como folhas, caule, frutas, sementes, raízes e rizomas. É uma fonte rica de componentes bioativos e tem ampla aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica (LEE et al., 2019)

4.5.1 Identificação dos constituintes do óleo essencial

A caracterização dos componentes do óleo essencial de *Parodiolyra micrantha*, resultante da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas está representado na FIGURA 10.

FIGURA 10 - CROMATOGRAMA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Parodiolyra micrantha*

FONTE: A Autora (2019).

A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos espectros de massas e Índices de Kovats obtidos com os espectros descritos por Adams (2007). A composição química do óleo essencial, bem como seus respectivos tempos de retenção, índices de retenção, classificação e porcentagens estão descritos na TABELA 5.

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Parodiolyra micrantha* DETERMINADA POR CROMATOGRAFIA GASOSA

TR	IRc	IRt	COMPOSTO IDENTIFICADO	CLASSIFICAÇÃO	[] %
25.380	1375	1383	(E)- β -	Cetona	0,97
26.740	1406		Damascenona	-	0,94
	1840		NI (mistura)	-	
43.210	1840		M: C ₁₉ H ₃₈ O NI	-	4,09
43.655	1853	1869	Diisobutilftalato	Éster	5,79
45.440	1906	1889	(5Z,9E)-Farnesil acetona	Cetona	1,75
47.180	1959	1919	Ácido hexadecanóico	Ácido carboxílico	35,49
51.605	2100	2100	n-heneicosano	Alcano	1,08
51.905	2110	2111	Fitol	Álcool diterpenóide	25,08
52.620	2135		NI	-	1,25
53.545	2166		NI	-	1,76
53.735	2172	-	NI	-	2,65
54.585	2201	2202	n-docosano	Alcano	0,33
56.610	2272	-	NI	-	1,29
57.420	2301	2300	n-tricosano	Alcano	2,55
58.470	2339	-	NI	-	0,54
60.160	2401	2400	n-tetracosano	Alcano	0,61
62.050	2473	-	NI	-	0,51
62.785	2501	2500	n-pentacosano	Alcano	2,11
63.345	2523	-	Éster de ácido ftálico	Éster	1,74
65.315	2601	2600	n-hexacosano	Alcano	0,75

(continua)

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Parodiolyra micrantha* DETERMINADA POR CROMATOGRAFIA GASOSA

					(continuação)
TR	IRc	IRt	COMPOSTO IDENTIFICADO	CLASSIFICAÇÃO	[] %
67.765	2701	2700	n-heptacosano	Alcano	3,06
70.130	2801	2800	n-octacosano	Alcano	0,51
70.265	2807	-	NI	-	2,90
72.400	2901	2900	n-nonacosano	Alcano	2,25
Total de compostos identificados					84,07
Total de compostos não identificados					15,93

FONTE: O autor (2019).

NOTA: TR= tempo de retenção (minutos), IRt = índice de retenção teórico (Adams, 2007), IRc = índice de retenção calculado, %= porcentagem do componente

Através da análise de CG/EM foram detectados 24 compostos, e dentre estes, 15 foram identificados, correspondendo a 84,07% dos componentes presentes no óleo essencial de *Parodiolyra micrantha*. Destes 15 compostos identificados, 2 (2,72%) eram cetonas, 1 (35,49%) era ácido carboxílico, 8 (13,25%) eram alcanos e 1(25,08%) era um álcool diterpenoide. Vale ressaltar que os 2 ésteres identificados como disobutilftalato (5,79%) e o éster do ácido ftálico (1,74%) foram determinados como contaminações no processo de identificação do óleo essencial.

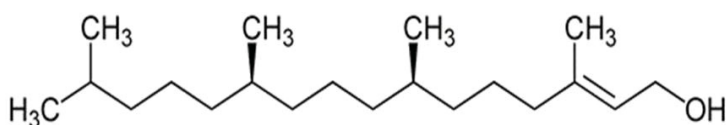
A predominância do ácido carboxílico e álcool diterpenoide está de acordo com os resultados obtidos para outros estudos da subfamília Bambosoideae (WANG et al., 2016; TAO et al., 2018; TAO et al., 2019).

Os compostos majoritários encontrados foram o ácido carboxílico denominado ácido hexadecanóico (35,49%) e o álcool diterpenoide fitol (25,08%). A estrutura química destes compostos está representada na FIGURA 11.

A obtenção e a caracterização dos constituintes químicos do óleo essencial são inéditas para o gênero *Parodiolyra*.

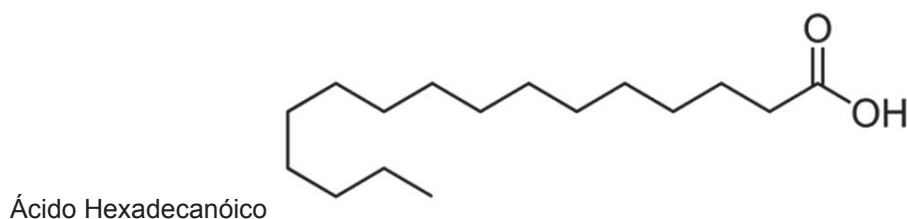
FIGURA 11 - COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Parodiolyra micrantha*

(continua)



Fitol

FIGURA 11 - COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Parodiolyra micrantha* (continuação)



FONTE: A Autora (2019).

4.5.1.1 Fitol

O fitol (3,7,11,15-tetrametil-hexadec-2-en-1-ol) é um composto encontrado abundantemente na natureza. Faz parte da molécula de clorofila, sendo produzido por quase todos os organismos fotossintéticos, incluindo algas, plantas e cianobactérias (ISCHEBECK et al., 2006; GUTBROD; ROMER; DÖRMANN, 2019). É formado adicionalmente, como metabólito importante durante o catabolismo em animais ruminantes. Conseqüentemente, o fitol é considerado o isoprenoide acíclico mais abundante presente na biosfera do nosso planeta (RONTANI; VOLKMAN, 2003; GUTBROD; ROMER; DÖRMANN, 2019). Nos ruminantes, a digestão intestinal do material vegetal libera fitol, que é convertido em ácido fitânico (VAN DEN BRINK; WANDERS, 2006; ISLAM et al., 2015; GUTBROD; ROMER; DÖRMANN, 2019).

É utilizado principalmente como constituinte de fragrâncias e sua significativa propriedade biológica têm chamado a atenção para possível aplicação nos campos farmacêutico e biotecnológico (ISLAM et al., 2018).

As seguintes atividades biológicas para o fitol e seus derivados têm sido relatadas: atividade ansiolítica e anticonvulsivante (COSTA et al., 2012; PEREIRA COSTA et al., 2014; COSTA et al., 2014), propriedades imunomoduladoras (AACHOUI et al., 2011; NAKANISHI et al., 2016), atividade antinoceptiva (SANTOS et al., 2013) e anti-inflamatória (SILVA et al., 2014), atividade antimicrobiana (INOUE et al., 2005; GHANEIAN et al., 2015; PEJIN et al., 2015; LEE et al., 2016), propriedade antioxidante (SANTOS et al., 2013), atividade despigmentadora cutânea (KO & CHO, 2018), atividade antitumoral (KOMIYA et al., 1999; LÍŠKA et al., 2011; SONG & CHO

et al., 2015; KIM et al., 2015), atividade contra *Schistosoma in vitro* (MORAES et al., 2014; UPADHYAY et al., 2014).

Os mecanismos moleculares exatos às suas ações biológicas ainda são insuficientemente compreendidos (ISLAM et al., 2018).

4.5.1.2 Ácido Hexadecanóico

O ácido hexadecanóico, também denominado ácido palmítico, é um ácido graxo saturado. Sabe-se que muitos ácidos graxos possuem propriedades antibacteriana e antifúngica. Os ácidos graxos podem modular as respostas imunes, agindo diretamente nas células T (AGORAMOORTHY et al., 2007; APARNA et al., 2012), com conseqüente atividades antimicrobiana, antifúngica, antitumoral e antioxidante (JIN et al., 2011; APARNA et al., 2012; TAO et al., 2019).

4.6 ANÁLISE FITOQUÍMICA: EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES

4.6.1 Preparo do extrato bruto e determinação do teor de sólidos

O extrato bruto de folhas de *Parodiolyra micrantha* foi obtido por meio de aparelho Soxhlet modificado, utilizando etanol 96°GL como solvente extrator. A extração das folhas foi realizada em 3 etapas, devido a quantidade de material vegetal triturado ser superior a capacidade do Soxhlet. Após todas as extrações serem realizadas, os extratos resultantes das folhas foram homogeneizados. Para o extrato bruto a partir das folhas, foram utilizados 1827,0 g de folhas de planta triturada, obtendo ao final do processo 2,4 litros de extrato. O extrato apresentou coloração marrom.

A partir do extrato bruto, foi realizada a análise de teor de sólidos e o resultado está apresentado na TABELA 6.

O teor de sólidos permite calcular o rendimento do extrato bruto hidroalcoólico, já que sua fase líquida é eliminada. Para o extrato a partir das folhas o rendimento encontrado foi de 15,83%.

TABELA 6 - TEOR DE SÓLIDOS E RENDIMENTO NO EXTRATO BRUTO DE FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

MATERIAL VEGETAL	TEOR DE SÓLIDOS	DP	RENDIMENTO (%)
Folhas	0,82	0,12	15,83

Fonte: A Autora (2018)

Legenda: desvio padrão (DP).

Após esta etapa, uma parte de extrato bruto foi separada, e posteriormente evaporada, para a realização das atividades biológicas. O restante dos extratos foi concentrado em rotaevaporador para dar sequência ao fracionamento.

4.6.2 Preparo das frações

A partição líquido-líquido das frações foi realizada para folhas de *Parodiolyra micrantha*, em aparelho Soxhlet modificado após obtenção do extrato bruto. Os solventes utilizados para a obtenção das frações foram de polaridade crescente (hexano, clorofórmio e acetato de etila), até a obtenção da fração hidroalcoólica remanescente. As frações foram obtidas em uma única etapa.

Na TABELA 7 está representada a quantidade obtida de cada uma das frações, após as mesmas serem evaporadas, em grama e o rendimento em % em relação à quantidade de planta seca utilizada no extrato bruto, a qual foi destinada para o fracionamento.

TABELA 7 - RENDIMENTO DAS FRAÇÕES EXTRAÍDAS POR SOXHLET

PARTE AÉREA	FRAÇÃO	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
Folhas	Hexano	42,89	10,72
	Clorofórmio	4,52	1,13
	Acetato de etila	12,76	1,77
	Hidroalcoólica remanescente	21,40	5,35

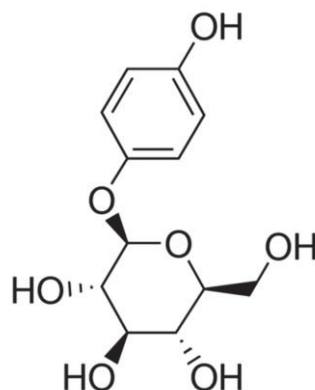
Fonte: A Autora (2018)

4.7 ANÁLISE FITOQUÍMICA: ISOLAMENTO DE CONSTITUINTE QUÍMICO

A investigação fitoquímica da fração folha acetato de etila resultou no isolamento de um composto fenólico identificado como sendo o 2-(hidroximetil)-6-(4-hidroxifenoxi)oxano-3,4,5-triol monohidrato, tendo como sinônimos p-hidroxifenil β-D-glucosídeo e hidroquinona β-D-glucopiranosídeo, conhecido popularmente como arbutin ou arbutina (DEANS et al., 2018). A estrutura química do arbutin é apresentada na FIGURA 12.

A identificação foi realizada por Difractometria de raios X de monocristal.

FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ARBUTIN



Fonte: A Autora (2019)

Na família Poaceae, o arbutin já foi encontrado e isolado nas seguintes espécies *Triticum aestivum*, *Coix lacryma-jobi* e *Saccharum sinensis* (XU et al., 2015).

A identificação deste composto corrobora com os estudos desenvolvidos e resultados obtidos no decorrer do trabalho, como a presença de compostos fenólicos na marcha fitoquímica, a identificação de compostos fenólicos a partir da reação com cloreto férrico nos testes histoquímicos, além da atividade antioxidante da espécie, que será discutida posteriormente.

O isolamento do arbutin é inédito no gênero *Parodiolyra* Soderstrom & Zuloaga.

4.7.1 Cromatografia em Camada Delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) é uma das técnicas mais utilizadas para a separação e identificação de compostos naturais, sendo considerado um método simples, rápido, eficiente e de baixo custo.

Os resultados obtidos, mostrando os grupos de metabólitos encontrados no extrato bruto e fração acetato de etila, estão descritos na TABELA 8.

TABELA 8 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PARA PESQUISA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS NO EXTRATO BRUTO

AMOSTRAS	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS		
	FLAVONOIDES	TANINOS	CUMARINAS
Extrato bruto folha	+	+	-
Fração folha acetato de etila	+	+	-

FONTE: A autora (2019).

LEGENDA: (-) negativo; (+) positivo.

Como podemos observar, a pesquisa de flavonoides foi positiva para extrato bruto e fração acetato de etila, com a observação de uma banda amarela. Para cumarinas, a reação foi negativa em todas as amostras.

A pesquisa de taninos também foi positiva para as duas amostras, com o aparecimento de uma banda verde correspondendo a taninos condensados e uma banda de cor castanha escura, correspondendo a polifenóis.

4.7.2 Difratomia de raios X de monocristal

A análise de Difratomia de raios X de monocristal, demonstrou que os parâmetros de célula unitária obtidos e submetidos a consulta ao banco de dados CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre) são compatíveis com a estrutura MIDSAW, correspondendo ao arbutin monohidratado. Os parâmetros de célula unitária são descritos na TABELA 9.

TABELA 9 - PARÂMETROS DE CÉLULA UNITÁRIA UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA

DADOS DO CRISTAL	EXPERIMENTAL
C ₁₂ H ₁₆ O ₇ .H ₂ O	
Grupo espacial	Monoclínico, P2 ₁ /n
a/ Å	6,83
b/ Å	14,30
c/ Å	27,89
α/ °	90
β/ °	90
γ/ °	90
Volume/ Å ³	2725
Temperatura de análise	100 K

FONTE: A Autora (2019).

4.7.3 Arbutin

O arbutin é um glicosídeo da hidroquinona, utilizado como agente despigmentante cutâneo na indústria cosmeceútica devido ao seu efeito inibitório sobre a atividade da enzima tirosinase, impedindo a produção de melanina (HAN et al., 2014; KANTEEV et al., 2015). No entanto, sua eficácia e seu mecanismo de despigmentação cutânea ainda não foram totalmente caracterizados (JIANYOU et al., 2014).

É um composto natural que ocorre em várias plantas produtoras de frutas comestíveis, como mirtilo, amora e a maioria das espécies de pêras (POP et al. 2009; LUKAS et al., 2010; CHO et al., 2011; ZHU et al., 2018). Na natureza ocorre na forma β-anomérica da ligação glicosídica entre glicose e hidroquinona (XU et al., 2015).

O α-Arbutin, cuja ligação glicosídica é α-anomérica, é o isômero do arbutin natural, dez vezes mais eficaz que o arbutin na forma β-anomérica, geralmente produzido por transglicosilação da hidroquinona por enzimas microbianas: α-amilase, sacarose fosforilase, ciclodextrina glicosiltransferase, α-glicosidase, dextransucrase, amilosucrase e sacarose isomerase (ZHU et al., 2018). Recentemente, métodos de cultura de células vegetais são amplamente estudados para a biosíntese exógena de α-arbutin usando espécies vegetais, incluindo *Ruta graveolens* L., *Hypericum perforatum* L. (PIEKOSZEWSKA et al. 2010) e *Aronia melanocarpa* (KWIECIEN et al., 2013).

O arbutin é tradicionalmente utilizado como antisséptico e diurético para o tratamento de infecções do trato urinário (GEMOT et al., 2002), pedras nos rins e cistite (ABASCAL; YARNELL, 2008). Além disso, estudos demonstraram potente atividade antioxidante (IOKU et al., 1992; BANG et al., 2008; TAKEBAYASHI et al., 2010; TAI et al., 2011), antimicrobiana (TABATA et al., 1982; JURICA et al., 2017), antiinflamatória (LEE; KIM, 2012), antimalárica e citotóxica (OVENDEN et al., 2011)

4.8 DOSEAMENTO DE FENÓLICOS

Os antioxidantes naturais possuem estrutura fenólica e englobam cerca de 8000 compostos diferentes divididos em duas categorias principais, dependendo do número de grupos fenólicos: os fenóis simples (com um grupo hidroxila ligada a um anel fenila), e os polifenóis que têm mais de um grupo hidroxila ligado ao anel (TAN; LIM, 2015). Esses grupos fenólicos são representados pelos flavonoides e isoflavonoides, ácidos fenólicos, taninos, lignanas, xantonas e outros (RAZAVI et al., 2008).

É amplamente relatado que bambus são uma fonte rica de compostos fenólicos e que estes desempenham um papel importante na sua ação antioxidante (HU et al., 2000; WANG et al., 2012; LI et al., 2016).

As espécies de bambu contêm várias flavonas glicosiladas cujas agliconas são representadas por apigenina, luteolina e tricina (HU et al., 2000; PARK et al., 2007; JIAO et al., 2007). Além disso, compartilham características comuns de sua composição fenólica com outras plantas, como por exemplo, trigo duro (*Triticum durum*) e cevada (*Hordeum vulgare*), ambas espécies da família Poaceae (CAVALIERE et al., 2005; FERRERES et al., 2008).

Os resultados do doseamento de fenólicos totais para extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* se encontram na TABELA 10. A quantificação foi realizada por comparação com a curva padrão de ácido gálico (concentração variando de 2,5 a 100 µg/mL).

TABELA 10 - QUANTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

FRAÇÕES	FENÓLICOS TOTAIS ($\mu\text{g EAG/mg}$) \pm DP
EBF	58,87 \pm 7,15 a1
FFH	80,65 \pm 3,79 a1
FFC	79,97 \pm 2,70 a1
FFA	157,07 \pm 6,091 a2
FFR	83,81 \pm 7,74 a1

FONTE: A Autora (2019)

NOTA 1: EAG (equivalentes de ácido gálico), DP (desvio padrão), extrato bruto folha (EBF), fração folha hexano (FFH), fração folha clorofórmio (FFC), fração folha acetato de etila (FFA), fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: equação de regressão linear $y = 0,4502x - 0,0149$ (onde, $n=8$, $r^2 = 0,9907$ para ácido gálico)

NOTA 3: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

O resultado mais expressivo para o doseamento de fenólicos totais, conforme TABELA 10, foi encontrado na fração acetato de etila, já as demais amostras ficaram todas no mesmo grupo estatístico.

O doseamento de fenólicos totais é inédito para *Parodiolyra micrantha* e quando comparado com outro bambu herbáceo, *Aulonemia aristulata*, apresenta valor superior em fenólicos totais (WRÓBLEWSKA et al., 2019), demonstrando potencial para atividade antioxidante.

4.9 DOSEAMENTO DE FLAVONOIDES

Os flavonoides constituem uma importante classe de polifenóis presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários dos vegetais (SIMÕES et al., 2017). É considerado marcador taxonômico para a família Poaceae (WROBLEWSKA et al., 2019).

Pesquisas têm descrito que extratos de folhas de bambu são ricos em flavonoides (ZHANG et al., 2008) e apresentam múltiplas atividades biológicas tais como, antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana, antitumoral e antiviral, além da utilização como ingrediente cosmético e aditivo alimentar (LIAO; LU, 2003; ZHANG et al., 2005; 2006; 2008).

Os principais flavonoides encontrados em extratos de bambu são os glicosídeos C da flavona, como a orientina, homorientina, vitexina, isovitexina e tricina (ZHANG et al., 2005; 2008).

Os resultados do doseamento de flavonoides para extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* se encontram na TABELA 11, onde a quantificação foi realizada por comparação com a curva padrão de catequina (concentração variando de 2,5 a 100 µg/mL).

TABELA 11 - QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha*

FRAÇÕES	FLAVONOIDES TOTAIS (µg EC/mg) ± DP
EBF	65,89 ± 1,62 a1
FFH	70,30 ± 4,40 a1
FFC	62,64 ± 7,02 a1
FFA	182,73 ± 4,41 a3
FFR	93,77 ± 7,19 a2

FONTE: A Autora (2019)

NOTA 1: EC (equivalentes de catequina), DP (desvio padrão), extrato bruto folha (EBF), fração folha hexano (FFH), fração folha clorofórmio (FFC), fração folha acetato de etila (FFA), fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: equação de regressão linear $y = 1,241x - 0,0574$ (onde, $n=8$, $r^2 = 0,9907$ para catequina) gálico

NOTA 3: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

O resultado mais expressivo para o doseamento de flavonoides totais, conforme TABELA 11, foi encontrado na fração acetato de etila, seguida da fração remanescente. As demais amostras ficaram todas no mesmo grupo estatístico.

O doseamento de flavonoides totais é inédito para *Parodiolyra micrantha* e quando comparado a outro bambu herbáceo, *Aulonemia aristulata*, apresenta valor superior em flavonoides totais (WRÓBLEWSKA et al., 2019).

4.10 PROPRIEDADE ANTIOXIDANTE

4.10.1 Formação do Complexo Fosfomolibdênio

O ensaio tem como princípio a avaliação da oxidação ocorrida no reativo, por compostos lipofílicos e hidrofílicos. O potencial antioxidante de cada amostra (extrato bruto, frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente) foi calculado em relação aos padrões vitamina C, rutina e BHT, cujas atividades foram consideradas 100%. Os resultados encontrados são apresentados na TABELA 12.

TABELA 12 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Paradiolyra micrantha*

AMOSTRA	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO À VITAMINA C AAR (%) ± DP	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO À RUTINA AAR (%) ± DP	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO AO BHT AAR (%) ± DP
VIT C	100 a6	-	-
RUTINA	-	100 a2	-
BHT	-	-	100 a6
EBF	46,85 ± 0,30 a2	146,22 ± 0,14 a3	56,87 ± 0,25 a2
FFH	29,63 ± 0,31 a1	92,49 ± 0,11 a1	35,98 ± 0,26 a1
FFC	54,82 ± 0,30 a4	171,11 ± 0,17 a5	66,55 ± 0,26 a4
FFA	54,51 ± 0,30 a5	179,50 ± 0,17 a6	69,82 ± 0,25 a5
FFR	54,75 ± 0,30 a3	170,50 ± 0,16 a4	66,46 ± 0,25 a3

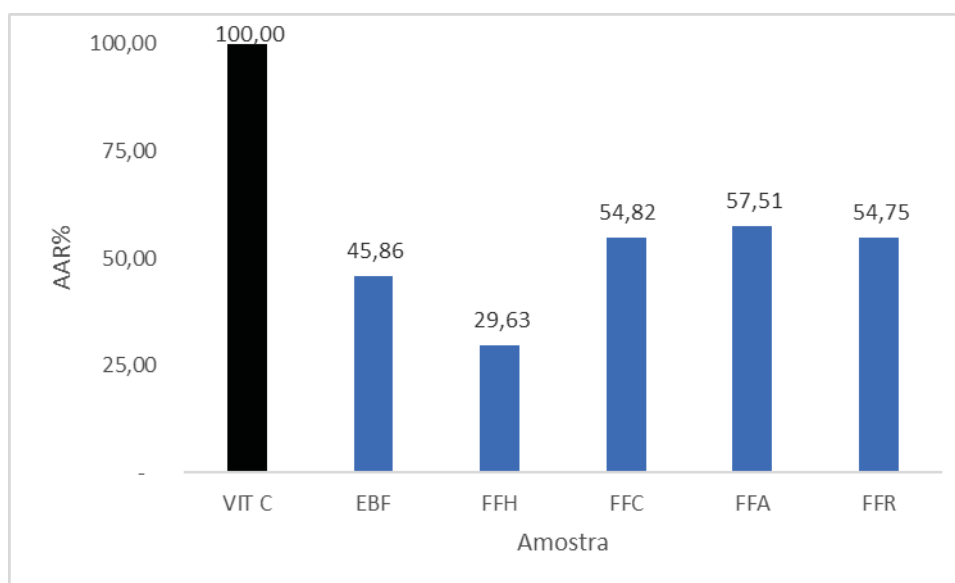
NOTA 1: Atividade Antioxidante Relativa (AAR%), Desvio Padrão (DP), Ácido ascórbico/ Vitamina C (Vit C), hidroxibutiltolueno (BHT), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

A partir dos dados representados nas tabelas, pode-se verificar que todas as amostras demonstraram atividade antioxidante por formação do complexo fosfomolibdênio, especialmente a fração acetato de etila. As amostras testadas apresentaram atividade antioxidante com resultados mais significativos frente ao controle rutina, seguidos de BHT e ácido ascórbico.

O GRÁFICO 1 apresenta o resultado do ensaio antioxidante pelo método do fosfomolibdênio, frente ao ácido ascórbico, onde as barras em preto são os padrões e as barras em azul são as amostras de *Parodiolyra micrantha*.

GRÁFICO 1 - CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Parodiolyra micrantha* COMPARADAS AO ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)



FONTE: A Autora (2019).

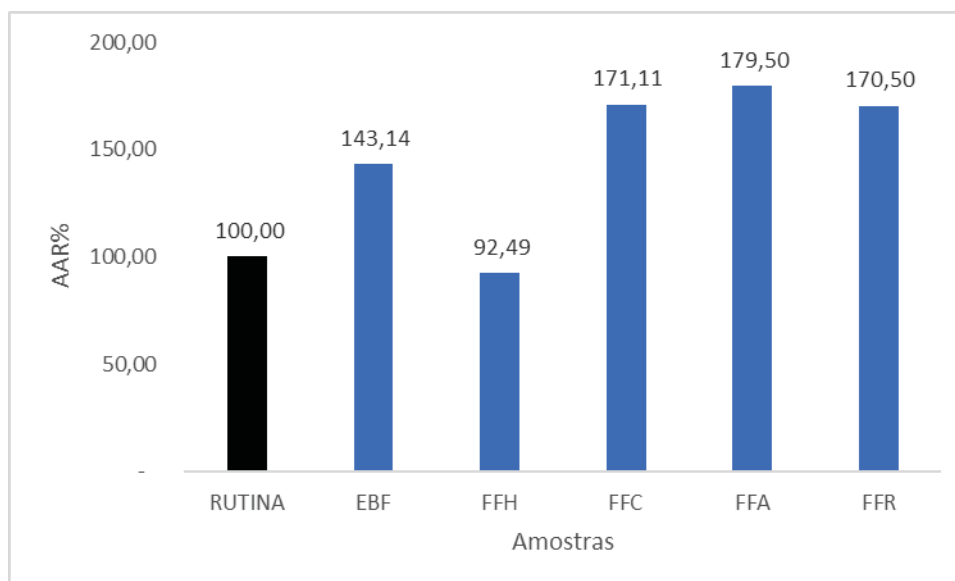
NOTA 1: Atividade antioxidante relativa (AAR%), Vitamina C (VIT C), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), fração folha clorofórmio (FFC), fração folha acetato de etila (FFA), fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Embora os resultados em relação ao ácido ascórbico tenham sido menores do que os obtidos em comparação a rutina e BHT, a fração acetato de etila demonstrou resultado considerável com 57,51% de atividade antioxidante. A fração com menor atividade antioxidante foi a hexano com 29,63%.

O GRÁFICO 2 apresenta o resultado do ensaio antioxidante pelo método do fosfomolibdênio, frente a rutina, onde as barras em preto são os padrões e as barras em azul são as amostras de *Parodiolyra micrantha*.

GRÁFICO 2 - CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Paradiolyra micrantha* COMPARADAS À RUTINA



FONTE: A autora (2019).

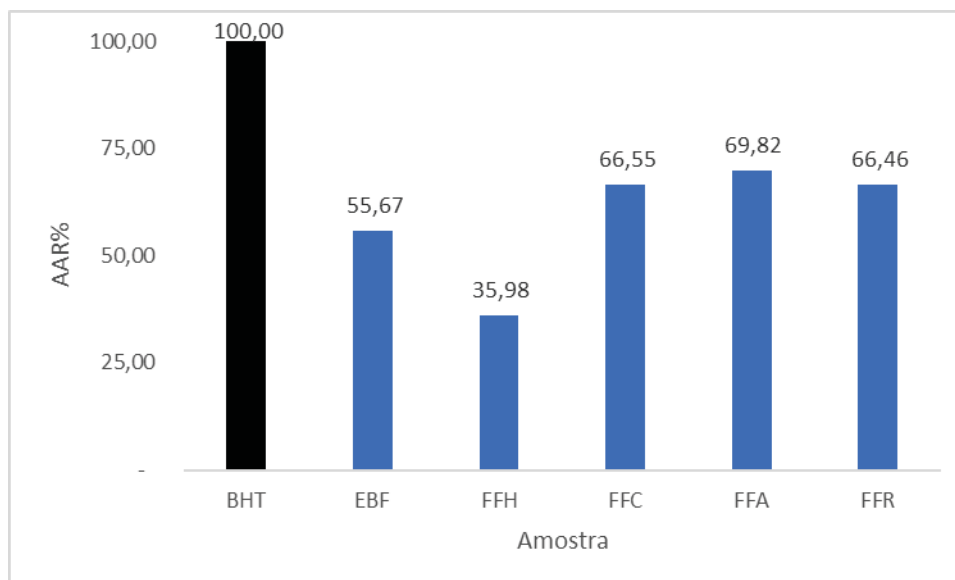
NOTA 1: Atividade antioxidante relativa (AAR%), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Os resultados encontrados de AAR% frente à Rutina foram bastante significativos, pois apenas a fração hexano apresentou resultado estatisticamente inferior ao padrão. As demais amostras testadas obtiveram resultados superiores a 100%, com destaque para a fração folha acetato de etila com 179,50%. A fração com menor atividade antioxidante foi a hexano com 92,49%.

O GRÁFICO 3 apresenta o resultado do ensaio antioxidante pelo método do fosfomolibdênio, frente a rotina, onde as barras em preto são os padrões e as barras em azul são as amostras de *Paradiolyra micrantha*.

GRÁFICO 3 – CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Parodiolyla micrantha* COMPARADAS AO BHT



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Atividade antioxidante relativa (AAR%), Hidroxitolueno butilado (BHT), (Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Considerando os resultados frente ao BHT, observamos que não foram tão altos quanto aos da rotina, mas ainda assim são relevantes. A fração acetato de etila foi a que mais se aproximou estatisticamente do padrão BHT, com resultado de 69,82%. A fração com menor atividade antioxidante foi a hexano com 35,98%.

4.10.2 Redução do radical DPPH

Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH.

Determinadas substâncias possuem a capacidade de sequestrar o radical livre DPPH, doando um átomo de hidrogênio, e conseqüentemente reduzindo-o a hidrazina (coloração amarela). Deste modo, ocorre a mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da

absorbância, produzida pela adição do antioxidante a uma solução alcoólica do radical DPPH.

O método é considerado um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenoides (ALVES et al., 2010).

Os resultados obtidos estão demonstrados na TABELA 13. A quantificação foi realizada por comparação com a curva padrão de Trolox (concentração variando de 2,5 a 100 µg/mL).

TABELA 13 – POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO RADICAL DPPH FRENTE AO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha*

FRAÇÕES	DPPH (µg ET/mg) ± DP
EBF	0,83 ± 0,0016 a1
FFH	1,04 ± 0,0020 a2
FFC	0,83 ± 00,16 a1
FFA	2,50 ± 0,011 a4
FFR	2,0 ± 0,006 a4

Fonte: A Autora (2019).

NOTA 1: Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DDPH), Equivalente de Trolox (ET), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: equação de regressão linear $y = 0,0296x + 0,5797$ (onde, $n=8$, $r^2 = 0,99$ para Trolox).

NOTA 3: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Conforme os resultados apresentados na TABELA 13, a fração acetato de etila apresentou a melhor atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

4.10.3 Discussão dos resultados de atividades antioxidantes

Os dois métodos executados testam a atividade antioxidante das amostras por diferentes mecanismos: redução do radical livre DPPH e formação do complexo Fosfomolibdênio.

O método de formação do complexo Fosfomolibdênio utiliza os padrões vitamina C, rutina e BHT. O Ácido ascórbico, que pode ser obtido de forma natural ou sintética, é um potente sequestrador para radicais hidrofílicos, mas fraco frente à

radicais lipofílicos. Assim, ele possui um caráter hidrofílico e sua cinética de reação é rápida (ocorrendo em segundos). Já o BHT é de origem sintética, possui caráter lipofílico e sua cinética de reação é lenta (ALVES et al., 2010). A Rutina, por ser um flavonoide, tem sua atividade antioxidante bastante conhecida.

O método de redução do radical livre DPPH utiliza o padrão Trolox, um análogo da vitamina E solúvel em água.

Nos dois métodos realizados, todas as amostras testadas apresentaram atividade antioxidante, sendo que a fração acetato de etila foi a que mostrou os resultados mais significativos. Isto corrobora com os *screenings* de marcha fitoquímica e CCD, onde foram encontrados a presença de compostos fenólicos (taninos, flavonoides e cumarinas). Os compostos fenólicos também estiveram evidentes nos testes histoquímicos no estudo morfoanatômico, Além destes ensaios, foi na fração acetato de etila que se obteve o arbutin isolado, um composto fenólico.

Os fenólicos são bem conhecidos como uma classe de compostos bioativos com forte efeito antioxidante *in vitro* e *in vivo* (GRANATO et al., 2016).

Nesse sentido, o doseamento de composto fenólicos na *Parodiolyra micrantha* foi correlacionado positivamente (correlação de Pearson = r) com o método antioxidante DPPH ($r = 0,70$) e também com o doseamento de flavonoides totais ($r = 0,90$), demonstrando uma boa relação antioxidante. O coeficiente de correlação de Pearson mede o grau da correlação linear entre duas variáveis quantitativas, e quanto mais o r se aproxima de 1, mais a correlação será perfeita entre as duas variáveis (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JÚNIOR, 2009).

4.11 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.11.1 Atividade Alelopática

Por serem organismos sésseis, as plantas necessitaram desenvolver, ao longo de sua evolução, eficientes mecanismos que possibilitassem uma defesa eficaz contra predadores, ao mesmo tempo em que as auxiliassem na competição com outros vegetais, aumentando suas vantagens adaptativas. (RODRIGUES; KERBAUY, 2009). Cada espécie vegetal aperfeiçoou esse mecanismo e desenvolveu um conjunto de

compostos de defesa (LARCHER, 2006), cujos efeitos compreendem o que chamamos de toxicidade biogênica ou alelopatia.

A alelopatia está relacionada à capacidade de um vegetal interferir de forma natural no desenvolvimento de outros sistemas biológicos, por meio de substâncias químicas denominadas aleloquímicos, que são liberadas na atmosfera e/ou solo por volatilização, lixiviação, exsudação radicular e por decomposição dos resíduos da planta (RODRIGUES; PASSINI; FERREIRA, 1999; INDERJIT et al., 2001). É considerado um mecanismo chave que caracteriza a interespecificidade de interações, estruturas da comunidade vegetal e a dinâmica do ambiente (INDERJIT; DUKE, 2003; SHAO-LIN et al., 2003). Segundo Rice (apud FERREIRA; AQUILA, 2000), o termo alelopatia pode ser extrapolado para os efeitos benéficos ou maléficos exercido por biomoléculas liberadas pelas plantas no meio que a circunda.

Os aleloquímicos se acumulam predominantemente nas folhas, mas podem ocorrer em todos os órgãos da planta. Após serem liberados, eles causam efeitos sobre organismos e o meio ambiente, interferindo no crescimento e desenvolvimento das plantas, com alterações a nível celular, função de membrana, fitohormônios, fotossíntese e absorção de nutrientes (ALMEIDA, 2008).

A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (defensivos agrícolas). A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário vegetal, pois na evolução das plantas representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (WALLER et al., 1999).

Este ensaio é um modelo de estudo preliminar de divisão celular vegetal, servindo como base para o direcionamento de possíveis atividades farmacológicas e imunológicas.

Para isto, foram avaliadas a capacidade da espécie *Parodiolyra micrantha* em influenciar a germinação e o crescimento de alface (*Lactuca sativa*, eudiotiledônea) e cebola (*Allium cepa*, monocotiledônea).

As sementes de alface e cebola são muito utilizadas nos bioensaios de alelopatia por serem altamente sensíveis às diferentes concentrações de aleloquímicos, mesmo que estas sejam baixas. Outras peculiaridades que destacam seu uso incluem: germinação rápida, possibilitando obtenção de respostas em curto

período experimental, crescimento linear e ampla tolerância às variações de pH (MAIRESSE et al., 2007; STEIN et al., 2004).

4.11.1.1 Germinação e IVG

Os resultados da influência do extrato bruto e frações de *Parodyolira micrantha* na germinação de *Lactuca sativa* podem ser observados na TABELA 14.

TABELA 14 – INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodyolira micrantha* NA GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA $\mu\text{g.mL}^{-1}$	MÉDIA DE GERMINAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	2,57	a1
	250	2,71	a1
	500	2,71	a1
	750	2,71	a1
	1000	2,57	a1
FFH	100	2,71	a1
	250	2,57	a1
	500	2,71	a1
	750	2,57	a1
	1000	2,42	a1
FFC	100	2,57	a1
	250	2,85	a1
	500	2,71	a1
	750	2,85	a1
	1000	2,42	a1
FFA	100	2,57	a1
	250	2,85	a1
	500	3,00	a1
	750	2,71	a1
	1000	2,71	a1
FFR	100	2,85	a1
	250	2,71	a1
	500	2,85	a1
	750	2,85	a1
	1000	2,71	a1
Controles	Água	4,75	a1
	Metanol	4,62	a1

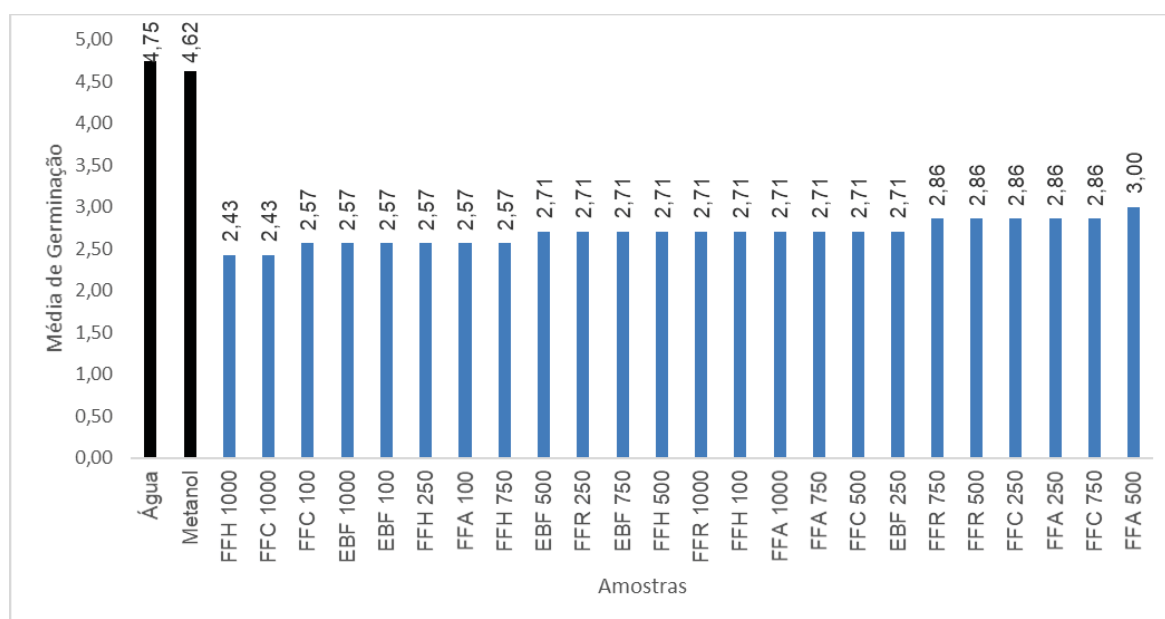
FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

Como pode-se observar, não houve distanciamento estatístico entre o extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* (grupo a1) dos controles água e metanol (grupo a1), por consequência não houve influência negativa ou positiva na germinação de *Lactuca sativa*. Uma melhor visualização destas frações comparadas aos controles pode ser observada no GRÁFICO 4.

GRÁFICO 4 – FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* SEM INFLUÊNCIA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto da folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

Nesta etapa também foi avaliado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) para extrato bruto e frações. Os resultados da influência dos extratos brutos e frações de *Parodiolyra micrantha* no Índice de Velocidade de Germinação de *Lactuca sativa* podem ser observados na TABELA 15.

TABELA 15 – INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* NO IVG DE *Lactuca sativa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA $\mu\text{g.mL}^{-1}$	MÉDIA DE IVG	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	8,33	a2
	250	8,95	a2
	500	8,36	a2
	750	8,20	a2
	1000	8,45	a2
FFH	100	8,50	a2
	250	8,40	a2
	500	17,30	a2
	750	8,28	a2
	1000	7,61	a2
FFC	100	8,41	a2
	250	9,28	a2
	500	9,08	a2
	750	8,95	a2
	1000	7,31	a2
FFA	100	8,25	a2
	250	9,28	a2
	500	9,53	a2
	750	8,01	a2
	1000	9,16	a2
FFR	100	9,50	a2
	250	8,66	a2
	500	9,70	a2
	750	9,66	a2
	1000	8,28	a2
Controles	Água	4,75	a1
	Metanol	4,62	a1

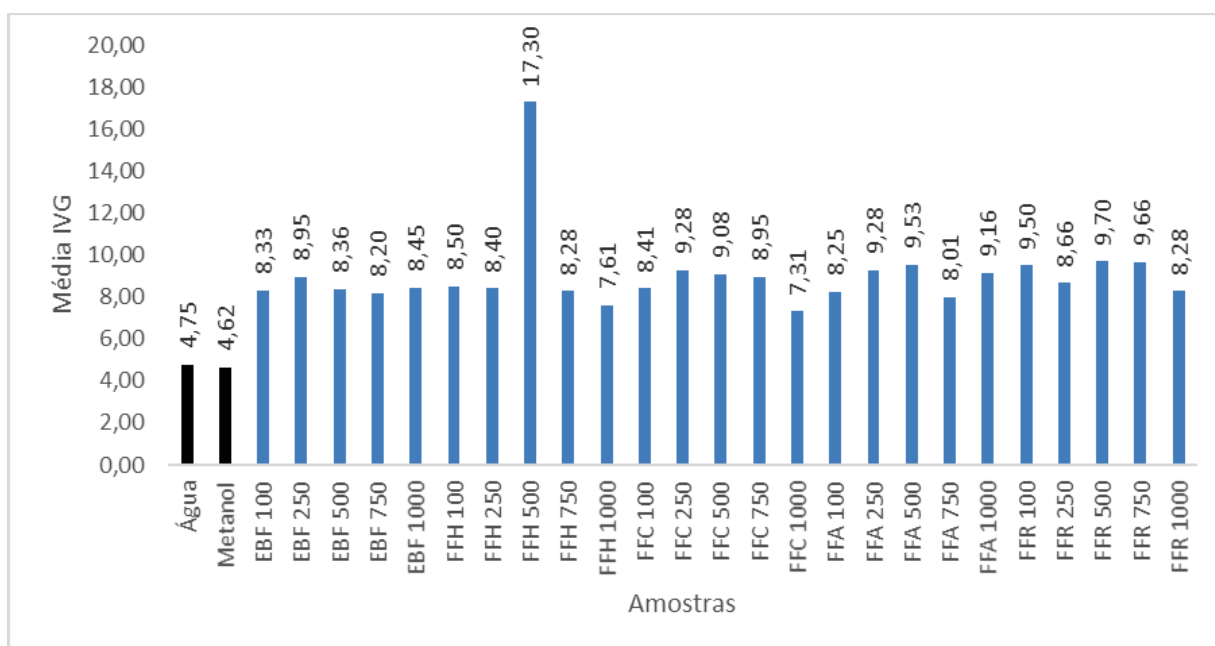
FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott.

De acordo com a TABELA 15, pode ser visualizado que todas as frações de *Paradiolyra micrantha* estimularam o IVG, sendo a fração hexano na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$, pertencente ao grupo a2, a que mais se distanciou estatisticamente dos controles água e metanol (grupo a1), influenciando positivamente na velocidade de germinação da *Lactuca sativa*. Os resultados podem ser visualizados no GRÁFICO 5.

GRÁFICO 5 – FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* QUE INFLUENCIARAM POSITIVAMENTE NO IVG DE SEMENTES DE *Lactuca sativa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Fração hexano 500 µg/mL (FFH 500).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

Os resultados da influência do extrato bruto e frações de *Paradiolyra micrantha* na germinação de *Allium cepa* são apresentados na TABELA 16.

TABELA 16 – INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* NA GERMINAÇÃO DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

(continua)

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA µg/mL	MÉDIA DE GERMINAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	1,36	a1
	250	1,36	a1
	500	0,5	a1
	750	0,93	a1
	1000	1,07	a1
FFH	100	1,43	a1
	250	1,43	a1
	500	0,93	a1
	750	1,21	a1
	1000	1,35	a1
FFC	100	1,29	a1
	250	1,35	a1
	500	1,29	a1
	750	1,35	a1
	1000	1,29	a1

TABELA 16 – INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* NA GERMINAÇÃO DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

(continuação)

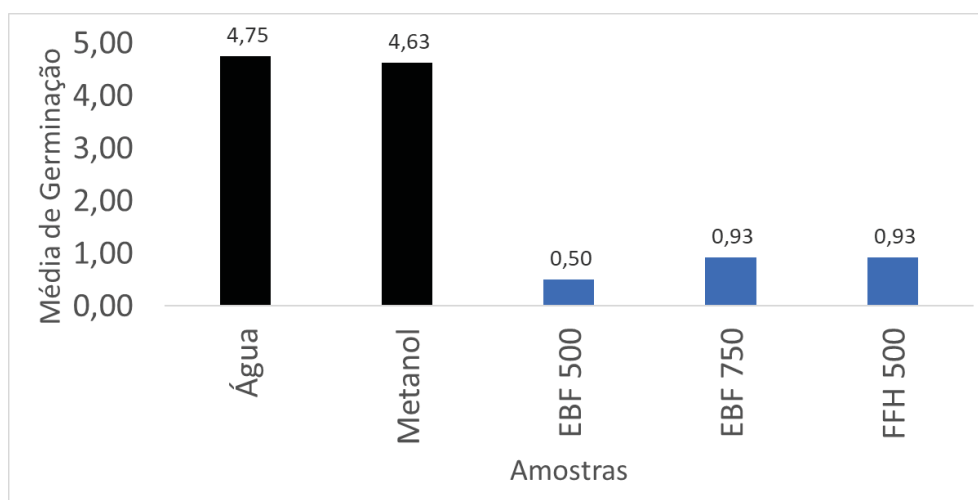
FFA	100	1,29	a1
	250	1,35	a1
	500	1,29	a1
	750	1,29	a1
	1000	1,29	a1
FFR	100	1,35	a1
	250	1,43	a1
	500	1,43	a1
	750	1,29	a1
	1000	1,21	a1
Controle	Água	4,75	a2
	Metanol	4,62	a2

FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

De acordo com a TABELA 16, podemos observar que a fração que mais se distanciou estatisticamente dos controles água e metanol (grupo a2), influenciando negativamente na germinação de *Allium cepa*, foi o extrato bruto na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$, seguida das frações extrato bruto 750 $\mu\text{g/mL}$ e hexano 500 $\mu\text{g/mL}$. Uma melhor visualização pode ser observada no GRÁFICO 6.

GRÁFICO 6 – FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* QUE INFLUENCIARAM NEGATIVAMENTE NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Allium cepa*

FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha 500 e 740 $\mu\text{g/mL}$ (EBF 500, EBF 750), fração folha hexano 500 $\mu\text{g/mL}$ (FFH 500).NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

Os resultados da influência do extrato e frações de *Parodiolyra micrantha* no Índice de Velocidade Germinação de *Allium cepa* podem ser observados na TABELA 17.

TABELA 17 – INFLUÊNCIA DE EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* NO IVG DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA µg/mL	MÉDIA DE IVG	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	3,61	a1
	250	3,91	a1
	500	1,91	a1
	750	3,10	a1
	1000	3,10	a1
FFH	100	3,98	a1
	250	4,10	a1
	500	2,95	a1
	750	3,20	a1
	1000	4,03	a1
FFC	100	3,87	a1
	250	4,10	a1
	500	3,55	a1
	750	3,90	a1
	1000	3,69	a1
FFA	100	3,93	a1
	250	3,78	a1
	500	3,91	a1
	750	3,82	a1
	1000	3,50	a1
FFR	250	1,43	a1
	500	1,43	a1
	750	1,29	a1
	1000	1,21	a1
Controle	Água	4,75	a2
	Metanol	4,62	a2

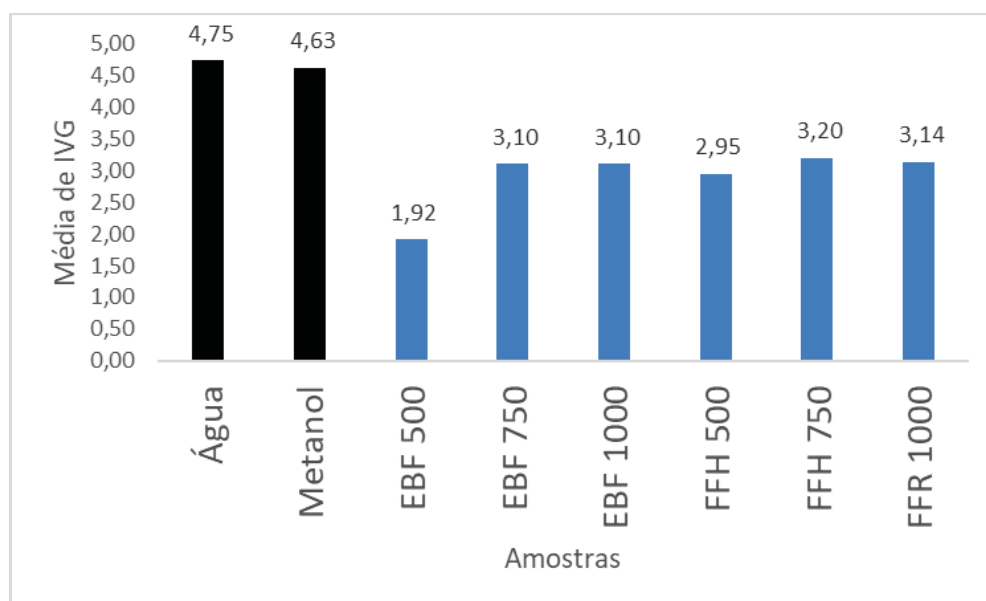
FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

De acordo com a TABELA 17, pode ser visualizado que todas as frações de *Parodiolyra micrantha* inibiram o IVG, sendo o extrato bruto na concentração de 500 µg/mL, pertencente ao grupo a1, a que mais se distanciou estatisticamente dos controles água e metanol (grupo a2), influenciando negativamente na velocidade de germinação da *Allium cepa*. O extrato bruto (750 e 1000 µg/mL) e a fração hexano (500, 750 e 1000 µg/mL) também influenciaram, em menor grau, na velocidade de germinação. Uma melhor visualização pode ser observada no GRÁFICO 7.

GRÁFICO 7 – EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE INFLUENCIARAM NEGATIVAMENTE NO IVG DE SEMENTES DE *Allium cepa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Índice de velocidade de germinação (IVG), Extrato bruto folha 500, 750 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ (EBF 500, EBF 750, EBF 1000), fração folha hexano 750 $\mu\text{g/mL}$ (FFH 750), fração folha remanescente 1000 $\mu\text{g/mL}$ (FFR 1000).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

4.11.1.2 Crescimento do Hipocótilo

A verificação da influência do extrato e bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* no crescimento do hipocótilo foi realizada por meio da leitura do comprimento do hipocótilo após 7 dias (*Lactuca sativa*) e 14 dias (*Allium cepa*) de armazenamento em estufa.

Os resultados da influência do extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* no crescimento do hipocótilo de *Lactuca sativa* podem ser observados na TABELA 18.

TABELA 18 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Lactuca sativa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA µg/mL	MÉDIA DE HIPOCÓTILO (mm)	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	11,75	a2
	250	11,25	a1
	500	10,50	a1
	750	10,35	a1
	1000	9,55	a1
FFH	100	10,65	a1
	250	16,40	a2
	500	15,85	a2
	750	12,40	a2
FFC	100	8,40	a1
	250	14,10	a2
	500	7,05	a1
	750	8,10	a1
	1000	8,55	a1
FFA	100	12,45	a2
	250	13,20	a2
	500	12,50	a2
	750	12,75	a2
	1000	2,05	a1
FFR	100	14,40	a2
	250	10,00	a1
	500	16,50	a2
	750	20,00	a2
	1000	22,50	a2
Controle	Água	5,75	a1
	Metanol	5,00	a1

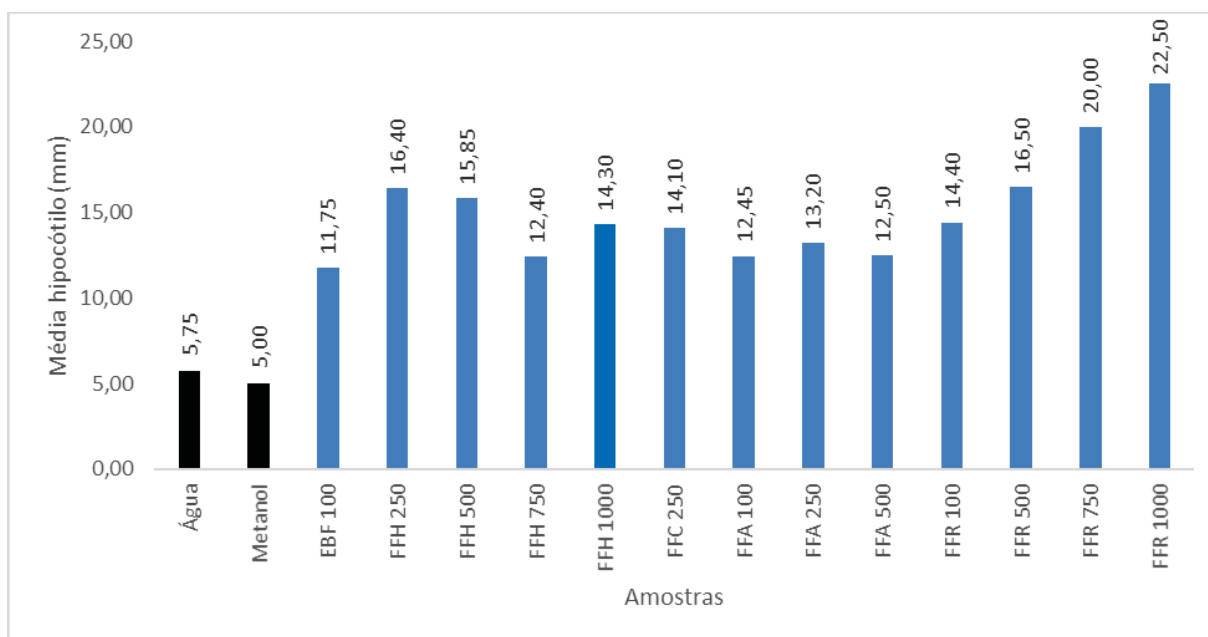
FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

Como pode-se observar, a fração remanescente nas concentrações 750 e 1000 µg/mL, influenciaram positivamente no crescimento do hipocótilo de *Lactuca sativa*, quando comparadas aos controles água e metanol, obtendo os maiores resultados. Amostras que também estimularam o crescimento do hipocótilo foram o extrato bruto 100 µg/ml, frações hexano (250, 500, 750 e 1000 µg/mL), clorofórmio (250 µg/mL), acetato de etila (100, 250, 500 e 750 µg/mL) e remanescente (100 e 500 µg/mL). Uma melhor visualização da atividade do extrato bruto e frações comparados aos controles podem ser visualizados no GRÁFICO 8.

GRÁFICO 8 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Lactuca sativa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: extrato bruto da folha 100 µg/mL (EBF 100), fração folha hexano 250, 500, 750, 1000 µg/mL (FFH 250, FFH 500, FFH 750, FFH 1000), fração folha clorofórmio 250 µg/mL (FFC 250), fração folha acetato de etila 100, 250, 500 µg/mL (FFA 100, FFA 250, FFA 500), fração folha remanescente 500, 750 e 1000 µg/mL (FFR 500, FFR 750, FFR 1000).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

Já, os resultados da influência do extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* no crescimento do hipocótilo de *Allium cepa* podem ser observados na TABELA 19.

TABELA 19 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE INIBIRAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

(continua)

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA µg/mL	MÉDIA DE HIPOCÓTILO mm	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	22,40	a1
	250	28,50	a1
	500	25,05	a1
	750	35,75	a2
	1000	27,60	a1
FFH	100	15,45	a1
	250	21,00	a1
	500	30,40	a1
	750	26,45	a1
	1000	24,90	a1
FFC	100	28,30	a1

TABELA 19 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* QUE INIBIRAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

(continuação)

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA $\mu\text{g/mL}$	MÉDIA DE HIPOCÓTILO mm	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
FFC	250	28,05	a1
	500	20,90	a1
	750	31,55	a1
	1000	8,55	a1
FFA	100	30,25	a1
	250	28,90	a1
	500	22,20	a1
	750	20,90	a1
	1000	26,30	a1
FFR	100	29,85	a1
	250	46,90	a2
	500	37,95	a2
	750	25,55	a1
	1000	21,75	a1
Controle	Água	40,74	a2
	Metanol	38,62	a2

FONTE: A Autora (2019).

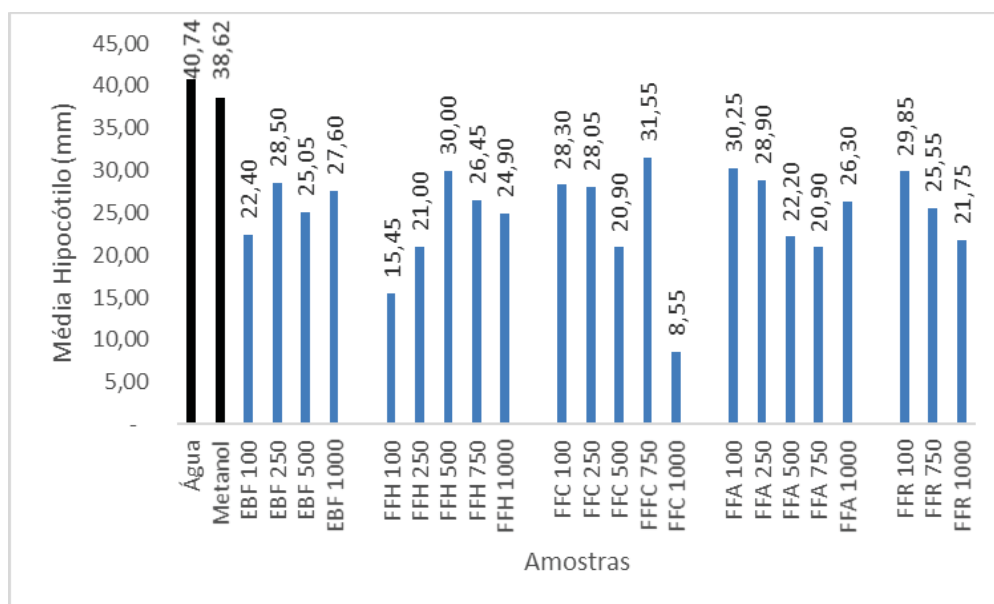
NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott.

De acordo com os dados TABELA 19, a fração clorofórmio 1000 $\mu\text{g/mL}$, influenciou negativamente no crescimento do hipocótilo de *Allium cepa*, obtendo o maior distanciamento estatístico dentre todas as amostras testadas quando comparada aos controles água e metanol, seguida das frações hexano 100 $\mu\text{g/mL}$, clorofórmio 500 $\mu\text{g/mL}$ e acetato de etila 750 $\mu\text{g/mL}$.

Todas as frações inibiram o crescimento do hipocótilo, com exceção do extrato bruto (750 $\mu\text{g/mL}$) e fração remanescente (250 e 500 $\mu\text{g/mL}$). Uma melhor visualização destes extratos brutos e frações comparados aos controles podem ser visualizados no GRÁFICO 9

GRÁFICO 9 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE INIBIRAM O CRESCIMENTO DO HIPOCÓTILO DE *Allium cepa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: extrato bruto folha 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (EBF 100, EBF 250, EBF 500, EBF 1000), fração folha hexano 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (FFH 100, FFH 250, FFH 500, FFH 750, FFH 1000), fração folha clorofórmio 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (FFC 100, FFC 250, FFC 500, FFC 750, FFC 1000), fração folha acetato de etila 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (FFA 100, FFA 250, FFA 500, FFA 750, FFA 1000), fração folha remanescente 100, 750, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (FFR 100, FFR 750, FFR 1000).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott

4.11.1.3 Crescimento da Radícula

Os resultados da influência das concentrações testadas do extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha* no crescimento da radícula de *Lactuca sativa* podem ser observados a seguir, na TABELA 20.

A inibição do desenvolvimento da raiz devido a atividade alelopática é inicialmente atribuída por alteração na expressão dos genes (FRANCO et al., 2015).

TABELA 20 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Lactuca sativa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA $\mu\text{g/mL}$	MÉDIA DE RADÍCULA (mm)	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	7,40	a2
	250	5,85	a1
	500	6,35	a1
	750	6,20	a1
	1000	6,30	a1
FFH	100	5,65	a1
	250	12,00	a2
	500	9,95	a2
	750	6,25	a1
	1000	9,20	a2
FFC	100	5,05	a1
	250	8,45	a2
	500	4,20	a1
	750	4,80	a1
	1000	5,10	a1
FFA	100	6,40	a1
	250	6,65	a1
	500	6,95	a1
	750	8,10	a2
	1000	2,40	a1
FFR	100	8,60	a2
	250	7,73	a2
	500	8,16	a2
	750	8,70	a2
	1000	7,66	a2
Controle	Água	7,00	a1
	Metanol	6,44	a1

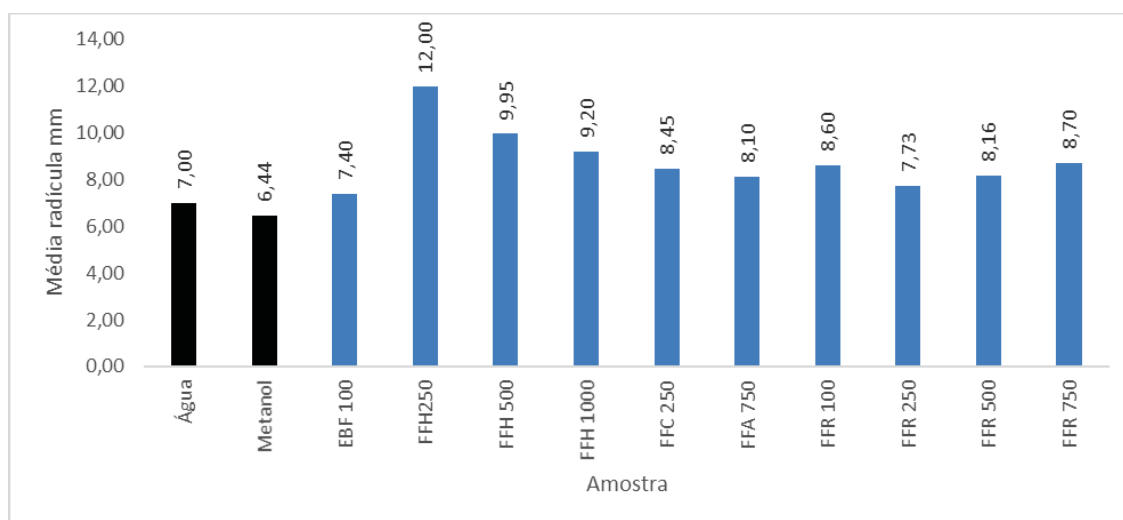
FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott.

Segundo os dados estatísticos apresentados na TABELA 20, a fração hexano (grupo a2) nas concentrações 250, 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram o maior estímulo do crescimento da radícula de *Lactuca sativa*, quando comparadas aos controles água e metanol (grupo a1). Além desta, outras amostras que também influenciaram positivamente o crescimento, foram: extrato bruto 100 $\mu\text{g/mL}$, fração acetato de etila 750 $\mu\text{g/mL}$, fração remanescente 100, 250, 500, 750 e 1000 $\mu\text{g/mL}$. Uma melhor visualização dos resultados pode ser observada no GRÁFICO 10.

GRÁFICO 10 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE INFLUENCIARAM POSITIVAMENTE NO CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Lactuca sativa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha 100 µg/mL (EBF 100), fração folha hexano 250, 500, 1000 µg/mL (FFH 250, FFH 500, FFH 1000), fração folha clorofórmio 250 µg/mL (FFC 250), fração folha acetato de etila 750 µg/mL (FFA 750), fração folha remanescente 100, 250, 500, 750 µg/mL (FFR 100, FFR 250, FFR 500, FFR 750).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott.

Os resultados da influência dos extratos brutos e frações de *Parodiolyra micrantha* no crescimento da radícula de *Allium cepa* podem ser observados na TABELA 21, a seguir.

TABELA 21 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

(continua)

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA µg/mL	MÉDIA DE RADÍCULA mm	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
EBF	100	16,05	a2
	250	10,05	a1
	500	9,05	a1
	750	11,90	a1
	1000	10,80	a1
FFH	100	28,70	a2
	250	18,15	a2
	500	9,95	a2
	750	5,00	a1
	1000	5,00	a1
FFC	100	8,90	a1
	250	6,80	a1
	500	7,55	a1
	750	9,15	a1
	1000	8,10	a1
FFA	100	8,55	a1
	250	9,65	a1

TABELA 21 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Allium cepa* EM ENSAIO ALELOPÁTICO

(continuação)

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DA AMOSTRA $\mu\text{g/mL}$	MÉDIA DE RADÍCULA mm	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE SCOTT KNOTT
FFA	500	7,55	a1
	750	9,80	a1
	1000	7,90	a1
FFR	100	12,35	a1
	250	16,03	a2
	500	15,10	a2
	750	12,00	a1
	1000	8,10	a1
Controle	Água	11,20	a1
	Metanol	12,86	a1

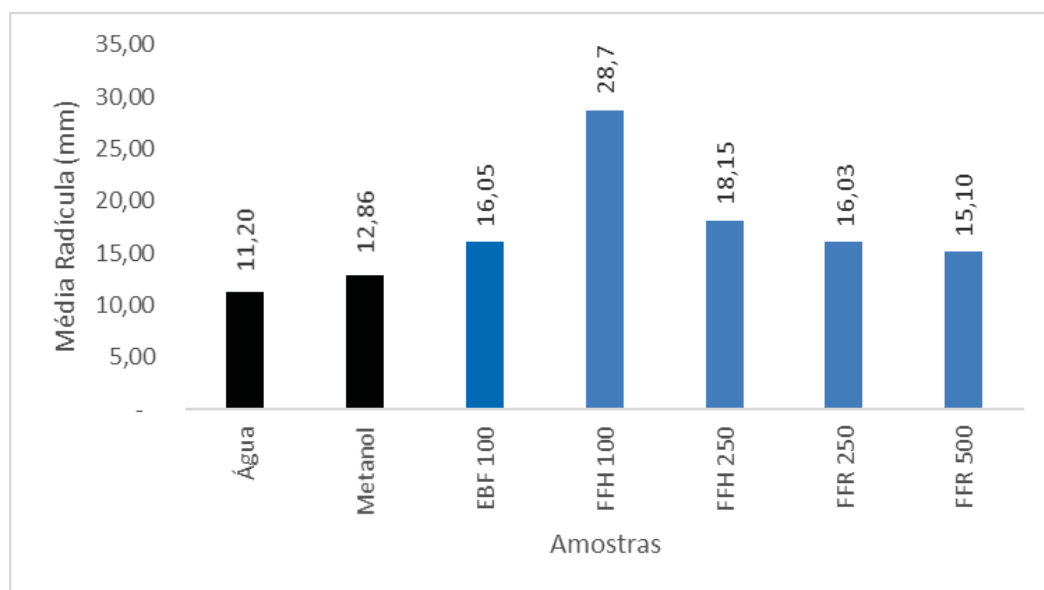
FONTE: O autor (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Scott Knott.

Segundo os dados estatísticos apresentados na TABELA 21, a fração hexano (grupo a2) na concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$ apresentou o maior estímulo do crescimento da radícula de *Allium cepa*, quando comparadas aos controles água e metanol (grupo a1). Além desta, outras amostras que também influenciaram positivamente o crescimento, foram: extrato bruto 100 $\mu\text{g/mL}$, fração hexano 500 $\mu\text{g/mL}$ e fração remanescente 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$. Uma melhor visualização dos resultados pode ser observada no GRÁFICO 11.

GRÁFICO 11 - EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* QUE ESTIMULARAM O CRESCIMENTO DA RADÍCULA DE *Allium cepa*



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Extrato bruto folha 100 µg/mL (EBF), fração folha hexano 100 e 250 µg/mL (FFH 100, FFH 250), fração folha remanescente 250 e 500 µg/mL (FFR 250, FFR 500).

4.11.1.4 Discussão dos resultados de atividade Alelopática

Os principais resultados de atividade Alelopática de *Parodiolyra micrantha* foram para extrato bruto e fração hexano, os quais inibiram a germinação e IVG de *Allium cepa*, enquanto para *Lactuca sativa* não houve influência na germinação e um resultado positivo foi observado para IVG. Estes resultados estão de acordo com CHON et al. (2005) que descreve alelopátia como interações químicas entre plantas tanto estimulatórias quanto inibitórias.

Na avaliação do crescimento do hipocótilo, verificou-se estímulo positivo na fração remanescente tanto para *Lactuca sativa* quanto para *Allium cepa*. Enquanto na avaliação do crescimento da radícula o resultado obtido também foi positivo, com estímulo do crescimento para a fração hexano no caso da *Lactuca sativa*, e, frações hexano, remanescente e extrato bruto, para *Allium cepa*.

A família Poaceae é conhecida por sua evidente atividade alelopática, relacionada com seus metabólitos secundários: compostos fenólicos, ácidos hidroxâmicos e flavonoides (SANCHES-MOREIRA; REIGOSA, 2005). Muitos estudos relatam a potente ação alelopática de espécies de Poaceae em relação aos cereais,

por sua importância na agricultura e alimentação humana. Os extratos das folhas do trigo (*Triticum aestivum*) inibiram a germinação de suas próprias cariopses, além do desenvolvimento de suas plântulas. No Brasil, foi encontrado que a resteva de trigo (*Triticum aestivum*), aveia preta (*Avena strigosa*) ou centeio (*Secale cereale*) não influenciou sobre a germinação de culturas de verão como milho, feijão e soja, mas afetou o crescimento destas plantas (RODRIGUES et al., 1999).

Segundo Schultz e Wieland (1999), a suscetibilidade e potencial apresentados por espécies vegetais em liberar aleloquímicos é resultado de processos co-evolutivos. Esses processos podem aumentar a capacidade de espécies individuais de se tolerarem no mesmo ambiente, e essa tolerância pode desempenhar um papel importante em estabelecer as diversas comunidades vegetais (THORPE et al., 2009). Embora muitos estudos sugiram que a alelopatia é um componente importante da invasão por espécies exóticas (CALLAWAY; RIDENOUR, 2004; INDERJIT et al., 2008; LORENZO et al., 2012), outros, demonstram que as plantas nativas também usam a alelopatia para inibir a germinação de uma espécie concorrente em dominar o ambiente (GROMBONE-GUARATINI et al., 2009).

Jose et al. (2016), avaliou a atividade alelopática do bambu lenhoso *Merostachys riedeliana* e identificou a presença de dois compostos fenólicos no solo onde essa espécie é abundante, indicando que a planta lixivia compostos fenólicos em seu ambiente imediato. Uma atividade alelopática moderada a forte, pode ser o mecanismo que explique a abundância ou a exclusão de espécies nativas de bambus, como *Phyllostachys edulis* (lenhoso) na Tailândia (LARPKERN et al., 2009) e *Aulonemia aristulata* (herbáceo), no Brasil (GROMBONE-GUARATINI et al., 2009; JOSE et al., 2016).

Apesar do bambu ser um componente da biodiversidade do bioma mata atlântica (LARPKERN et al., 2009), a superabundância pode exercer um impacto negativo na regeneração florestal (GRISCOM; ASHTON, 2006; ROTHER et al., 2013) devido a inibição da germinação das sementes e do crescimento de plântulas de espécies nativas, provavelmente gerado pelo mecanismo da alelopatia.

Efeitos estimulantes alelopáticos observados nesse estudo com a *Parodiolyra micrantha* são pouco relatados. Acredita-se que possa ocorrer por interferência sobre os fitohormônios da planta, além disso, não há estudos de atividade alelopática que

identifiquem os aleloquímicos dos bambus tropicais herbáceos ou que determinem seus efeitos.

4.11.2 Toxicidade Preliminar *in vitro*

A toxicidade de extratos vegetais pode ser avaliada pelo teste de letalidade *in vitro*, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* Leach (MEYER et al., 1982). As amostras testadas foram o extrato bruto e frações de *Parodiolyra micrantha*.

Ensaio preliminares com *Artemia salina* são aplicados para detecção da toxicidade de compostos bioativos, sendo um modelo preliminar para avaliação das atividades farmacológica, antitumoral, antibacteriana e estudos de ecotoxicidade (AMARANTE et al., 2011). É um estudo de baixo custo e fácil execução.

Os resultados foram avaliados a partir da determinação das concentrações letais CL50 e CL90 e intervalos de confiança de 95% a partir de estudos estatísticos pelo método Probitos. Na TABELA 23, os resultados são demonstrados de acordo com a classificação de Amarante (2011).

TABELA 22 - TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* EM *Artemia salina*

AMOSTRA	CL ₅₀ µg/mL	IC 95% µg/mL	CL ₉₀ µg/mL	IC 95% (µg/mL)
Sulfato de quinidina	120,38	71,80 – 165,44	422,27	317,25 – 633,00
EBF	10,60	6,03 – 191,10	58,46	17,09 – 3500,24
FFH	218,66	133,91 – 298,24	1207,22	802,44 – 2649,70
FFC	1,601	0,958 – 2,105	7,804	5,06 – 23,19
FFA	1,66	1,33 – 1,957	3,81	3,15 – 5,12
FFR	3,79	2,80 – 6,92	24,55	10,76 - 420,44

FONTE: A Autora (2019).

NOTA: Concentração letal (CL), Intervalo de confiança (IC), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

Segundo Meyer et al. (1982), as amostras são consideradas tóxicas quando o valor de CL50 for inferior a 1000 µg/mL. Assim, considerando as amostras testadas, todas apresentaram bioatividade frente a *Artemia salina*.

Já Amarante et al. (2011), descreve uma classificação melhor delimitada: considera-se baixa toxicidade quando a concentração letal 50% (CL₅₀) for superior a 500 µg/mL; moderada para CL₅₀ entre 100 a 500 µg/mL e muito tóxico quando a CL₅₀ for inferior 100 µg/mL. Segundo esta classificação, todas as amostras testadas também apresentaram atividade tóxica frente a *Artemia salina*.

O extrato bruto e a fração hexano apresentaram intervalos de confiança com grandes variações, ultrapassando 1000 µg/mL, o que pode ser indicativo de atividade negativa.

As frações clorofórmio, acetato de etila e remanescente apresentaram CL₅₀ muito abaixo da CL₅₀ do controle sulfato de quinidina. Esta toxicidade presente na espécie pode estar relacionada às propriedades biológicas dos compostos majoritários do óleo essencial, como as atividades antibacteriana e anitumoral tanto do fitol (KIM et al., 2015; LEE et al., 2016) quanto de ácido hexadecanóico (APARNA, 2012; TAO et al., 2019), além do sinergismo que pode ocorrer entre os constituintes químicos da *Parodiolyra micrantha*.

4.11.3 Atividade Hemolítica *in vitro*

O ensaio de hemólise *in vitro*, realizado para o extrato bruto e frações, é um teste de triagem de toxicidade, pois podemos avaliar a ação da amostra sobre o rompimento de eritrócitos. A porcentagem de hemólise foi calculada frente ao Triton 1% (TABELA 23) e Água potável (TABELA 24), considerados como 100%.

As amostras que não apresentaram atividade hemolítica não constam dos resultados descritos nas tabelas.

TABELA 23 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* FRENTE AO TRITON 1%

AMOSTRA ($\mu\text{g/mL}$)	% HEMÓLISE	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE TUKEY
EBF 100	0,18	a1 a2 a3
FFH 750	3,74	a1 a2 a3
EBF 500	14,78	a3 a4 a5
EBF 750	16,08	a4 a5 a6
FFA 1000	20,86	a5 a6 a7
FFR 750	16,00	a5 a6 a7 a8
FFR 1000	17,27	a6 a7 a8 a9
FFH 1000	31,89	a6 a7 a8 a9
FFC 500	31,59	a6 a7 a8 a9
EBF 1000	26,47	a6 a7 a8 a9
Saponina 500	40,36	a7 a8 a9
FFC 1000	40,07	a7 a8 a9
Saponina 250	41,17	a7 a8 a9
FFC 750	41,34	a7 a8 a9
Saponina 1000	41,35	a7 a8 a9
Saponina 750	42,00	a8 a9
Saponina 100	43,05	a9
Trítion 1%	100,00	a10

FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Desvio Padrão (DP), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey

TABELA 24 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* FRENTE À ÁGUA POTÁVEL

AMOSTRA ($\mu\text{g/mL}$)	% HEMÓLISE \pm DP	CLASSIFICAÇÃO DO TESTE DE TUKEY
EBF 100	0,14	a1 a2 a3
FFH 750	2,94	a1 a2 a3
EBF 500	13,83	a3 a4 a5
EBF 750	11,38	a4 a5 a6
FFR 750	12,20	a5 a6 a7
FFR 1000	12,98	a5 a6 a7
FFA 1000	16,17	a5 a6 a7
EBF 1000	20,12	a6 a7 a8
FFC 500	24,65	a6 a7 a8
FFH 1000	25,02	a7 a8
FFC 1000	31,31	a7 a8
FFC 750	32,31	a7 a8
Saponina 500	40,36	a7 a8
Saponina 250	41,17	a7 a8
Saponina 1000	41,35	a7 a8
Saponina 750	42,00	a7 a8
Saponina 100	43,05	a8
Água potável	100,00	a9

FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Desvio Padrão (DP), Extrato bruto folha (EBF), Fração folha hexano (FFH), Fração folha clorofórmio (FFC), Fração folha acetato de etila (FFA), Fração folha remanescente (FFR).

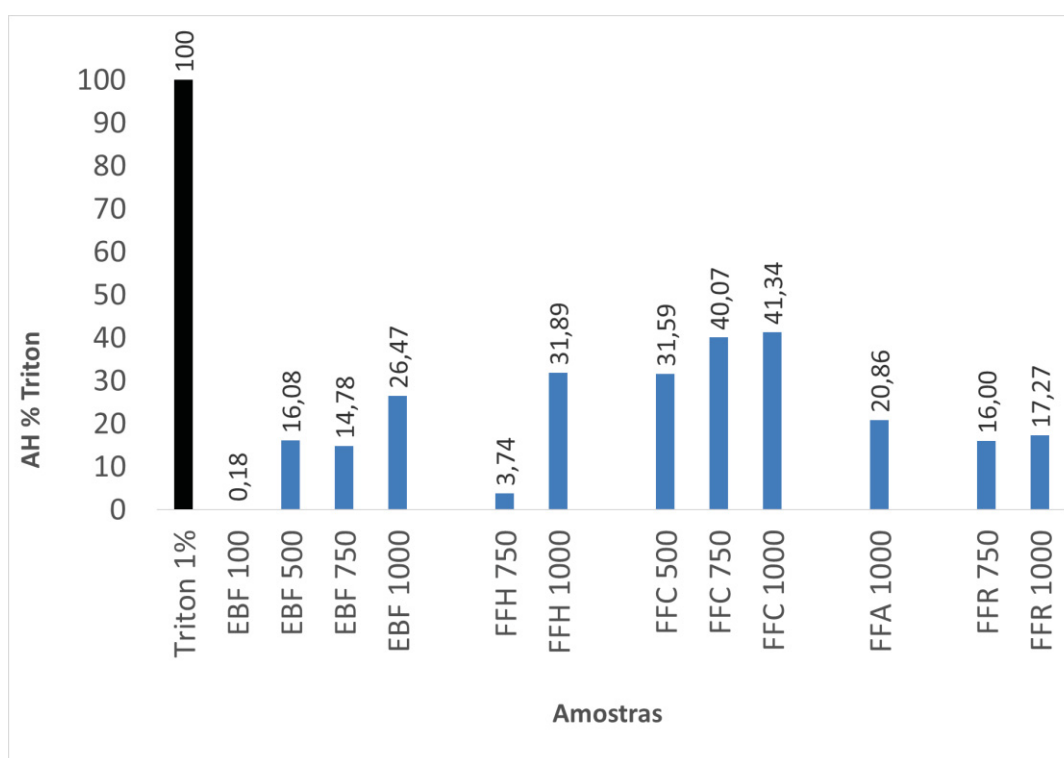
NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

De acordo com os valores obtidos, pode-se observar que as amostras com maior atividade hemolítica foram as frações clorofórmio 750 e 1000 $\mu\text{g/mL}$.

A hemólise também foi testada com a Saponina, utilizada como padrão fitoquímico. É uma substância ativa, capaz de causar hemólise dos glóbulos vermelhos com liberação de hemoglobina, mesmo quando diluídas (KARABALIEV; KOCHEV, 2003).

Uma melhor visualização destes resultados está representada nos GRÁFICO 12 (Trítion) e GRÁFICO 13 (água potável).

GRÁFICO 12 - CAPACIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Parodiolyra micrantha* COMPARADAS AO TRITON 1%

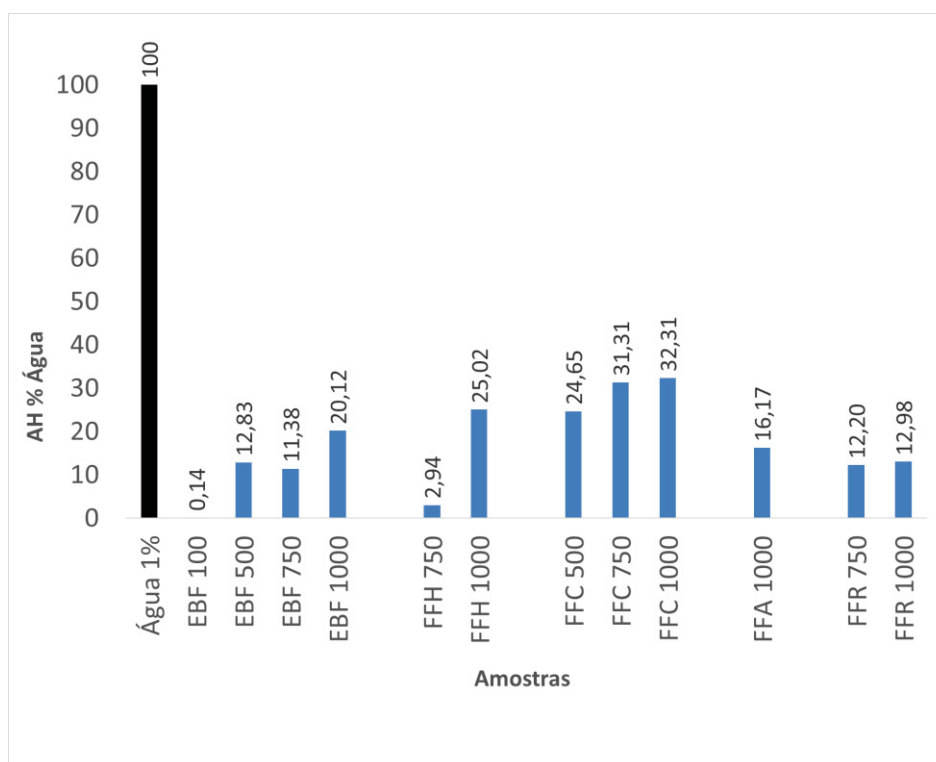


FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: Atividade hemolítica (AH%), extrato bruto folha 100, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ (EBF 100, EBF 500, EBF 750, EBF 1000), fração folha hexano 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ (FFH 750, FFH 1000), fração folha clorofórmio 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ (FFC 500, FFC 750, FFC 1000), fração folha acetato de etila 1000 $\mu\text{g/mL}$ (FFA 1000), fração folha remanescente 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ (FFR 750, FFR 1000).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

GRÁFICO 13 - CAPACIDADE HEMOLÍTICA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Paradiolyra micrantha* COMPARADAS À ÁGUA POTÁVEL



FONTE: A Autora (2019).

NOTA 1: atividade hemolítica (AH%), extrato bruto folha 100, 500, 750, 1000 µg/mL (EBF 100, EBF 500, EBF 750, EBF 1000), fração folha hexano 750, 1000 µg/mL (FFH 750, FFH 1000), fração folha clorofórmio 500, 750, 1000 µg/mL (FFC 500, FFC 750, FFC 1000), fração folha acetato de etila 100 µg/mL (FFA 1000), fração folha remanescente 750, 1000 µg/mL (FFR 750, FFR 1000).

NOTA 2: Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

No ensaio de atividade hemolítica, as amostras não foram estatisticamente semelhantes ao controle, porém, quando as amostras são comparadas em relação ao controle, observa-se que a fração clorofórmio nas concentrações de 750 e 1000 µg/mL, apresentou os maiores valores de hemólise, tanto para o controle Trítion quanto para o controle água potável, em torno de 40 e 30%, respectivamente.

5 CONCLUSÃO

As análises morfoanatômicas e histoquímicas de *Parodiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga auxiliaram na descrição e caracterização da espécie. Já os *screenings* realizados por estudo fitoquímico apresentaram os principais metabólitos encontrados, compreendendo compostos fenólicos, flavonoides, esteroides e/ou triterpenos, taninos e aminogrupos.

O óleo essencial, obtido a partir das folhas da espécie, foi extraído por hidrodestilação por arraste de vapor d'água e apresentou características de oleorresina, além de um rendimento de 0,1%. A identificação dos constituintes químicos mostrou a presença de álcool diterpenoide, ácido carboxílico, cetonas e alcanos, sendo fitol e ácido hexadecanóico os compostos majoritários. O extrato bruto e frações de folhas foram obtidos por Soxhlet e utilizados em testes capazes de avaliar as atividades biológicas e potencial antioxidante. A partir da fração folha acetato de etila, foram isolados e identificados cristais de arbutin.

Os doseamentos de fenólicos e flavonoides totais obtiveram o melhor resultado na fração acetato de etila.

Os ensaios de atividade antioxidante mostraram resultados significativos para todas as amostras nos dois métodos testados, Formação do complexo fosfomolibdênio e Redução do radical DPPH.

Os resultados de atividade alelopática para as espécies de eudicotiledonêa (*Lactuca sativa*) não foram relevantes, e para a monocotiledônea (*Allium cepa*) houve uma influência negativa na germinação, com destaque para o extrato bruto e a fração hexano. O crescimento de hipocótilo e radícula, tanto da alface quanto da cebola, foram influenciados positivamente. As amostras com os resultados mais relevantes para o estímulo ao crescimento foram: fração hexano e remanescente para *Lactuca sativa*, e extrato bruto, fração hexano e remanescente para *Allium cepa*.

Nos estudos de toxicidade, o extrato bruto e todas as frações apresentaram-se tóxicos frente a *Artemia salina*, sendo sua bioatividade considerada como tóxica, de acordo com a classificação de Meyer et al. (1982) e muito tóxica conforme Amarante et al (2011). As frações com maior bioatividade foram clorofórmio, acetato de etila e remanescente.

Já no teste de hemólise, ocorreu atividade hemolítica, sendo os maiores valores obtidos nas fração clorofórmio (750 e 1000 $\mu\text{g/mL}$) com resultados na faixa de 40 e 30, frente ao Triton e à água, respectivamente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos para a espécie pesquisada, *Parodiolyra micrantha* (Poaceae: Bambusoideae), são inéditos na avaliação de atividades biológicas, isolamento e identificação de substâncias químicas. Seu estudo contribui para a caracterização de uma planta da biodiversidade brasileira, além de incentivar a busca por novas aplicações biológicas nos campos da Farmacologia, Agronomia, Veterinária e Nutrição.

Considerando o isolamento do arbutin e a presença do fitol no óleo essencial, a toxicidade do extrato bruto e frações, bem como o potencial antioxidante, pesquisas devem ser aprofundadas e direcionadas para a completa elucidação e aplicabilidade desta espécie.

REFERÊNCIAS

- AACHOUI, Y.; CHOWDHURY, R.R.; FITCH, R.W.; GHOSH, S.K. Molecular signatures of phytol-derived immunostimulants in the context of chemokine–cytokine microenvironment and enhanced immune response. **Cellular Immunology**, v.271, p. 227–238, 2011.
- ABASCAL, K.; YARNELL, E. Botanical medicine for cystitis. **Alternative Complementary Therapy**, v.14, p. 69–77, 2008.
- ABE, M.; IZAKI, J.; MIGUCHI, H.; MASAKI, T.; MAKITA, A.; NAKASHIZUKA, T. The effect of Sasa and canopy gap formation on tree regeneration in an old beech forest. **Journal of Vegetation Science**, v.13, n.4, p.565-574, 2002.
- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry**. 4. ed. Carol Stream IL: Allured Publishing, 2007.
- ADEGAS, F. S.; VOLL, E.; PRETE, C. E. C. Embebição e germinação de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa*). **Planta daninha**, v. 21, n. 1, p. 21-25, 2003.
- AGORAMOORTHY, G.; CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V.; HSU, M.J. Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p. 739-742; 2007.
- AINSWORTH, E.A.; GILLESPIE, K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plants tissues using Folin-Ciocalteau reagent. **Nature Protocols**, v.2, n.4, 2007.
- AKAO, Y.; SEKI, N.; NAKAGAWA, Y.; YI, H.; MATSUMOTO, K.; ITO, Y.; ITO, K.; FUNAOKA, M.; NAOI, M.; NOZAWA, Y. A highly bioactive lignophenol derivative from bamboo lignina exhibit a potent activity to suppress apoptosis induced by oxidative stress in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.12, p.4791-801, 2004.
- AKINLABI, E. T.; ANANE-FENIN, K.; AKWADA, D. R. **Bamboo the multipurpose plant**. Springer International Publishing, 2017.
- ALEKSICS-SABO, V.; KNEZEVIC, P. Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review. **Industrial Crops and Products** v. 132, p. 413-429, 2019.
- ALQUINI, Y.; BONA, C.; BOEGER, M.R.T.; BARROS, C.F. Epiderme. In APEZATTO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. (Eds). **Anatomia vegetal**. Viçosa: Ed. UFV. p. 87-108, 2006.
- ALMEIDA, F.M et al. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, v. 61, n.1, p. 4237- 4247, 2008.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

AMARANTE, C. B.; MULLER, A. H.; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n.3, p.431-434, 2011

APARNA, V.; KALARICKAL, V.; DILEEP, K.V.; MANDAL, P.K.; KARTHE P.; SADASIVAN, C.; HARIDAS, M. Anti-inflammatory property of n-hexadecanoic acid: Structural evidence and kinetic assessment. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 80, p. 434-439, 2012.

APG IV (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 1-20, 2016.

ARAÚJO, F. S. et al. Florística da vegetação arbustivo-arbórea colonizadora de uma área degradada por mineração de caulim, em Brás Pires, MG. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.983-992, 2005

BANERJEE, A.; KUNWAR, A.; MISHRA, B.; PRIYADARSINI, K. I. Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin: Studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. **Chemico-biological interactions**, v. 174, n. 2, p. 134-139, 2008.

BANG, S.H.; HAN, S.J.; KIM, D.H. Hydrolysis of arbutin to hydroquinone by human skin bacteria and its effect on antioxidant activity. **Journal of Cosmetic Dermatology** v.7, p. 189-193, 2008.

BANSAL, A.K.; ZOOLAGUD, S.S. Bamboo composites: material of the future. **Journal Bamboo Rattan**, v.1, p. 119-130, 2002.

BARTHOLOMEW, O. I.; MAXWELL, E.; BITRUS, H. J. Phytochemical Constituents and *in vitro* antioxidant capacity of methanolic leaf extract of *Oxytenanthera abyssinica* (A. Rich Murno). **European Journal of Medicinal Plants**, v.3, n.2, p. 206-217, 2013.

BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, v.1, 1976.

BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, p. 1085-1113, 2015.

BELLOLI, M.; PIMENTEL, J. **Criciúma amor e trabalho**. Ed. Uirapuru, 1974.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University, 1976.

BIAZOTTO, K. R.; MESQUITA, L.M.S.; NEVES, B.V.; BRAGA, A.R.C.; TANGERINA, M.M.P.; VILEGAS, W.; MERCADANTE, A.Z.; DE ROSSO, V.V. Brazilian Biodiversity Fruits: Discovering Bioactive Compounds from Underexplored Sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1860-1876, 2019.

BIESKI, I.G.C; LEONTI, M.; ARNASON, J.T.; FERRIER, J.; RAPINSKI, M.; VIOLANTE, I.M.P.; BALOGUN, S.O.; PEREIRA, J.F.C.A.; FIGUEIREDO, R.C.F.; LOPES, C.R.S.; SILVA, D.R.; PACINI, A.; ALBUQUERQUE, U.P.; MARTINS, D.T.O. Ethnobotanical study of medicinal plants by population of Valley of Juruena Region, Legal Amazon, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.173, p. 383-423, 2015.

BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature** v. 181, p. 1199–1200, 1958.

BOLSON, M.; HEFLER, S.R.; CHAVES, E.I.D.; GASPAROTTOJUNIOR, A.; CARDOZO JUNIOR, E.L. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 1-10, 2015.

BONOMO, M.; ANGRIZANI, R.C.; APOLINAIRE, E.; NOELLI, F.S. A model for the Guaraní expansion in the La Plata Basin and littoral zone of southern Brazil. **Quaternary International**, v. 356, p. 54-73, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Mapas de Cobertura Vegetal dos Biomas Brasileiros**. Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Economia do Bambu no Brasil: Tecnologia e Inovação na Cadeia Produtiva – Perspectivas e Desafios**. Documento contendo o relatório técnico e analítico do seminário e da oficina de trabalho. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2018.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Agência Nacional de Vigilância, 2019.

BREMER, K. Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). **Evolution**, v. 56, n. 7, p.1374-1387, 2002.

BUDKE, J.C.; ALBERTI, M.S.; ZANARDI, C.; BARATTO, C.; ZANIN, E.M. Bamboo dieback and tree regeneration responses in a subtropical forest of South America. **Forest Ecology and Management**, v.260, n.8, p.1345-1349, 2010.

BYSTRIAKOVA, N.; KAPOS, V.; LYSENKO, I.; STAPLETON, C.M.A. Distribution and conservation status of forest bamboo biodiversity in the Asia-Pacific region. **Biodiversity and Conservation**, v. 12, p. 1833–1841, 2003.

CADOGAN, Leon. Breve Contribucion al estudio de la nomenclatura Guarani en botanica. **Servicio Técnico Interamericano de Cooperación Agrícola**, v. 196, p.1-48, 1955.

CALLAWAY, R.M.; RIDENOUR, W.M. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v.2, p. 436-443, 2004.

CAMPOS, J. B.; ROSA, R. C.; RICKEN, C.; SANTOS, M. C. P.; ZOCHE, J. J. Arqueologia entre Rios: do Urussanga ao Mampituba. Registros Arqueológicos Pré-Históricos no Extremo Sul Catarinense. **Cadernos do LEPAARQ**, 2013.

CANAVAN, S.; RICHARDSON, D.M.; VISSER, V.; LE ROUX, J.J.; VORONTSOVA, M.S.; WILSON, J.R.U. The global distribution of bamboos: assessing correlates of introduction and invasion. **AoB Plants**, vol 9, 2017.

CAO, H.; YUE, Y.; PENG, Z.; HUA, R.; TANG, F. Evaluation of extracts from bamboo for biological activity against *Culex pipiens pallens*. **Entomologia Sinica**, v.11, n.4, p.267-273, 2004.

CAPUTO, L. F. F.; GITINARA, L. B.; MANSO, P. P. A. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, v. 2. p. 123-130, 2011.

CAREY, M.P.; SANDERSON, B.L.; BARNAS, K.A.; OLDEN, J.D. Native invaders – challenges for science, management, policy, and society. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v.10, n.7, p.373-381, 2012.

CARVALHO, J. L. S.; CUNICO, M. M.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., Brassicaceae por sistema de Soxhlet modificado. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1031-1035, 2009.

CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; PASTORINI, E.; SAMPERI, R.; LAGANÀ, A. Identification and mass spectrometric characterization of glycosylated flavonoids in *Triticum durum* plants by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 19, p. 3143-3158, 2005.

CHIBANTE, C. L. P. **Saberes e práticas de clientes no cuidado com feridas: implicações para a Enfermagem**. 2014. 120f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências do Cuidado em Saúde) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2014.

CHO, J.Y.; PARK, K.Y.; LEE, K.H.; LEE, H.J.; LEE, S.H.; CHO, J.A.; KIM, W.S.; SHIN, S.C.; PARK, H.; MOON, J.H. Recovery of arbutin in high purity from fruit peels of pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). **Food Science Biotechnology**, v. 20, p. 801-807, 2011.

CHON, S. U.; JANG, H. G.; KIM, D. K.; KIM, Y. M.; BOO, H. O.; KIM, Y. J. Allelopathic

potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. **Scientia Horticulturae**, v. 106, n. 3, p. 309-317, 2005.

CHONGTHAM, N.; BISHT, M. S.; HAORONGBAM, S. Nutritional properties of bamboo shoots: potential and prospects for utilization as a health food. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v.10, n. 3, p.153-168, 2011.

CHOU, C.H. Role of allelopathy in sustainable agriculture: use of allelochemicals as naturally occurring bio-agrochemicals. **Allelopathy Journal**, v.25, n.1, p.3-16, 2010.

CLARK, L.G.; LONDOÑO, X.; RUIZ-SANCHEZ, E. Bamboo taxonomy and habitat. In: Liese, W., Köhl, M. (Eds.), **Bamboo, Tropical Forestry**. Springer International Publishing, Switzerland, p. 1-30, 2015.

CLAYTON, W. D.; RENVOIZE, S. A. **Genera Graminum. Grasses of the World**. Her Majesty's Stationery Office, London, 1986.

COFFIE, G. Y.; ANTWI-BOASIAKO, C.; DARKWA, N. A. Phytochemical constituents of the leaves of three bamboo (Poaceae) species in Ghana. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 6, p. 34-38, 2014.

COSTA, J.P.; FERREIRA, P.B.; SOUSA, D.P.; JORDAN, J.; FREITAS, R.M. Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice. **Neuroscience Letters**, v. 523, p. 115-118, 2012.

COSTA, J.P.; OLIVEIRA, G.A.L.; ALMEIDA, A.A.C.; SOUSA, D.P.; ISLAM, M.T.; FREITAS, R.M. Anxiolytic-like effects of phytol: possible involvement of GABAergic transmission. **Brain Research**, v. 1547, p. 34-42, 2014.

COSTA, S.; ZOCHE, J. J. Fertilidade de solos construídos em áreas de mineração de carvão na região sul de Santa Catarina. **Revista Árvore**, v. 33, n. 4, p. 665-674, 2009.

DABA, M. Industrial, Carbon Sequestration and Climate Change Mitigation Potentials of Bamboo. **Journal of Scientific Research & Reports**, v. 12, n. 3, p. 1-8, 2016.

DARMA, R.; PURNAMASARI, M.; AGUSTINA, D.; PRAMUDITO, E. T.; SUGIHARTI, M.; SUWANTO, A. A strong antifungal-producing Bacteria from Bamboo Powder for Biocontrol of *Sclerotium rolfsii* in Melon (*Cucumis melo* var. amanta). **Journal of Plant Pathology and Microbiology**, v.7, n. 2, p. 334, 2016.

DAS, M.; BHATTACHARYA, S.; SINGH, P.; FILGUEIRAS, T.S.; PAL, A. Bamboo Taxonomy and Diversity in the Era of Molecular Markers. **Advances in Botanical Research**, Vol. 47, p. 226-260, 2008.

DE LUCA, F. J.; GASTALDON, M. C. Desenvolvimento sustentável e a recuperação das áreas degradadas abandonadas pela mineração de carvão na região Sul do Estado de Santa Catarina. **Revista Tecnologia e Ambiente**, v.5, n.2, p.19-33, 1999.

DEAN, W. **A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira.** São Paulo: Companhia das letras, 2002.

DEANS, B. J.; KILAH, N.L.; JORDAN, G.J.; BISSEMBER, A.C.; SMITH, J.A. Arbutin Derivatives Isolated from Ancient Proteaceae: Potential Phytochemical Markers Present in *Bellendena*, *Cenarrhenes*, and *Persoonia* Genera. **Journal Natural Products**, v. 81, p. 1241-1251, 2018.

DIAS, J. DE F. G.; CÍRIO, G. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Contribution to the allelopathic study of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 220-223, 2005.

DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. (orgs). **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia.** Rio de Janeiro/RJ: ICH, 1. ed., 2017.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento.** São Paulo: Blucher, 2013.

FEO, V.; SIMONE, F.; SENATORE, F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v. 61, n. 5, p. 573-578, 2002.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, n.12, p. 175-204, 2000.

FERRERES, F.; ANDRADE, P.B.; VALENTÃO, P.; GIL-IZQUIERDO, A. Further knowledge on barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves O-glycosyl-C-glycosyl flavones by liquid chromatography-UV diode-array detection-electrospray ionisation mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1182, p. 56-64, 2008.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JÚNIOR, J. A. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, p.115-146, 2009.

FILGUEIRAS, T.S; PEIXOTO, A.L. Flora e Vegetação do Brasil na Carta de Caminha. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, p. 263-272, 2002.

FILGUEIRAS, T. S.; GONÇALVES, A. P. S. A Checklist of the basal grasses and bamboos in Brazil (Poaceae). **The Journal of the American Bamboo Society**, v.18, p. 7-18, 2004.

FILGUEIRAS, T. S.; SANTOS-GONÇALVES, A. P. Tupi-Guarani: fonte de informações sobre bambus nativos do Brasil. **Revista Heringeriana**, v. 1, n. 1, p. 35-41, 2007.

FILGUEIRAS, T. S.; RODRIGUES, R. S.; SHIRASUNA, T. S. **Braquiárias invasoras no Estado de São Paulo.** Instituto de Botânica, São Paulo, 2012.

FILGUEIRAS, T. S.; VIANA, P. L. **Bambus brasileiros: morfologia, taxonomia, distribuição e conservação**. In: *Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia*, 1. ed. - Rio de Janeiro, 2017.

FINNEY, D. J. *Probit Analysis*. Cambridge: Cambridge University Press, 1956.

FRANCO, D. M.; SALDANHA, L. L.; SILVA, E. M.; et al. Effects of leaf extracts of *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC.: on growth and gene expression during root development of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Allelopathy Journal**, v. 35, n. 2, p. 237–248, 2015.

FU, S. G.; YOUNGMO, Y.; BAZEMORE, R. Aroma-active components in fermented bamboo shoots. **Journal of agricultural and food chemistry**, n. 3, p. 549-554, 2002.

FUJIMURA, M.; IDEGUCHI, M.; MINAMI, Y.; WATANABE, K.; TADERA, K. Amino acid sequence and antimicrobial activity of chitin binding peptides, Pp-AMP 1 and Pp-AMP2, from Japanese bamboo shoots (*Phyllostachys pubescens*). **Japan Society for Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry**, v. 69, p. 642-645, 2005.

GASPER, A. L. et al. Flora vascular de Santa Catarina. In: VIBRANS, A. C. et al (Ed.). **Diversidade e conservação dos remanescentes florestais**. Blumenau: Edifurb, p. 99-111, 2012

GHANEIAN, M.T.; EHRAMPOUSH, M. H.; JEBALI, A.; HEKMATIMOGHADDAM, S.; MAHMOUDI, M. Antimicrobial activity, toxicity and stability of phytol as a novel surface disinfectant. **Environmental Health Engineering and Management Journal**, v. 2, p. 13-16, 2015.

GEMOT, S.; ULRICH, P.; BENNO, B.; ALEXANDER, N.; JÖRG, W.; NILS, K.; INGMAR, G.; MARKUS, V. Urinary excretion and metabolism of arbutin after oral administration of *Arctostaphylos uvae ursi* extract as filmcoated tablets and aqueous solution in healthy humans. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 42, p. 920-927, 2002.

GONG, J. et al. Antioxidant Capacities of Fractions of Bamboo Shaving Extract and their Antioxidant Components. **Molecules**, v. 21, p. 996, 2016.

GPWG (Grass Phylogeny Working Group). Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 88, p. 373-457, 2001.

GPWG II (Grass Phylogeny Working Group II). New grass phylogeny resolves deep evolutionary relationships and discovers C4 origins. **New Phytologist**, v. 193, n. 2, p. 304-312, 2012.

GRANATO, D.; PRADO-SILVA, L.; ALVARENGA, V. O.; ZIELINSKI, A. A. F.; BATAGLION, G. A.; MORAIS, D. R.; SANT'ANA, A.D.S. Characterization of binary and ternary mixtures of green, white and black tea extracts by electrospray ionization mass

spectrometry and modeling of their in vitro antibacterial activity. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 414-420, 2016.

GRECO, T.M.; PINTO, M.M.; TOMBOLATO, A.F.C. Diversity of bamboo in Brazil. **Journal of Tropical and Subtropical Botany**, v. 23, p. 1-16, 2015.

GRECO, T. M.; ZANNIN, A. Tribo Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) na Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Rodriguésia**, v. 68, n. 2, p. 557-567, 2017.

GRISCOM, B.W.; ASHTON, P.M.S. Self-perpetuating bamboo disturbance cycle in a neotropical forest. **Journal of Tropical Ecology**, v. 22, p. 587–597, 2006.

GROMBONE-GUARATINI, M.T.; JESSEN R.C.; CARDOSO-LOPES, E.M.; TORRES, L.M.B. Allelopathic potential of *Aulonemia aristulata* (Doll) MacClure, a native bamboo of Atlantic Rain Florest. **Allelopath Journal**, v. 24, p. 183-190, 2009.

GROMBONE-GUARATINI, M.T.; GASPAR, M.; OLIVEIRA, V.F.; TORRES, M.A.G.M.; NASCIMENTO, M.A.; AIDAR, M.M.P. Atmospheric CO₂ enrichment greatly increases photosynthesis and growth in a woody tropical bamboo from the Brazilian Atlantic Forest. **New Zealand Journal of Botany**, v. 51, p. 275–285, 2013.

GUTBROD, K.; ROMER, J.; DÖRMANN, P. Phytol metabolism in plants. **Progress in lipid research**, v. 74, p. 1-17, 2019.

HAN, R.Z.; LI, J.H.; SHIN, H.D.; CHEN, R.R.; DU, G.C.; LIU, L.; CHEN, J. Recent advances in discovery, heterologous expression, and molecular engineering of cyclodextrin glycosyltransferase for versatile applications. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 415-428, 2014.

HOLZ, C.A.; VEBLEN, T.T. Tree regeneration responses to *Chusquea montana* bamboo die-off in a subalpine Nothofagus forest in the southern Andes. **Journal of Vegetation Science**, v.17, n.1, p.19-28, 2006.

HONG, E.J.; JUNGA, E.M.; LEEA, G.S.; KIMA, J.Y.; NAA, K.J.; PARK, M.J.; KANG, H.Y. Protective effects of the pyrolyzates derived from bamboo against neuronal damage and hematoaggregation. **Journal of Ethnopharmacology**, v.128, p.594-599, 2010.

HORST, F. F. **Estudo fitoquímico, atividades biológicas e propriedades antioxidantes da espécie vegetal *Chusquea pinifolia* NESS (POACEAE)**. 2018. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

HU, C.; ZHANG, Y.; KITTS, D.D. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. *henonis* leaf extract in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.3170-3176, 2000.

HUDSON, E. A.; DINH, P. A.; KOKUBUN, T.; SIMMONDS, M. S. J.; GESCHER, A. Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice that

inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 9, p.1163-1170, 2000.

INBAR (The International Network for bamboo and Rattan). INBAR's Bamboo and Rattan Trade Database, 2013.

INDERJIT. Soil: environmental effects on allelochemical activity. **Agronomy Journal**, v. 93, n.1, p. 79-84, 2001.

INDERJIT; DUKE, S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, n. 4, p. 529-539, 2003.

INDERJIT; SEASTEDT, T.R.; CALLAWAY, R.M.; POLLOCK, J.L.; KAUR, J. Allelopathy and plant invasions: traditional, congeneric, and biogeographical approaches. *Biological Invasion*, v.10, p. 875–890, 2008.

IOKU, K.; TERAOKA, J.; NAKATANI, N. Antioxidative activity of arbutin in a solution and liposomal suspension. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, p. 1658-1659, 1992.

INOUE, Y.; HADA, T.; SHIRAISHI, A.; HIROSE, K.; HAMASHIMA, H.; KOBAYASHI, S. Biphasic effects of geranylgeraniol, teprenone, and phytol on the growth of *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 1770-1774, 2005.

ISCHEBECK, T.; ZBIERZAK, A.M.; KANWISCHER M.; DÖRMANN, P. A salvage pathway for phytol metabolism in Arabidopsis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, p. 2470–2477, 2006.

ISLAM, M.T. et al. Phytol in a pharma-médico-stance. **Chemico-Biological Interactions**, v. 240, p. 60–73. 2015.

ISLAM, M.T. et al. Phytol: A review of biomedical activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p. 82-94, 2018.

JIAO, J.; LIU, J.; WU, X.; ZHANG, Y. Separation and purification of Tricin from an antioxidant product derived from bamboo leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 25, p. 10086-10092, 2007.

JIN, Y.C.; YUAN, K.; ZHANG, J. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Phyllostachys heterocycla* cv. *Pubescens* varieties from China. **Molecules**, v. 16, p. 4318-4327, 2011.

JIANYOU, Z. et al. Evaluation of whitening efficacy and safety of the water extract from bamboo shavings. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 8, n. 6, p. 345-352, 2014.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw Hill Book, 1940.

JOLY, C. A.; VERDADE, M.; BERLINCK, R. G. S. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista Usp**, v. 89, p. 114-133, 2011.

JOSE, C. M. et al. Phytotoxic effects of phenolic acids from *Merostachys riedeliana*, a native and overabundant Brazilian bamboo. **Chemoecology**, v. 26, p. 235–246, 2016.

JUDZIEWICZ, E. J.; CLARK, L. G.; LONDOÑO, X.; STERN, M. J. **American Bamboos**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1999.

JUN, M.; TOHRU, U.; JIANZHANG, L.; TAKESHI, F. Identification and evaluation of antioxidant activities of bamboo extracts. **Forestry Studies in China**, v. 6, n. 2, p. 1-5, 2004.

JURICA, K.; GOBIN, I.; KREMER, D.; CEPO, D.V.; GRUBESIC, R.J.; KARACONJI, I.B.; KOSALEC, I. Arbutin and its metabolite hydroquinone as the main factors in the antimicrobial effect of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves. **Journal of Herbal Medicine**, v. 8, p. 17-23, 2017.

KANTEEV, M.; GOLDFEDER, M.; FISHMAN, A. Structure–function correlations in tyrosinases. **Protein Science**, v. 24, p. 1360-1369, 2015.

KARABALIEV, M.; KOICHEV, V. Interaction of solid supported thin lipid films with saponin. **Sensors & Actuators, B: Chemical**, v.88, p.101-105, 2003.

KAUR, H.; KAUR, R.; KAUR, S.; BALDWIN, I.T.; INDERJIT. Taking ecological function seriously: soil microbial communities can Phytotoxic effects of phenolic acids from *Merostachys riedeliana*, a native and overabundant obviate allelopathic effects of released metabolites. **PLoS One**, v. 4, n. 3, 2009.

KELCHNER, S.A.; BAMBOO PHYLOGENY GROUP. Higher level phylogenetic relationships within the bamboos (Poaceae: Bambusoideae) based on five plastid markers. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 67, n. 2, p. 404-413, 2013.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KELLER, H. A. Plantas usadas por los guaraníes de Misiones (Argentina) para la fabricación y el acondicionamiento de instrumentos musicales. **Darwiniana**, v. 48, n. 1, p. 7-16, 2010a.

KELLER, H. A. Plantas colorantes utilizadas por los guaraníes de Misiones, Argentina. **Bonplandia**, v. 19, n.1, p. 11-25, 2010b.

KELLERMANN, B. **Monitoramento da regeneração natural em fragmento de floresta ombrófila mista e morfoanatomia de plântulas e tirodendros de *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex Malme (Asteraceae)**. 2011. 140p. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

KIM, C.W.; LEE, H.J.; JUNG, H.J.; KIM, Y.H.; JUNG, D.B.; SOHN, E.J.; LEE, J.H.; WOO, H.J.; BAER, N.; KIM, Y.C.; KIM, S.H. Activation of Caspase-9/3 and inhibition of epithelial mesenchymal transition are critically involved in antitumor effect of phytol in hepatocellular carcinoma cells. **Phytotherapy Research**, v. 29, p.1026–1031, 2015.

KIM, C. Y.; LEE, H. J.; JUNG, S. H.; LEE, E. H.; CHA, K. H.; KANG, S. W.; PAN, C.; UM, B. Rapid identification of radical scavenging phenolic compounds from black bamboo leaves using high-performance liquid chromatography coupled to an online ABTS+-based assay. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 613-619, 2009.

KOMIYA, T.; KYOHKON, M.; OHWAKI, S.; ETO, J.; KATSUZAKI, H.; IMAI, K. Phytol induces programmed cell death in human lymphoid leukemia Molt 4B cells. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 4, p. 377-380, 1999.

KO, G.A.; CHO, S.K. Phytol suppresses melanogenesis through proteasomal degradation of MITF via the ROS-ERK signaling pathway. **Chemico-Biological Interactions**, v. 286, p. 132–140, 2018.

KUMAR, D.; KUMAR, A.; PRAKASH, O. Potencial antifertility agents from plants: A comprehensive review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, n. 1, p. 1-32, 2012.

KWEON, M.; HWANG, H.; SUNG, H. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4646-4655, 2001.

KWIECIEN, I.; SZOPA, A.; MADEJ, K.; EKIERT, H. Arbutin production via biotransformation of hydroquinone in *in vitro* cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. **Acta Biochimica Polonica**, v. 60, p. 865–870, 2013.

LACERDA, A.E.B.; KELLERMANN, B. **When native species become invasive: the case of bamboos in fragmented forests of southern Brazil**. In: ESA, 98TH ANNUAL MEETING OF THE ECOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA, 2013.

LANNING, F.C.; ELEUTERIUS, L.N. Silica and ash in tissues of some coastal plants. **Annals of Botany**, v. 51, p. 835-850, 1983.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima Editora, 2006.

LARPKERN, P.; MOE, S.R.; TOTLAND, O. The effects of environmental variables and human disturbance on woody species richness and diversity in a bamboo–deciduous forest in northeastern Thailand. **Ecological Research**, v. 24, p. 147-156, 2009.

LAWS, B. **50 plantas que mudaram o rumo da história**. Editora Sextante, Rio de Janeiro, 2013.

LEE, H.J.; KIM, K.W. Anti-inflammatory effects of arbutin in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. **Inflammation Research**, v. 61, p. 817-825, 2012.

- LEE, W.; WOO, E.R.; LEE, D. G. Phytol has antibacterial property by inducing oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. **Free Radical Research**, v. 50, p. 1309-1318, 2016.
- LEE, W.J.; SULEIMAN, N.; HADZIR, N.H.N.H; CHONG, G.H. Supercritical fluids for the extraction of oleoresins and plant phenolics. In: **Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science**, p. 279-328, 2019;
- LEWAN, L.; ANDERSSON, M.; MORALES, P. G. The use of *Artemia salina* in toxicity test. **ATLA - Alternatives to laboratory animals**, v. 20, p. 297-301, 1992.
- LEVIS, C. et al. Persistent effects of pre-Columbian plant domestication on Amazonian forest composition. **Science**, v. 355, n. 6328, p. 925-931, 2017.
- LI, M.; PU, Y.; YOO, C. G.; RAGAUSKAS, A. J.; The occurrence of triclin and its derivatives in plants. **Green Chemistry**, p. 1439-1454, 2016.
- LIAO, Z.K.; LU, W. Preliminary determination of chemical components for leaves of *Phyllostachys pubescens*. **Journal of Shanxi University**, v. 26, n.1, p. 46–48, 2003.
- LÍŠKA, J.; ONDKOVÁ, S.; MACEJOVÁ, D.; BRTKO, J. Histological evaluation of rat mammary tumours after treatment with retinoic acid analogues — phytol, TTNPB and vitamin D3 analogue seocalcitol. *Biologia*, v. 66, p. 365–369, 2011.
- LIU, M.H.; KO, C.K.; BA, N.; TAN, B.W.; FU, W.M.; HE, J.Y. Chemical profiles, antioxidant and anti-obesity effects of extract of *Bambusa textilis* McClure leaves. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 533-546, 2016.
- LONDOÑO, X. Evaluation of bamboo resources in Latin America: A summary of the final report of the project 96–8300–01–4. **INBAR**, 1999.
- LONDOÑO, X. **Evaluation of bamboo resources in Latin America**. Cali: Instituto Vallecaucano de Investigaciones Científicas, 2010.
- LONDOÑO, X.; KOBAYASHI, M. Comparative study of the silica bodies of *Bambusa* and *Caldasia*, v.16, p.407- 441, 1991.
- LONGHI-WAGNER, H.M. et al. **Poaceae** in: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPERD, G.J.; GIULIETTI, A.M. (coords.). *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, v.1. São Paulo: Fapesp & Hucitec, 2001
- LORENZO, P.; PALOMERA-PEREZ, A.; REIGOSA, M.J; GONZALEZ, L. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* Link on the physiological parameters of native understory species. **Plant Ecology**, v. 212, p. 403-412, 2012.
- LU, B.; WU, X.; TIE, X.; ZHANG, Y.; ZHANG, Y. Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1: Acute and subchronic toxicity studies on anti-oxidant of bamboo leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 783-792, 2005.

LUKAS, B.; SCHMIDERER, C.; MITTEREGGER, U.; NOVAK, J. Arbutin in marjoram and oregano. **Food Chemistry**, v. 121, p. 185-190, 2010.

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

MAGEL, E.; KRUSE, S.; LÜTJE, G.; LIESE, W. Soluble Carbohydrates and Acid Ivertases involved in the rapid growth of the developing culms in *Sasa palmata* (Bean) Camus. **Bamboo Science and Culture**, v. 19, p. 23-29, 2005.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAIRESSE, L. A. S. et al. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. Uruguaiana, v.14, n.2, 2007.

MARAFON, A.C. et al. Characterization of bamboo species and other biomasses with potential for thermal energy generation. **Pesquisa. Agropecuaria Tropical**, v. 49, 2019.

MARTINS, S.V.; JÚNIOR, R.C.; RODRIGUES, R.R.; GANDOLFI, S. Colonization of gaps produced by death of bamboo clumps in a semideciduous mesophytic forest in south-eastern Brazil. **Plant Ecology**, v.172, n.1, p.121-131, 2004.

MEJÍA, A. I. G. GALLARDO, C.C.; VALLEJO, J.J.O.; RAMÍREZ, G.L.; ARBOLEDA, C.E.; DURANGO, E.S.A.; JARAMILLO, A.Y.; CADAVID, E.T. Plantas del género *Bambusa*: importancia y aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. **Vitae, Revista de la Facultad de química farmacéutica**, v. 16, n.3, p. 396-405, 2009.

MESSIAS, M.C.T.B.; MENEGATTO, M.F.; PRADO, A.C.C.; SANTOS, B.R.; GUIMARÃES, M.F.M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p.76-104, 2015.

METCALFE, R. **Anatomy of the Monocotyledons**. Oxford: Claredon Press, 1960.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; McLAUGHLIN, J.L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MIGUEL, O. G. **Ensaio sistemático de análise Fitoquímica**, 2003. Apostila da disciplina de Fitoquímica – Universidade Federal do Paraná, Farmácia, Curitiba, 2003.

MORAES, J.; OLIVEIRA, R.N.; COSTA, J.P.; JUNIOR, A.L.G.; SOUZA, D.P.; FREITAS, R.M.; ALLEGRETTI, S.M.; PINTO, P.L. Phytol, a diterpene alcohol from

chlorophyll, as a drug against neglected tropical disease *Schistosomiasis mansoni*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 2014.

MOREIRA, E. A Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna farmacêutica**, v. 47, p. 1-19, 1979.

NAKAJIMA, Y; YUN, Y.S.; KUNUGI, A. 2003. Six new flavonolignans from *Sasa veitchii* (Carr.) Rehder. **Tetrahedron**, v. 59, p. 8011-8015, 2003.

NAKANISHI, T.; ANRAKU, M.; SUZUKI, R.; KONO, T.; ERICKSON, L.; KAWAHARA, S. Novel immunomodulatory effects of phytanic acid and its related substances in mice. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 283-289, 2016.

NAZREEN, S.; ALAM, M. S.; HAMID, H.; KAUR, G.; ALAM, M. M.; HAIDER, S.; SHAFI, S.; Ali, M. Phytochemical investigation of *Bambusa arundinacea* Retz. **International Journal of Natural Product Science**, v.3, p.1-7, 2011.

NI, Q.; XU, G.; WANG, Z.; GAO, Q.; WANG, S.; ZHANG, Y. Seasonal Variations of the Antioxidant Composition in Ground Bamboo *Sasa argenteostriatus* Leaves. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 2249-2262, 2012.

NISHINA, A.; HASEGAWA, K.I.; UCHIBORI, T.; SEINO, H.; OSAWA, T. 2,6-dimethoxybenzoquinone as an antibacterial substance in the bark of *Phyllostachys heterocycla* var. *pubescens*, a species of thick-stemmed bamboo. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 266-269, 1991.

NIRMALA, C.; BISHT, M. S.; LAISHRAM, M. Bioactive compounds in bamboo shoots: health benefits and prospects for developing functional foods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 1425-1431, 2014.

NOELLI, F. S. **Sem tekohá não há tekó: em busca de um modelo etnoarqueológico da aldeia e da subsistência Guarani e sua aplicação a uma área de domínio no delta do Jacuí-RS**. 1993. 488 f. Dissertação (Mestrado em História) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1993.

NOELLI, F. S. La distribución geográfica de las evidencias arqueológicas Guaraní. **Revista de Indias**, v. LXIV, n. 230, p. 17-34, 2004.

O'BRIEN, T. P; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1997.

OLIVEIRA, R.P. **A tribo Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) no Estado da Bahia, Brasil**. 2001. 190p. Dissertação de Mestrado em Botânica - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2001.

OLIVEIRA, R.P.; LONGHI-WAGNER, H. M.; JARDIM, J. G. Diversidade e conservação dos bambus herbáceos (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae) da Mata Atlântica, Brasil. In: Seminário Nacional de Bambu. Anais, p.62-66, Brasília, 2006.

OLIVEIRA, R.P.; LONGHI-WAGNER, H.M.; LEITE, K.R.B. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia Bertol.* (Poaceae: bambusoideae). **Acta Botanica Brasilica**, vol. 22, n. 1, p. 1-19, 2008a.

OLIVEIRA, R.P.; LONGHI-WAGNER, H.M.; LEITE, K.R.B.; HOLLOWELL, V.C. *Pariana multiflora* (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae): a new species from Brazil and notes on the leaf anatomy of this genus in Eastern Coast Brazil. **Systematic Botany**, v. 33, n. 2, p. 262-266, 2008b.

OLIVEIRA, D. **As florestas que pertence aos deuses: etnobotânica e territorialidade Guarani na Terra Indígena M'biguaçu/SC.** 2009. 182 f. Monografia (Bacharelado em Ciência Biológica) - Centro de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2009.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641–650, 2010.

OVENDEN, S. P. B. et al. Phenolic Glycosides with Antimalarial Activity from *Grewillea* "Poorinda Queen". **Journal Natural Products**, v. 74, p. 74–78, 2011.

PARK, H.; LIM, J.H.; KIM, H.J.; CHOI, H.J.; LEE, I. Antioxidant flavone glycosides from the leaves of *Sasa borealis*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, p.161-166, 2007.

PARODIOLYRA in **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB13423>>. Acesso em: 09 Jan. 2020.

PEJIN, B.; CIRIC, A.; GLAMOCLIJ, J.; NIKOLIC, M.; SOKOVIC, M. *In vitro* anti-quorum sensing activity of phytol. **Natural Products Research**, v. 29, p. 374–377, 2015.

PEREIRA, G.S.; NOELLI, F.S.; CAMPOS, J.B.; SANTOS, M.P.; ZOCHE, J.J. Ecologia Histórica Guarani: As plantas utilizadas no Bioma Mata Atlântica do litoral sul de Santa Catarina, Brasil (Parte 1). **Cadernos do LEPAARQ**, v. 13, n. 26, p. 197-246, 2016.

PEREIRA COSTA, J.; OLIVEIRA, J. S.; REZENDE JUNIOR, L. M.; FREITAS, R.M. Phytol a natural diterpenoid with pharmacological applications on central nervous system: a review. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 8, p. 194–205, 2014.

PIEKOSZEWSKA, A.; EKIERT H.; ZUBEK, S. Arbutin production in *Ruta graveolens* L. and *Hypericum perforatum* L. *in vitro* cultures. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 223-229, 2010.

PIVELLO, V.R.; VIEIRA, M.V.; GROMBONE-GUARATINI, M.T.; MATOS, D.M. Thinking about super-dominant populations of native species – Examples from Brazil. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 16, p. 74-82, 2018.

POP, C.; VLASE, L.; TAMAS, M. Natural resources containing arbutin. Determination of arbutin in the leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) fritsch acclimated in Romania. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 37, p. 129-132, 2009.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, n. 269, p.337-341, 1999.

QUITAIN, A.T.; KATOH, S.; MORIYOSHI, T. Isolation of antimicrobials and antioxidants from moso-bamboo (*Phyllostachys heterocycla*) by supercritical CO₂ extraction and subsequent hydrothermal treatment of the residues. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.43, p.1056-1060, 2004.

RATHAUR, A. K. *Bambusa arundinacea* (vanshlochan): An overview. **International Journal of Research in Pharmacology & Pharmacotherapeutics**, v. 2, p. 244 – 255, 2013.

RAZAVI, S.M.; NAZEMIYEH, H.; HAJIBOLAND, R.; KUMARASA, Y.; DELAZAR, A.; NAHAR, L.; SARKER, S.D. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.1-5; 2008.

REZENDE, W. P.; BORGES, L. L.; ALVES, N. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Chemical variability in the essential oils from leaves of *Syzygium jambos*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 3, p. 433–440, 2013.

RIAÑO, A. T.; LONDOÑO, X.; LÓPEZ, Y.; GÓMEZ, J.H. plant growth and biomass distribution on *Guadua angustifolia* Kunth in relation to ageing in Valle del Cauca. **Colombia Bamboo Science and Culture**, v. 16, n.1, p. 43-51, 2002.

RODRIGUES, B. N.; PASSINI, T.; FERREIRA, A. G. **Research on allelopathy in Brazil**. In: NARWAL, S. S. (Ed.). Allelopathy update. New Hampshire: Science Publishers, 1999.

RODRIGUES, L. A.; CARVALHO, D.A.; OLIVEIRA FILHO, A.T.; CURY, N. Efeitos de solos e topografia sobre a distribuição de espécies arbóreas em um fragmento de floresta Estacional Semidecidual em Luminárias, MG. **Revista Árvore**, v.33, n.1, p.25-35, 2007.

RODRIGUES, M. A.; KERBAUY, G. B. Meristemas: fontes de juventude e plasticidade no desenvolvimento vegetal. **Hoehnea**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 525-550, 2009 .

RODRIGUES, R.S.; SHIRASUNA, R.T.; FILGUEIRAS, T.S. Sinopse de Poaceae da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo, Brasil. **Revista de Biologia Neotropical**, v.13, n.1, p. 31-68, 2016.

RONTANI, J.F.; VOLKMAN, J.K. Phytol degradation products as biogeochemical tracers in aquatic environments. **Organic Geochemistry**, v. 34, p.1-35, 2003.

ROTHER, D.C.; ALVES, K.J.F.; PIZO, M.A. Avian assemblages in bamboo and non-bamboo habitats in a tropical rain forest. **Emu - Austral Ornithology**, v. 113, p. 52-61, 2013.

SANCHEZ-MOREIRAS, A.M; REIGOSA, M.J. Whole plant response of lettuce after root exposure to BOA (2(3H) -Benzoxazolinone. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 2689-2703, 2005.

SANGEETHA, R.; DIEA, Y. K. T.; CHAITRA, C.; MALVI, P. G; SHINOMOL, G. K. The amazing bamboo: a review on its medicinais and pharmacological potential. **Indian Journal of Nutrition**, v.2, p.106, 2015.

SANTOS, C.C.D.M. et al. Antinociceptive and antioxidant activities of phytol *in vivo* and *in vitro* models. **Neuroscience Journal**, 2013.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames: Iowa State College, 1951.

SCHMIDT, R.; LONGHI-WAGNER, H.M. A tribo Bambuseae (Poaceae, Bambusoideae) no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 1, p. 71-128, 2009.

SCHULTZ, M.; WIELAND, I. Variation in metabolism of BOA among species in various field communities—biochemical evidence for co-evolutionary process in plant communities? **Chemoecology**, v.9, p.133-141, 1999.

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. **Global Biodiversity**. UNEP. Montreal, 155p, 2014.

SHAO-LIN, P.; WEN, J.; QIN-FEN, G. Mechanism and active variety of allelochemicals. **Acta Botanica Sinica**, v. 46, p. 757-766, 2003.

SHARMA, T. P.; BORTHAKUR, S. K. Ethnobotanical observations on Bamboos among Adi tribes in Arunachal Pradesh. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v. 7, n. 4, p. 594-597, 2008.

SHIRASUNA, R. T.; FILGUEIRAS, T. S.; BARBOSA, L. M. Poaceae do Rodoanel Mario Covas, Trecho Sul, São Paulo, SP, Brasil: florística e potencial de uso na restauração de áreas degradadas. **Hoehnea**, v. 40, n. 3, p. 521-536, 2013.

SHUKLA, R.; SUMIT, G.; SAJAL, S.; DWIVEDI, P. K.; MISHRA, A. Medicinal importance of bamboo. **International Journal of Biopharm & Phytochemical Research**, v.1, n.1, p. 9-15, 2012.

SILVA, C.; CONDE, M.M.S.; LONGHI-WAGNER, H.M. Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 63, n. 2, p. 357-372, 2012.

SILVA, R.O.; SOUZA, F.B.M.; DAMASCENO, S.R.B.; CARVALHO, N.S.; SILVA, V.C.; OLIVEIRA, F.R.M.A.; SOUZA, D.P.; ARAGUÃO, R.S.; BARBOSA, A.L.R.; FREITAS, R.M.; MEDEIROS, J.V. Phytol, a diterpene alcohol, inhibits the inflammatory response by reducing cytokine production and oxidative stress. **Fundamental & Clinical Pharmacology's**, v. 28, p. 455-464, 2014.

SIMÕES, C. M. O. (org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SMITH, L.B.; WASSHAUSEN, D.C.; KLEIN, R.M. Gramíneas. In: Reitz, R. (ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí. p. 27-198, 1981.

SODERSTROM, T.R.; ZULOAGA, F.O. A revision of the genus *Olyra* and the new segregate genus *Parodiolyra* (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae). **Smithsonian contributions to botany**, vol. 69, p. 1-79, 1989.

SONG, Y.; CHO, S.K. Phytol induces apoptosis and ROS-mediated protective autophagy in human gastric adenocarcinoma AGS cells. **Biochemistry and Analytical Biochemistry**, v. 4, p. 4-11, 2015.

SORENG, R. J.; PETERSON, P.M.; ROMASCHENKO, K.; DAVIDSE, G.; ZULOAGA, F.O.; JUDZIEWICZ, E.J.; FILGUEIRAS, T.S.; DAVIS, J.I.; MORRONE, O. A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). **Journal of Systematics**, v. 53, n. 2, p.117-137, 2015.

STEIN, V.C. et al. **Germinação e índice mitótico de sementes tratadas com extrato de *Plantago australis* Lam.** In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 13., 2004, Pelotas-RS. Anais... Pelotas: UFPeL, 2004.

SUNGKAEW, S.; STAPLETON, C.M.A.; SALAMIN, N.; HODKINSON, T.R. Non-monophyly of the woody bamboos (Bambusoideae; Poaceae): a multi-gene region phylogenetic analysis of Bambusoideae. **Journal of Plant Research**, v. 122, p.95-108, 2009.

SUZUKI, S. Chronological location analyses of giant bamboo (*Phyllostachys pubescens*) groves and their invasive expansion in a satoyama landscape area, western Japan. **Plant Species Biology**, v. 30, p. 63-71, 2015.

TABATA, M.; TSUKADA, M.; FUKUI, H. Antimicrobial activity of quinone derivatives from *Echium lycopsis callus* cultures. **Planta Medica**, v. 44, p. 234-236, 1982.

TAI, A.; SAWANO, T.; YAZAMA, F.; ITO, H. Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assays. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1810, p.170-177, 2011.

TAKAHASHI, T.; MIZUI, K.; MIYAZAWA, M. Volatile compounds with characteristic odour in moso-bamboo stems (*Phyllostachys pubescens* Mazel ex Houz. De ehaie). **Phytochemical Analysis**, v. 21, p. 489-495, 2010.

TAKEBAYASHI, J.; ISHII, R.; CHEN, J.; MATSUMOTO, T.; ISHIMI, Y.; TAI, A. Reassessment of antioxidant activity of arbutin: multifaceted evaluation using five antioxidante assay systems. **Free Radical Research**, v. 44, p. 473–478, 2010.

TAN, J.B.L; LIM, Y.Y. Critical analysis of current methods for assessing the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. **Food Chemistry** v.172, p.814-822, 2015.

TANAKA, A.; ZHU, Q.; TAN, H.; HORIBA, H.; OHNUKI, K.; MORI, Y.; YAMAUCHI, R.; ISHIKAWA, H.; IWAMOTO, A.; KAWAHARA, H.; SHIMIZU, K. Biological activities and phytochemical profiles of extracts from different parts of bamboo (*Phyllostachys pubescens*). **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 8238-8260, 2014.

TAO, C.; WU, J.; LIU, Y.; LIU, M.; YANG, R.; LV, Z. Antimicrobial activities of bamboo (*Phyllostachys heterocycla* cv. *Pubescens*) leaf essential oil and its major componentes. **European Food Research Technology**, v. 244, n.5, p. 881-891, 2018.

TAO, C.; WANG, Y.; ZHANG, X.; LI, L.; WU, Y.; HAN, X.; JIANG, X.; LV, Z. Mechanism of Action of Essential Oils Extracted from bamboo (*Phyllostachys heterocycla* cv. *pubescens*) Leaves: Chemical Composition and Antimicrobial Activity against Four Food-related Microorganisms. **BioResources**, v. 14, n.1, p. 1419 -1434, 2019.

THOMAS, R.; JEBIN, N.; SAHA, R.; SARMA, D.K. Antioxidant and antimicrobial effects of kordoi (*Averrhoa carambola*) fruit juice and bamboo (*Bambusa polymorpha*) shoot extract in pork nuggets. **Food Chemistry**, v. 190, p. 41-49, 2016.

THORPE, A.S.; THELEN, G.C.; DIACONU, A.; CALLAY, R.M. Root exudate is allelopathic in invaded community but not in native community: field evidence for the novel weapons hypothesis. **Journal Ecology**, v. 97, p. 641-664, 2009.

TOAN, N. P.; XUAN, T.D.; HA, P.T.T.; ANH, T.T.T.; KHANH, T.D. Inhibitory Effects of Bamboo Leaf on the Growth of *Pyricularia grisea* Fungus. **Agriculture**, v. 92, p. 1-8, 2018.

TORRES, M.A.M.G. **Identificação e caracterização do potencial alelopático do bambu *Apoclada simplex* McClure & Smith**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, São Paulo, 2015.

TRIPATHI, Y. C. **Bamboo on the touchstone of modern phytotherapy**. Productivity Enhancement and Value Addition of Bamboos. Institute of Forest Productivity. First Impression: March, 2011.

TRIPATHI, Y. C.; JHUMKA, Z.; ANJUM, N. Evaluation of total polyphenol and antioxidant activity of leaves of *Bambusa nutans* and *Bambusa vulgaris*. **Journal of Pharmacy Research**, v. 9, n. 4, p. 271-277, 2015.

TONGCO, J. V. V.; AGUDA, R. M.; RAZAL, R. A. Proximate analysis, phytochemical screening, and total phenolic and flavonoid content of Philippine bamboo

Schizostachyum lumampao. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n.1, p. 709-713, 2014.

UPADHYAY, H.C.; DWIVED, G.R.; ROY, S.; SHARMA, A.; DAROKAR, M.P.; SRIVASTANA, S.R. Phytol derivatives as drug resistance reversal agents. **ChemMedChem**, v. 9, p. 1860-1868. 2014.

VALLI, M.; RUSSO, H.M.; BOLZANI, V.S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, supl. 1, p. 763-778, 2018.

VAN DEN BRINK, D. M.; WANDERS, R. J. Phytanic acid: production from phytol, its breakdown and role in human disease, **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 63, p. 1752-1765, 2006.

VAN HOYWEGHEN, L.; DE BEER, T.; DEFORCE, D.; HEYERICK, A. Phenolic compounds and anti-oxidant capacity of twelve morphologically heterogeneous bamboo species. **Phytochemical Analysis**, v. 23, n. 5, p. 433-443, 2012.

VAN OHRNBERGER, D. **The bamboos of the world: annotated nomenclature and literature of the species and the higher and lower taxa**. Elsevier Science B.V., Amsterdam. 584p., 1999.

VIBRANS, A.C.; SEVEGNANI, L.; GASPER, A.L.; LINGNER, D.V. **Floresta ombrófila densa**. Blumenau, Brasil: Edifurb, 576p., 2013a.

VIBRANS, A.C.; SEVEGNANI, L.; GASPER, A.L.; LINGNER, D.V. **Floresta ombrófila mista**. Blumenau, Brasil: Edifurb, 440p., 2013b.

VIEIRA, R.C.; GOMES, D.M.S.; SARAHYBA, L.S.; ARRUDA, R.C.O. Leaf anatomy of three herbaceous bamboo species. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 62, p. 907-922, 2002.

VIEIRA, R.C. F. **Estudo do uso de plantas medicinais e/ou produtos à base de plantas medicinais como tratamento complementar, por pacientes atendidos no Centro de Pesquisas Oncológicas – CEPON/SC, e as suas implicações clínicas**. 2008. 175 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em Farmácia, Florianópolis, 2008.

VINHA, D.; ALVES, L.F.; ZAIDAN, L.B.P.; GROMBONE-GUARATINI, M.T. The potential of the soil seed bank for the regeneration of a tropical urban forest dominated by bamboo. **Landscape and Urban Planning**, v. 99, p. 178-185, 2011.

WAGNER, H. **Plant Drugs analysis**. 2. ed. Berlin: Springer, p 298-299, 1996.

WALLER, G. R.; YANG, C.F.; CHEN, L.F.; SU, C.H.; LIOU, R.M.; WU, S.C.; YOUNG, C.C.; LEE, M.R.; LEE, J.S.; CHENG, C.S.; CHOU, C.H.; KIM, D. Saponins produced

during the life cycle of mungbeans and their role as allelochemicals. **Studies in Plant Science**, v. 6, p. 105-130,1999.

WANG, J.; YUE, Y.; TANG, F.; SUN, J. TLC. Screening for antioxidant activity of extracts from fifteen bamboo species and identification of antioxidant flavone glycosides from leaves of *Bambusa textilis* McClure. **Molecules**, v. 17, p. 12297-12311, 2012.

WANG, Y.; REN, X.; ZOU, X.; LIU, Y.; LV, Z. Chemical components of essential oil from bamboo leaves and their antimicrobial activity. **Journal of Food Safety and Quality**, v. 7, n.5, p. 2008-2013, 2016.

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de clevenger para extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.1, n.1, p. 1-112,1963.

WRÓBLEWSKA, K. B.; BABY, A.R.; GROMBONE-GUARATINI, M.T.; MOORENO, P.R.H.
In vitro antioxidant and photoprotective activity of five native Brazilian bamboo species. **Industrial Crops & Products**, v. 130, p. 208-215, 2019.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedure for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

XU, W.H.; LIANG, Q.; ZHANG, Y.J.; ZHAO, P. Naturally occurring arbutin derivatives and their bioactivities. *Chemistr. Biodiversity*, v. 12, p. 54–81, 2015.

YEASMIN, L.; ALI, M.N.; GANTAIT, S.; CHAKRABORTY, S. Bamboo: an overview on its genetic diversity and characterization. **3 Biotech**, v. 5, p. 1-11, 2015.

ZHANG, W.; CLARK, L.G. **Phylogeny and classification of the Bambusoideae (Poaceae)**. In: JACOBS, S.W.L.; EVERETT, J.E (eds). *Grasses: Systematics and Evolution*, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Collingwood, Victoria, p. 35-42, 2000.

ZHANG, Y. Natural functional extract of bamboo leaves-bamboo leaf anthoxanthin. **China Food Additives**, v. 3, p. 54-58, 2002.

ZHANG, Y.; BAO, B.; LU, B.; REN, Y.; TIE, X.; ZHANG, Y. Determination of flavone C glucosides in antioxidant of bamboo leaves (AOB) fortified foods by reversed- phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode array detection. **Journal of Chromatography A**, v.1065, n. 5, p.177-185, 2005.

ZHANG, Y.; CHEN, J.; ZHANG, X.; WU, X.; ZHANG, Y. Addition of Antioxidant of Bamboo Leaves (AOB) Effectively Reduces Acrylamide Formation in Potato Crisps and French Fries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 2, p. 523-528, 2006.

ZHANG, Y.; JIAO, J.; LIU, C.; WU, X.; ZHANG, Y. Isolation and purification of four flavone C-glycosides from antioxidant of bamboo leaves by macroporous resin column chromatography and preparative high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1326-1336, 2008.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.

ZHOU, G. M.; JIANG, P. K.; MO, L. F. Bamboo: a possible approach to the control of global warming. **International Journal of Nonlinear Sciences & Numerical Simulation**, v. 10, n. 5, p. 547-550, 2009.

ZHU, X.; TIAN, Y.; ZHANG, E.; ZHANG, T.; GUANG, C.; MU, W. Recent Progress on Biological Production of α -Arbutin. **Applied Microbiology & Biotechnology**, v.102, p. 8145-8152, 2018.

ZULOAGA, F.O.; DAVIDSE, G. A new species and a new combination in the genus *Parodiolyra* (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae). **Novon**, v. 9, n. 4, 1999.

ANEXO 1 – DECLARAÇÃO DE TOMBAMENTO DA EXSICATA DE *Parodiolyra micrantha* no HERBÁRIO MUNICIPAL DE CURITIBA (MBM).



PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA
SECRETARIA MUNICIPAL DO MEIO AMBIENTE
DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO VEGETAL
DIVISÃO DO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL

DECLARAÇÃO

Declaro, para os fins que se fizerem necessários, que se encontra tombada no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM) uma amostra da espécie *Parodiolyra micrantha* (Kunth) Davidse & Zuloaga, coletada por Elisiane de Bona Sartor, e registrada com o número MBM 415067.

Curitiba, 22 de outubro de 2019.

Marcelo Leandro Brotto

Curador do Herbário MBM

Matrícula 177474

ANEXO 2 - AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
 Cadastro nº A339175

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: A339175
 Usuário: Universidade Federal do Paraná
 CPF/CNPJ: 75.095.679/0001-49
 Objeto do Acesso: Patrimônio Genético
 Finalidade do Acesso: Pesquisa

Espécie

Parodiolyra micrantha

Título da Atividade: Estudo Fitoquímico, Morfoanatômico, Atividades Biológicas e Propriedades Antioxidantes da espécie Parodiolyra micrantha (Kunth Davidse & Zuloaga, POACEAE)

Equipe

Marilis Dallarmi Miguel	Universidade Federal do Paraná
Elisiane de Bona Sartor	UFPR
Obdulio Gomes Miguel	UFPR

Data do Cadastro: 31/10/2019 13:33:02

Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 13:33 de 31/10/2019.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**