

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

JULIANA CAMPANA PEREIRA

Potencial alelopático e estudo fitoquímico dos extratos aquosos e etanólicos de *Canavalia ensiformis* (L.) DC e *Paspalum maritimum* Trind.

Rio Largo, AL
2017

JULIANA CAMPANA PEREIRA

Potencial alelopático e estudo fitoquímico dos extratos aquosos e etanólicos de *Canavalia ensiformis* (L.) DC e *Paspalum maritimum* Trind.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Proteção de Plantas.

Orientador: Renan Cantalice de Souza

Rio Largo, AL
2017



UFAL

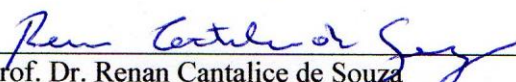
Universidade Federal de Alagoas

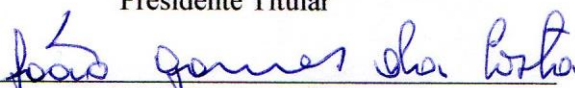
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS
CÓDIGO-CAPES – 26001012029P1

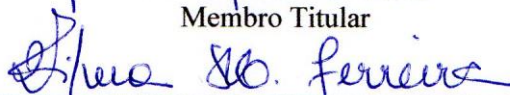


CECA

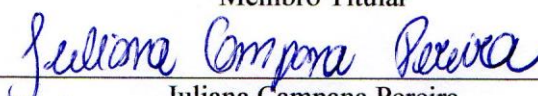
Aos cinco dias do mês de maio de dois mil e dezessete, na sala de aula do prédio da Pós-Graduação do Centro de Ciências Agrárias da UFAL, sob a Presidência do Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza, reuniu-se a Banca Examinadora para Defesa Pública de Tese da Engenheira Agrônoma **Juliana Campana Pereira**, aluna do Curso de Doutorado em Proteção de Plantas da UFAL, com o título: **“Potencial alelopático e estudo fitoquímico dos extratos aquosos e etanólicos de *Canavalia ensiformes* (L.) DC e *Paspalum maritimum* TRIND”**. A Banca examinadora ficou assim constituída: Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza (CECA-UFAL) - Orientador - Membro Titular, Prof.^a Dr.^a Vilma Marques Ferreira (CECA-UFAL) - Membro Titular, Dr. João Gomes da Costa (EMBRAPA) – Membro Titular Externo e o Prof. Dr. José Vieira Silva (UFAL - Arapiraca) – Membro Titular. Ocorrências: Abertura pelo Presidente da Banca Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza, que agradeceu a valiosa presença dos demais membros componentes da Banca, manifestando sua satisfação pela defesa da Tese do Curso de Doutorado em Proteção de Plantas da UFAL, desta feita sob sua orientação. A seguir, parabenizou a aluna **Juliana Campana Pereira** pelo trabalho apresentado. O presidente da Banca Examinadora iniciou os trabalhos passando a palavra ao Dr. João Gomes da Costa e, logo após, foram ouvidos os comentários e análises dos outros componentes da Banca. Terminada a defesa, procedeu-se o julgamento pelos membros examinadores, sendo a candidata **APROVADA**. A candidata foi informada que terá um prazo de sessenta (60) dias para entregar na Coordenação do Curso os exemplares da Tese com as modificações sugeridas pela banca examinadora e apresentar o comprovante de submissão de pelo menos dois artigos extraídos de sua Tese para expedição do Diploma de Doutora em Proteção de Plantas. Para constar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos Senhores Membros da Banca Examinadora e por mim, Maxwell Maclon Silva Guilherme, Secretário. Rio Largo (AL), 5 de maio de 2017.

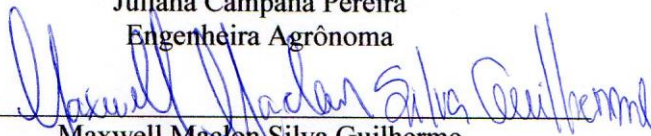

Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza
Presidente Titular


Dr. João Gomes da Costa
Membro Titular


Prof.^a Dr.^a Vilma Marques Ferreira
Membro Titular


Prof. Dr. José Vieira Silva
Membro Titular


Juliana Campana Pereira
Engenheira Agrônoma


Maxwell Maclon Silva Guilherme
Secretário

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

P436p Pereira, Juliana Campana.

Potencial alelopático e estudo fitoquímico dos extratos aquosos e etanólicos de *Canavalia ensiformis* (L.) / Juliana Campana Pereira. – 2017.
145 f. : il.

Orientador: Renan Catalice de Souza.

Tese (doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas.
Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Alelopatia. 2. Plantas daninhas. 3. *Paspalum maritimum*. 4. *Canavalia ensiformis*. 5. Metabólitos secundários. I. Título.

CDU: 632. 51

A minha linda família!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente a Deus por mais essa conquista! Graças a Ele cheguei até aqui! A ele toda honra, glória e louvor!!! E a minha Nossa Senhora, tanto amor e carinho envolvido, obrigada por ser essa mãe tão zelosa e intercessora que nunca esquece de mim!!!

Ao meu orientador e amigo professor Dr. Renan Cantalice de Souza, por ter me acolhido, por estar sempre presente, pelo direcionamento e valiosas contribuições para o desenvolvimento do trabalho. A você, todo meu respeito, admiração e gratidão!

Agradeço também a professora Dra. Elza Alves Correa, pessoa exemplar, com a qual iniciei a vida acadêmica. É um exemplo e minha inspiração a sempre lutar pelo que acreditamos!

Aos professores Dr. Laurício Endres, Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana, Dr. João Correia de Araújo Neto e Dr. José Vieira Silva que abriram as portas do laboratório e ofereceram toda condição necessária para a execução deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, professora Dra. Vilma Marques Ferreira, professor Dr. José Vieira Silva e professor Dr. João Gomes da Costa pela disponibilidade e sugestões que enriqueceram o trabalho.

A professora Dra. Roseane Cristina Prêdes Trindade pela participação na banca de qualificação e pelos conhecimentos transmitidos.

A professora Dra. Vilma Marques Ferreira, por ter me despertado o interesse pela alelopatia em uma das suas disciplinas.

A todo o corpo docente e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do CECA, pelos ensinamentos transmitidos!

A Cynthiane Lins de Albuquerque Paulino, companheira de atividades, de risadas, de frustrações quando algo não acontecia como esperávamos, de alegria quando dava tudo certo! Sem você tudo teria sido mais difícil!

Aos amigos do laboratório de Manejo de Plantas Daninhas por todo apoio, incentivo e momentos de descontração!

A Isabella Cardoso Pereira da Silva, técnica do laboratório de Fisiologia Vegetal, sempre prestativa e responsável!

A Bruna da Silva Granja, obrigada pelas risadas, por todo auxílio e trabalho do HPLC! Foram momentos estressantes e cansativos, mas valeu o aprendizado e a amizade!

A Kelly Barbosa, obrigada pela atenção e ajuda na condução da análise fitoquímica! Sempre prestativa!

Minha mãe, não tenho nem palavras para expressar meus agradecimentos!!! Esse título é da senhora e do meu eterno pai, que tanta falta me faz. Sempre me lembro dele falando, estuda para um dia ser doutora! E esse dia chegou!!! Sei que está vibrando no céu por essa conquista nossa!!! Obrigada por sempre terem dado prioridade a nossa educação, abdicando de muitas coisas para isso!!!! Amo muito vocês!

Ao meu marido Francisco Rafael! Esteve em todos os momentos ao meu lado, me incentivando e dando forças quando eu achava que não ia conseguir nos momentos de estresse e ansiedade! Essa etapa me provou mais uma vez o que eu já sabia, não sei viver mais sem ter você ao meu lado! Agradeço por cada palavra, cada gesto carinhoso, e por estar sempre junto!

Agradeço a minha avó Lourdes, grande perda durante esse período! Mas sei que ela está sempre perto intercedendo por mim ao Pai! Que falta a senhora faz aqui!

As minhas queridas irmãs, Mariana Campana e Flaviana Campana, companheiras da vida toda!

Aos meus sogros José Francisco Costa Pereira e Ivone da Silva Pereira, pelas orações e apoio!

Aos meus cunhados, Ana Clara Pereira e Fábio Lemos, Pedro Lucas da Silva Pereira e Bruna Pedrosa por tanto amor!

Aos presentes mais lindos que Deus me deu durante esta etapa, minhas queridas sobrinhas e afilhadas Beatriz, Agnes, Maria Clara e ao que está a caminho no ventre da minha irmã! E a todos os outros que vão chegar!

Minhas amigas da vida toda, Rosilaine Araldi, Adriana Tanaka e Tamara Lúcia!

A todos aqueles que contribuíram para a execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos!

“Aprenda sempre, a vida não para de ensinar!”

(Autor desconhecido)

RESUMO

Existem plantas que possuem características alelopáticas, ou seja, capacidade de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento de outras plantas por meio de substâncias que são liberadas no ambiente. Algumas espécies daninhas podem ter um efeito alelopático sobre os sistemas de plantio através da liberação dos aleloquímicos pelas sementes, folhas, raízes ou resíduos vegetais, e assim, provocar alguma interferência na espécie vizinha. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial alelopático dos extratos aquoso e etanólico de *Paspalum maritimum* Trind. e *Canavalia ensiformis* (L.) DC., bem como realizar o estudo fitoquímico de *P. maritimum* e a identificação dos metabólitos secundários de *C. ensiformis*. *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* e *Portulaca oleracea* foram utilizadas como espécies receptoras. Para avaliar o potencial alelopático, foram utilizados os extratos aquoso e etanólico da parte aérea e radicular de *P. maritimum* e apenas a parte aérea de *C. ensiformis*. Os efeitos potencialmente alelopáticos foram avaliados por meio de testes de germinação, crescimento inicial de plântulas, matéria seca e índice de velocidade de germinação. Foi realizada a análise fitoquímica do extrato de *P. maritimum* para a identificação dos grupos pertencentes dos metabólitos secundários; e para *C. ensiformis* foi utilizada a técnica da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) para identificação dos metabólitos secundários. Foram detectadas, na fração mais ativa da parte aérea de *P. maritimum*, a presença de taninos condensados, chalconas e auronas, flavononas, esteróides e saponinas. O extrato aquoso da parte radicular de *Paspalum maritimum* não possui efeito alelopático, porém o extrato aquoso da parte aérea, e o etanólico, de ambas as partes da planta, causaram efeito alelopático nas espécies receptoras. A *P. oleraceae* é a espécie mais sensível aos efeitos alelopáticos do extrato aquoso de *C. ensiformis*. A parte aérea de *C. ensiformis* contém ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido cafeico), flavonóides (kaempferol, naringina e rutina) e ácidos carboxílicos (ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico), podendo ser os responsáveis pela atividade alelopática dessa espécie.

Palavras-chave: *Paspalum maritimum*, *Canavalia ensiformis*, alelopatia, metabólitos secundários.

Allelopathic potential and phytochemical study of the aqueous and ethanolic extracts of *Canavalia ensiformis* (L.) DC and *Paspalum maritimum* Trind.

ABSTRACT

There are plants that have allelopathic characteristics, that is, the ability to interfere on seed germination and on development of other plants by substances that are released into the environment. Some weeds may have an allelopathic effect on planting systems through the release of allelochemicals by seeds, leaves, roots or plant residues, and thus cause some interference in the neighboring species. The present work aimed to evaluate the allelopathic potential of the aqueous and ethanolic extracts of *Paspalum maritimum* Trind. and *Canavalia.ensiformis* (L.) DC., as well as to perform the phytochemical study of *P. maritimum* and the secondary metabolites identification of *C. ensiformis*. The *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* and *Portulaca oleracea* species were used as recipient species. To evaluate the allelopathic potential, the aqueous and ethanolic extract of the aerial and root part of the *P. maritimum* donor species and only the aerial part of *C. ensiformis* were carried out. Potential allelopathic effects were evaluated by germination tests, initial seedling growth, dry matter and germination speed index. For *P. maritimum*, a phytochemical analysis of the extract was performed to identify the groups belonging to the secondary metabolites; and for *C. ensiformis* the High Efficiency Liquid Chromatography (HPLC) technique was used to identify the secondary metabolites. The presence of condensed tannins, chalcones and aurones, flavonones, steroids and saponins were detected in the most active fraction of the *P. maritimum* aerial part. The aqueous extract of the root part of *Paspalum maritimum* has no allelopathic effect, but the aqueous extract of the aerial part, and the ethanolic of both parts of the plant, had an allelopathic effect on the recipient species. *P. oleraceae* is the species most sensitive to the allelopathic effects of the aqueous extract of *C. ensiformis*. The aerial part of *C. ensiformis* contains phenolic acids (chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid), flavonoids (kaempferol, naringin and rutin) and carboxylic acids (citric acid, malonic acid and aspartic acid), they can responsible for the allelopathic activity of this species.

Keywords: *Paspalum maritimum*, *Canavalia ensiformis*; allelopathy, secondary metabolites.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Possíveis vias de liberação dos aleloquímicos no ambiente.....	24
Figura 2. Vias dos metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides	27
Figura 3. Metabólitos secundários identificados em <i>C. ensiformis</i>	34
Figura 4. Etapas da preparação do extrato aquoso: A- Material da espécie doadora desidratado; B – Primeira centrifugação em tubos falcons; C- Segunda centrifugação em eppendorfs (extrato bruto); D- Extrato aquoso em diferentes concentrações.	60
Figura 5. Etapas da preparação do extrato etanólico: A – Material desidratado da espécie doadora. B – Adição do solvente ao material. C – Filtragem do solvente. D – Evaporação do solvente no rotaevaporador. E- Extrato bruto.....	61
Figura 6. Partição líquido-líquido com os solventes Hexano, Clorofórmio, Acetato de etila e Metanol do extrato da parte aérea de <i>P. maritimum</i>	63
Figura 7. Colorações resultantes da análise fitoquímicas para a testemunha (1), fenóis, taninos hidrolisáveis e taninos condensados (2), antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flavononóis (3, 4 e 5), leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas (6 e 7), flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas (8), esteróides e triterpenóides (9) e saponinas (10).....	69
Figura 8. Porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de <i>P. maritimum</i>	76
Figura 9. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	78
Figura 10. Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos aquosos da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	79
Figura 11. Comprimento radicular (CRA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos aquosos da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	80
Figura 12. Matéria seca (MS) da média das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de <i>P. maritimum</i>	82
Figura 13. Porcentagem de germinação das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	86
Figura 14. Índice de velocidade de germinação (IVG) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	88
Figura 15. Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	89
Figura 16. Comprimento radicular (CRA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	90
Figura 17. Matéria seca de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de <i>P. maritimum</i>	91
Figura 18. Germinação das espécies receptoras submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos.....	92
Figura 19. Etapas da preparação do extrato aquoso: A- Material da espécie doadora desidratado; B – Primeira centrifugação em tubos falcons; C- Segunda centrifugação em	

ependorfs (extrato bruto); D- Extrato aquoso em diferentes concentrações.	110
Figura 20. Etapas da preparação do extrato etanólico: A – Material desidratado da espécie doadora. B – Adição do solvente ao material. C – Filtragem do solvente. D – Evaporação do solvente no rotaevaporador. E- Extrato bruto.....	111
Figura 21. Porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de <i>C. ensiformis</i>	118
Figura 22. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de <i>C. ensiformis</i>	119
Figura 23. A - Comprimento da parte aérea (CPA) e B - Comprimento radicular (CRA) da plântula das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso de <i>C. ensiformis</i>	120
Figura 24. Matéria seca (MS) da média das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de <i>C. ensiformis</i>	122
Figura 25. Porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea de <i>C. ensiformis</i>	124
Figura 26. Índice de velocidade de germinação (IVG) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico de <i>C. ensiformis</i>	125
Figura 27. A - Comprimento da parte aérea (CPA) e B - Comprimento radicular (CRA) da plântula das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico de <i>C. ensiformis</i>	125
Figura 28. Matéria seca de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea de <i>C. ensiformis</i>	127
Figura 29. Germinação das espécies doadoras submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos.	128
Figura 30. Cromatograma obtido da amostra de <i>C. ensiformis</i> (A) e dos padrões puros ácido cafeico e kaempferol (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 220 nm, com fluxo de 1,0 mL min ⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação dos picos: (1) ácido cafeico, (2) quercetina e (3) kaempferol.....	131
Figura 31. Cromatograma obtido da amostra de <i>C. ensiformis</i> (A) e do padrão puro naringina (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 270 nm, com fluxo de 1,0 mL min ⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação do pico: (1) naringina.	132
Figura 32. Cromatograma obtido da amostra de <i>C. ensiformis</i> (A) e dos padrões puros ácido clorogênico e ácido ferúlico (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 330 nm, com fluxo de 1,0 mL min ⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação dos picos: (1) ácido clorogênico e (2) ácido ferúlico.....	133
Figura 33. Cromatograma obtido da amostra de <i>C. ensiformis</i> (A) e do padrão puro rutina (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 360 nm, com fluxo de 1,0 mL min ⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação do pico: (1) rutina.	134
Figura 34. Cromatograma obtido da amostra de <i>C. ensiformis</i> (A) e do padrão puro ácido cítrico (B), ácido malônico (C) e ácido aspártico (D), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 220 nm, com fluxo de 1,0 mL min ⁻¹ e fase móvel composta por 10mM KH ₂ PO ₄ : CH ₃ OH (95:5). Identificação do pico: (1) ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico.	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Colorações indicativas para a presença de antocianinas e antocianidinas, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas e flavononóis.....	65
Tabela 2. Colorações indicativas para a presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.....	66
Tabela 3. Porcentagem de germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e radicular (CRA) da espécie <i>L. sativa</i> , submetidas ao Extrato bruto, Hexânico, Clorofórmico, Acetato de etila, Metanólico e Testemunha da parte aérea de <i>P. maritimum</i>	68
Tabela 4. Análise fitoquímica do Extrato bruto etanólico (E.B.) e das frações de Hexano (HEX.), Clorofórmio (CLOR.), Acetato de etila (A.ETIL) e Metanol (MET.), provenientes da parte aérea de <i>P. maritimum</i>	70
Tabela 5. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato aquoso da parte aérea e radicular de <i>P. maritimum</i> e da interação entre esses fatores (ER*C).....	75
Tabela 6. Teste de média das variáveis germinação (G), comprimento radicular (CRA), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG) das espécies receptoras submetidas ao extrato aquoso da parte radicular de <i>P. maritimum</i>	74
Tabela 7. Estimativas do parâmetro a, b e c do coeficiente de determinação (R ²) do modelo log-logístico, para germinação (G), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato aquoso da parte aérea (P.A.) e radicular (R.A.) de <i>P. maritimum</i>	74
Tabela 8. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato etanólico da parte aérea e radicular de <i>P. maritimum</i> e da interação entre esses fatores (ER*C).....	83
Tabela 9. Teste de média do comprimento radicular (CRA) das espécies receptoras submetidas ao extrato etanólico da parte radicular de <i>P. maritimum</i>	84
Tabela 10. Estimativas dos parâmetros a, b e c, e do coeficiente de determinação (R ²) do modelo log-logístico, para germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e matéria seca (MS) de sementes das espécies receptoras utilizando extrato etanólico da parte aérea (P.A.) e radicular (R.A.) de <i>P. maritimum</i>	84
Tabela 11. Potencial osmótico do extrato aquoso e etanólico de <i>Paspalum maritimum</i>	93
Tabela 12. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato aquoso de <i>C. ensiformis</i> e da interação entre esses fatores (ER*C).....	117
Tabela 13. Estimativas do parâmetro a, b e c do coeficiente de determinação (R ²) do modelo log-logístico, para germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e matéria seca (MS) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato aquoso de <i>C. ensiformis</i>	117
Tabela 14. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA),	

comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato etanólico de <i>C. ensiformis</i> e da interação entre esses fatores (ER*C).....	122
Tabela 15. Estimativas do parâmetro a, b e c do coeficiente de determinação (R ²) do modelo log-logístico, para as espécies receptoras, na variável germinação (G), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato etanólico de <i>C. ensiformis</i>	123
Tabela 16. Potencial osmótico do extrato aquoso e etanólico de <i>Canavalia ensiformis</i>	12328
Tabela 17. Porcentagem de germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e radicular (CRA) da espécie <i>L. sativa</i> , submetidas ao Extrato bruto, Hexânico, Clorofórmico, Acetato de etila, Metanólico e Testemunha de <i>C. ensiformis</i>	129

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Plantas daninhas	19
2.2 Breve história da alelopatia	20
2.3 Alelopatia e seus efeitos	21
2.4 Localização e vias de liberação dos compostos alelopáticos.....	23
2.5 Formas de detecção de efeito alelopático	24
2.6 Metabólitos secundários com função alelopática	26
2.6.1 Compostos Fenólicos.....	28
2.6.2 Terpenos	29
2.6.3 Alcalóides	30
2.7 Extratos aquosos e etanólicos	31
2.8 Plantas doadoras	32
2.8.1 <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC.	32
2.8.2 <i>Paspalum maritimum</i> Trind.....	35
2.9 REFERÊNCIAS	36
3. Potencial alelopático do extrato aquoso, etanólico e análise fitoquímica de <i>Paspalum maritimum</i> Trind.....	56
RESUMO	56
ABSTRACT.....	57
3.1 INTRODUÇÃO.....	58
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3.2.1 Coleta do material e obtenção dos extratos	59
3.2.2 Curvas do potencial osmótico	62
3.2.3 Partição líquido-líquido	62
3.2.4 Variáveis avaliadas.....	63
3.2.5. Análise fitoquímica	65
3.2.6 Análise estatística	66
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.3.1 Partição Líquido-Líquido	68
3.3.2 Análise Fitoquímica.....	69
3.3.3 Extrato Aquoso	73
3.3.4 Extrato etanólico.....	82
3.3.5 Potencial Osmótico.....	92
3.4 CONCLUSÕES.....	94
3.5 REFERÊNCIAS	95
4. Potencial alelopático e identificação dos metabólitos secundários em extratos de <i>Canavalia ensiformis</i> L.	106
RESUMO.....	106
ABSTRACT.....	107
4.1 INTRODUÇÃO.....	108
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	109
4.2.1 Coleta do material e obtenção dos extratos	109
4.2.2 Curvas do potencial osmótico	112
4.2.3 Partição líquido-líquido	112
4.2.4 Variáveis analisadas.....	113
4.2.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	114

4.2.6 Análise estatística	115
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	116
4.3.1 Extrato Aquoso	116
4.3.2 Extrato etanólico.....	122
4.3.3 Potencial Osmótico.....	127
4.3.4 Partição líquido-líquido	129
4.3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	130
4.4 CONCLUSÕES.....	139
4.5 REFERÊNCIAS	140

1. INTRODUÇÃO GERAL

A interferência que as plantas daninhas exercem nas culturas de interesse econômico é um dos principais problemas da agricultura moderna. Devido sua agressividade, essas plantas afetam a eficiência do uso da terra, sendo o principal componente dos custos de manutenção de lavouras e pastagens, causando perdas na produção, redução da qualidade do produto agrícola e disseminação de pragas e doenças.

Dada sua relevância, as plantas daninhas sempre desempenharam um importante papel em toda a domesticação de plantas cultivadas, que exigiam constantemente o desenvolvimento e aperfeiçoamento dos métodos de controle. Apesar da contribuição significativa dos métodos convencionais de controle de plantas daninhas, químico, físico e mecânico, na melhoria da produtividade das culturas, certos desafios também estão associados a eles, tornando cada vez mais necessário o uso de opções de manejo diversificadas.

A supressão de plantas daninhas através do aproveitamento do fenômeno alelopático está incluído entre os métodos de controle inovadores importantes. A definição mais ampla de alelopatia foi proposta pela Sociedade Internacional de Alelopatia como um processo envolvendo metabólitos secundários produzidos pelas plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos (IAS, 1996).

Além de contribuir na busca por novas moléculas de herbicidas, os efeitos alelopáticos podem diminuir o uso de herbicidas sintéticos, possibilitando ainda o manejo e controle das plantas daninhas por meio de rotação de culturas e sistemas adequados de semeadura entre espécies. É certo que o conhecimento detalhado das reações alelopáticas das plantas permite melhorar o manejo da produção agrícola. Um grande número de moléculas biológicas dentre diversos grupos químicos pode exibir atividade alelopática. É notório que em sua maioria os aleloquímicos são produtos do metabolismo secundário, com algumas exceções de metabolismo primário (ALBUQUERQUE et al., 2011).

A existência da alelopatia pode ser comprovada por meio do monitoramento do efeito deste produto sobre as principais funções das plantas receptoras. As pesquisas neste sentido têm permitido concluir que os metabólitos secundários interferem em muitos dos processos fisiológicos da planta, como a germinação das sementes e no crescimento das plantas. A partir dessas evidências, são realizados estudos para identificar os compostos envolvidos neste processo. Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos nos últimos anos para estudar plantas com possível potencial alelopático, dentre elas, a espécie *Canavalia ensiformis* (L.) DC,

popularmente conhecida como feijão-de-porco, tem sido relatada como uma importante cultura com efeitos alelopáticos (COSTA; PESSANHA; DUQUE, 1996; SOUZA FILHO, 2002; FONTANÉTTI et al., 2004; SANTOS et al., 2005; MENDES; REZENDE, 2014). Além disso, a busca por espécies com esse potencial deve ser uma constante e nesse sentido, *Paspalum maritimum* Trind., conhecida como capim-gengibre, pode se destacar, uma vez que é umas das espécies de planta daninha que se notabilizam pela alta capacidade de invadir as áreas cultivadas, formando verdadeiras colônias puras, dominando rapidamente a área, apresentando possível efeito alelopático (SOUZA FILHO, 2006; SOUZA FILHO; MOURÃO, 2010).

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial alelopático dos extratos aquosos e etanólicos de *Paspalum maritimum* Trind. e *Canavalia ensiformis* (L.) DC., bem como realizar o estudo fitoquímico de *P. maritimum* e a identificação dos metabólitos secundários de *C. ensiformis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas daninhas

Historicamente, o desenvolvimento da atividade agrícola é limitado pelo aparecimento de uma comunidade de plantas extremamente agressiva e diversificada, conhecidas como plantas daninhas. Essas plantas impõem perdas expressivas à produção e reduzem a lucratividade e a capacidade competitiva dos empreendimentos agrícolas. Elas são os principais problemas de ordem econômica a restringir os investimentos agropecuários e representam o principal componente dos custos e manutenção das lavouras e pastagens (SOUZA FILHO, 2014).

Em termos simples, uma planta pode ser considerada daninha se estiver direta ou indiretamente prejudicando determinada atividade humana (CONCENÇO et al., 2014). Durante o processo de evolução das plantas daninhas, diversos mecanismos lhe conferiram alta agressividade. Além dos mecanismos de agressividade, mecanismos de sobrevivência foram aprimorados, permitindo que essas espécies persistam no ambiente mesmo em situações adversas (CONCENÇO et al., 2014).

Quando se observam as áreas agrícolas, pastagens ou reflorestamentos, os efeitos negativos que ocorrem no crescimento, desenvolvimento e produtividade da planta cultivada, em virtude da convivência com as plantas infestantes, não deve ser atribuído exclusivamente a competição imposta por essas últimas, mas são em última análise, resultado de pressões ambientais que são direta (competição, alelopatia, interferência na colheita e outras) ou indiretamente (hospedeiro alternativos de pragas e moléstias e outras) ligadas às suas presenças nos ambientes agrícolas (PITELLI, 2014).

As plantas daninhas sempre desempenharam um papel em toda a domesticação de plantas cultivadas que exigiam práticas de controle (ZIMDAHL, 2013). Ao longo do tempo, ferramentas manuais foram desenvolvidas para cultivar o solo e também com a finalidade de controlá-las. Capinar ou roçar, estavam entre os antigos métodos de controle (YOUNG et al., 2014). A diminuição da disponibilidade e o aumento do custo com mão de obra estão entre os principais desafios na capina manual (CARBALLIDO et al., 2013; GIANESSI, 2013). O controle mecânico requer o revolvimento do solo, o que pode perturbar a estrutura, diminuir sua fertilidade, além de possuir um custo elevado e pouca durabilidade (BOND e GRUNDY, 2001; SMITH et al., 2011).

O controle químico tem sido uma ferramenta efetiva no manejo dessas espécies indesejáveis, ajudando a manter baixa a infestação e, assim, favorecer a produção da cultura

de interesse econômico. Contudo, o uso indiscriminado de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação resulta no surgimento de espécies resistentes (LLWELLYN e POWLES, 2001; POWLES, 2008; FAROOQ et al., 2011; ANNETT et al., 2014; STARLING et al., 2014). É cada vez maior a necessidade de descoberta de novas moléculas de herbicidas, visto que o número de espécies resistentes aos compostos tradicionais está aumentando (INDERJIT e BHOWMIK, 2002).

A incorporação de substâncias com atividade alelopática na agricultura pode também reduzir a poluição ambiental e aumentar a produção agrícola através do manejo sustentável de plantas daninhas (PARVEZ et. al., 2003; SODAEIZADEH et al., 2009). Os compostos naturais têm várias vantagens sobre os compostos sintéticos, como maior solubilidade em água, ausência de moléculas halogenadas e menor meia vida (DUKE et al, 2000).

Assim, na agricultura, as plantas que possuem potencial alelopático podem ter várias utilizações para o controle das plantas daninhas, bem como contribuir na busca por defensivos agrícolas; compreensão do antagonismo de cultivo consorciado; diminuição do uso de herbicidas sintéticos, manejo e controle das plantas daninhas por meio de rotação de cultivos e sistemas adequados de semeadura entre espécies (MALLIK e OLOFSDOTTER, 2001; VENZON; PAULA JÚNIOR; PALLINI, 2005).

2.2 Breve história da alelopatia

A capacidade de algumas espécies afetarem o desenvolvimento de outras plantas tem sido relatada desde a antiguidade. Singh, Batish, Kohli (2001) relatam que diversas referências históricas na literatura apontam os efeitos de uma planta sobre outras através da liberação de substâncias químicas no ambiente, desde Theophrastos, o pai da botânica, 300 a.C., ao observar que o grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) causava efeito prejudicial em outras plantas. Desde então, muitos autores descrevem várias espécies que provocam interferências em plantas (SCHREINER e REED, 1907; MASSEY, 1925; SOUZA et al., 2006; GATTI et al., 2010; INOUE et al., 2010; SUWITCHAYANON e KATO-NOGUCHI, 2014; FIORENZA et al., 2016).

Contudo, segundo Putnam e Duke (1978) e Rice (2013), foi a partir de 1937 que o termo alelopatia começou a ser usado por Molish, para descrever qualquer interação bioquímica entre plantas e microorganismos, positivas ou negativas. Segundo Singh, Batish, Kohli (2001), Hans Molish adotou o termo alelopatia derivado de duas palavras gregas: *allelo* (mútuo) e *pathos* (prejuízo). Esses autores relatam ainda que os trabalhos no campo da

alelopatia pouco avançaram no período pós-Molish até a década de 60, quando Muller e seus colaboradores (MULLER, MULLER e HAINES, 1964; DEL MORAL e MULLER, 1969; CHOU e MULLER, 1972) realizaram alguns trabalhos pioneiros e clássicos na Califórnia. Mais tarde Rice em 1984, revolucionou este campo com seus trabalhos científicos e exaustivos escritos. Devido ao interesse de vários pesquisadores por esse tema, a alelopatia é uma ciência interdisciplinar com múltiplas abordagens (INDERJIT, DAKSHINI e FOY, 1999).

Além da descrição do significado de alelopatia abordada por Molish, outros autores também deram diversas definições. Szczepanski (1977) definiu alelopatia como a interferência provocada por substâncias químicas produzidas por certos organismos e que, no ambiente, afetam outros componentes da comunidade. Putnam e Duke (1978) consideram alelopatia como efeitos prejudiciais de plantas de uma espécie (doadora) na germinação, no crescimento e no desenvolvimento de plantas de outras espécies (receptoras). Alelopatia é definida pela Sociedade Internacional de Alelopatia (IAS, 1996) como um processo envolvendo metabólitos secundários produzidos pelas plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos. Rice (2013) relata que alelopatia pode ocorrer entre microorganismos, entre microorganismos e plantas, entre plantas cultivadas ou entre plantas daninhas e plantas cultivadas.

2.3 Alelopatia e seus efeitos

A alelopatia está fortemente relacionada às interações planta-ambiente (BLANCO, 2007). Macías et al. (2007) relatam que o fenômeno alelopático desempenha importante papel nos agroecossistemas e leva a ampla gama de influências e interações nas comunidades bióticas. A interferência sobre o desenvolvimento de outras plantas pode ser indireta, por meio da transformação química e ou biológica dessas substâncias no solo, e pela atividade de microorganismos (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Tais influências e interações são principalmente consequência da liberação de aleloquímicos das plantas doadoras, que geralmente tem efeitos nocivos sobre as plantas receptoras, mas se constituem em vantagem seletiva para o doador. Esse mecanismo de defesa das plantas foi adquirido ao longo de um processo de evolução e influencia direta e indiretamente as plantas vizinhas (CHOU, 2006).

Os efeitos alelopáticos são produzidos por diferentes metabólitos secundários. Esses metabólitos têm sido identificados molecularmente, através de métodos de extração, isolamento, purificação e identificação (FERREIRA e ÁQUILA, 2000). Assim, eles podem ser fontes potenciais de herbicidas, sendo utilizados no controle de plantas daninhas. O

conhecimento sobre os metabólitos secundários sugere que eles atuam em conjunto, ao invés de um único composto principal, e têm mais de uma função (BELZ, 2007). Sua natureza química é muito diversa e alguns só atuam quando em presença de outros, em combinações e proporções específicas (ALMEIDA, 1988). Existem ainda substâncias que precisam passar por alterações para se tornarem aleloquímicas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

De acordo com Miller (1996), o efeito alelopático pode ser classificado em dois tipos: sendo um a autotoxicidade, que é um mecanismo intraespecífico de alelopatia que ocorre quando uma espécie de planta libera determinada substância química e esta inibe ou retarda a germinação e o crescimento de plantas da própria espécie; e o outro a heterotoxicidade, ocorre quando uma substância com efeito fitotóxico é liberada por determinada planta afetando a germinação e o crescimento de plantas de outra espécie.

Os aleloquímicos liberados pela espécie doadora podem interferir em vários processos fisiológicos da espécie receptora, tais como a divisão e alongamento celular (ZHANG et al. 2010; SILVA; OVERBECK; SOARES, 2014), respiração (HEJL e KOSTER, 2004; MARTINEZ-OTERO; GONZÁLEZ; REIGOSA, 2005; MUSHTAQ; SUNORARA; MATSUMOTO, 2013), fotossíntese (QIAN et al., 2009), estrutura e permeabilidade da membrana celular (CHOU, 1999; REIGOSA; SANCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZALES, 1999), afetando a absorção de nutrientes minerais (FAGERIA e STONE, 2006), síntese proteica, lipídica e de ácidos graxos (FERREIRA; MEDEIROS; SOARES, 2008), atividade enzimática, entre outros (WEIR; PARK; VIVANCO, 2004, ZHOU e YU, 2006). Estas perturbações fisiológicas em escala celular podem explicar a inibição, ou o estímulo, das principais fases de desenvolvimento das plantas, tais como germinação (PRATI e BOSSDORF, 2004; FERREIRA, 2004; KADIOGLU; GNIAZDOWSKA e BOGATEK 2005; ABHILASHA et al., 2008; DASTAN et al., 2014), florescimento e frutificação (KROHN e FERREE, 2005). Segundo Pedrol et al. (2006), a inibição da germinação das sementes e do crescimento inicial das plântulas é a etapa mais afetada e os efeitos fisiológicos causados por interações alelopáticas são respostas secundárias de efeitos primários que ocorrem no metabolismo das plantas.

Além desses fatores, há relatos na literatura que os aleloquímicos exercem efeitos nas espécies receptoras induzindo o estresse oxidativo, devido a formação de espécies reativas de oxigênio (como o H_2O_2), que atuam de forma direta ou como sinalizadores nos processos de degradação celular, gerando efeitos danosos a processos fisiológicos vitais, alterando o desenvolvimento e uniformidade da cultura (BAIS et al., 2003; BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007; ALMEIDA et al., 2008; DA SILVA et al., 2012).

2.4 Localização e Vias de liberação dos compostos alelopáticos

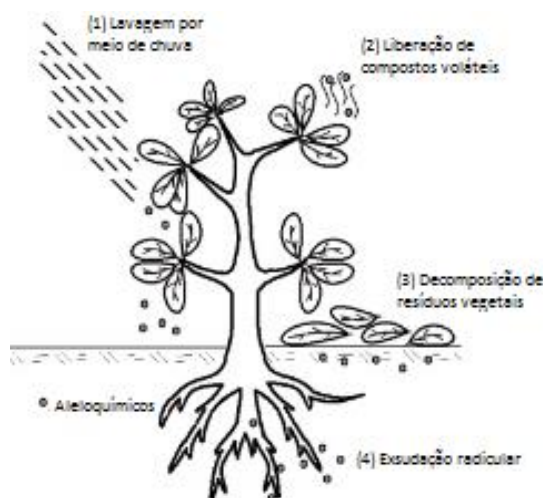
Aleloquímicos podem ser encontrados em diferentes concentrações e em várias partes de plantas, como nas folhas, caules, raízes, rizomas, sementes, flores e pólen (GATTI; PEREZ; LIMA, 2004; KRUSE; STRANDBERG; STRANDBERG, 2000; GUSMAN et al., 2011). A quantidade e o caminho de liberação no ambiente variam entre as espécies (TAIZ e ZEIGER, 2013). Em algumas plantas a liberação de aleloquímicos em concentrações ativas só começa após a planta atingir um determinado estágio de crescimento (INDERJIT, 1996).

As folhas das plantas são os órgãos mais ativos metabolicamente, e por isso, provavelmente apresentam maior diversidade de aleloquímicos (DORNING e CIPOLLINI, 2006; RIBEIRO et al. 2009). Jacobi e Ferreira (1991) encontraram efeitos alelopáticos mais efetivos nos extratos de folhas de *Mimosa bimucronata*. Aires, Ferreira e Borghetti (2005) trabalhando com *Solanum lycocarpum*, também chegaram a essa conclusão. Há outros trabalhos que relataram maior efeito alelopático da parte aérea comparado a parte radicular da planta (TAWAHA e TURK, 2003; RIBEIRO et al., 2009). Moameri, Khalali e Tavili (2011) observaram que o extrato da parte aérea de *Haloxylon aphyllum* apresentou maior potencial alelopático comparado ao extrato da parte radicular, possivelmente devido a maior concentração de aleloquímicos nas folhas.

Borges, Silva e Lopes (1994) também afirmam que todos os órgãos da planta possuem potencial para armazenar aleloquímicos, mas a natureza química e a quantidade podem variar com a idade e o órgão da planta, além de outros fatores. Por isso, as espécies apresentam diferentes respostas alelopáticas de compostos de diferentes órgãos de uma mesma planta, como já constataram Gatti et al. (2010), em *Aristolochia esperanzae* (Aristolochiaceae), Souza Filho et al. (2010), em três espécies de *Copaifera* (Leguminosae), Coelho et al. (2011), em *Ziziphus joazeiro* Mart (Rhamnaceae).

Albuquerque et al. (2011) apresentam as vias conhecidas de liberação dos aleloquímicos consistem da deposição das folhas sobre a superfície do solo e exsudação dos compostos por meio de lavagem por chuvas (1); exsudação dos compostos voláteis de partes verdes da planta (2); decomposição de resíduos vegetais (por exemplo, serapilheira ou raízes mortas) (3); e exsudação radicular (4) (Figura 1).

Figura 1. Possíveis vias de liberação dos aleloquímicos no ambiente (adaptado de ALBUQUERQUE et al., 2011).



Para causar algum efeito nas espécies receptoras, a liberação dos aleloquímicos deve ocorrer de forma contínua, de modo que os efeitos persistam até as culturas subsequentes (RODRIGUES et al., 1999). Os microrganismos do solo podem transformar rapidamente os compostos liberados, desativando-os ou dando origem a compostos de efeito alelopático mais potentes ligados à matriz do solo (BATISH et al., 2008; KAUR et al., 2009; ZHU; ZHANG; MA, 2011).

Diferente dos herbicidas, os aleloquímicos são fitotoxinas geralmente fracas que exercem os seus efeitos em baixas concentrações, mas constantes ou crescentes durante longos períodos (DUKE, 2015). Uma vez que esses aleloquímicos estão disponíveis no ambiente, há algumas hipóteses sobre como eles podem ser transferidos para a planta alvo. Eles podem ser transferidos pelo contato célula-célula ou o contato físico da raiz com o composto alelopático, sendo essa a forma de absorção mais importante (INDERJIT e DUKE, 2003).

2.5 Formas de detecção de efeito alelopático

Ao longo dos anos, pesquisadores vêm elaborando formas de comprovar a existência da alelopatia e dos compostos envolvidos neste processo. Wardle (1987) listou cinco critérios para provar a existência da alelopatia, envolvendo os seguintes pontos: 1 - as plantas sob investigação devem produzir uma toxina; 2 - as plantas devem ser capazes de liberar essa toxina para o ambiente; 3 - a concentração da toxina deve estar em níveis inibitórios; 4 - outras plantas (receptoras) devem ser susceptíveis à toxina; 5 - e os outros fatores promotores

de interferência, os quais poderiam influenciar as observações, devem ser eliminados.

Embora esses critérios sejam considerados satisfatórios pela comunidade científica, ainda assim a alelopatia precisa ser confirmada. De acordo com Wardle (1987), a única maneira de se obter essas provas é evidenciar que os compostos produzidos e liberados pela planta são absorvidos por espécies receptoras, provocando manifestações em seu desenvolvimento, podendo ser inibitório ou estimulante. Williamsom (1990) relata que uma questão importante que se deve atentar nos testes alelopáticos é que, normalmente, os efeitos alelopáticos dos extratos resultam mais das atividades sinérgicas de vários aleloquímicos do que da atividade de um produto isolado.

Uma maneira de se avaliar o modo de ação de um aleloquímico específico, seria por meio do monitoramento do efeito deste produto sobre as principais funções das plantas. As pesquisas neste sentido têm permitido concluir que os aleloquímicos interferem em muitos dos processos metabólicos primários e no sistema de crescimento das plantas. O teste mais utilizado para avaliar a atividade dos aleloquímicos é a inibição, ou algumas vezes o estímulo, da germinação de sementes. Testes de germinação são usados comumente para avaliar a sensibilidade de espécies receptoras aos aleloquímicos (KORDALI; KOTAN; ÇAKIR, 2007; PIRZAD et al., 2010; MALHEIROS et al., 2014). Globalmente estes testes seguem o mesmo método: a incubação das sementes com várias concentrações de compostos potencialmente alelopáticos e comparação do índice de velocidade de germinação e/ou a taxa de germinação (CHIAPUSIO et al., 1997).

Ferreira e Borghetti (2004) ressaltam, entretanto, que em algumas situações o efeito alelopático pode não ocorrer sobre a germinação, e sim sobre outra variável. Ferreira e Aquila (2000) também evidenciaram o fato de que a germinação é menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas. Miró et al. (1998) e Aquila (2000) observaram em seus estudos que o efeito alelopático é mais pronunciado sobre o desenvolvimento inicial de uma plântula alvo quando comparado à germinação, já que este último processo utiliza reservas da própria semente. Chiapusio et al. (1997) indicam que, apesar da porcentagem de germinação ser um índice muito utilizado, a mesma não evidencia outros aspectos do processo germinativo, por englobar apenas resultados finais, ignorando atrasos ou períodos inativos de germinação durante a avaliação.

Vários estudos de alelopatia revelam que as raízes são mais sensíveis aos aleloquímicos que a parte aérea da plântula (BAGCHI; JAIN; KUMAR, 1997; CHUNG; AHN; YUN, 2001; HAMDI.; INDERJIT; STREIBIG, 2001; RAHMAN 2006; PUNJANI; PATEL; PATEL, 2006; OLIVEIRA e CAMPOS, 2006; ERCOLI et al., 2007; BARBOSA;

PIVELLO; MEIRELLES, 2008; BORELLA et al., 2009; INOUE et al., 2010; GUSMAN; YAMAGUSHI; VESTENA, 2011; GRISI et al., 2012; NERY et al., 2013). De acordo com Chon, Coutts e Nelson (2000), as raízes são geralmente mais sensíveis as substâncias presentes nos extratos, quando comparada com outras estruturas da plântula, devido ao contato direto e prolongado das mesmas com o extrato (aleloquímico) e/ou a uma resposta fisiológica distinta entre estruturas (FERREIRA e AQUILA, 2000). A inibição do crescimento e desenvolvimento das raízes por aleloquímico pode ser devida as alterações na síntese de DNA em células do meristema apical, alteração do metabolismo mitocondrial (ABRAHIM et al., 2000) ou alterações nos índices mitóticos de células (DAYAN et al., 1999; ROMAGNI; ALLEN; DAYAN, 2000; PIRES et al., 2001; FERREIRA, 2004; IGANCI et al., 2006). O crescimento da raiz é caracterizado por altas taxas metabólicas, e por esta razão as raízes são altamente suscetíveis a estresses ambientais, tais como aleloquímicos em substrato (CRUZ - ORTEGA et al., 1998).

Ao nível celular, o aleloquímico induz a peroxidação de lipídios, afeta certas atividades enzimáticas e despolariza rapidamente a membrana da célula de raiz, o que resulta em um aumento generalizado na permeabilidade da membrana, bloqueando assim a absorção de nutrientes de plantas (SANTOS; RESENDE, 2008). De acordo com Souza Filho e Alves (2000), o efeito de extratos sobre o desenvolvimento radicular impede o desenvolvimento de plantas daninhas, favorecendo assim o crescimento de espécies de cultivo. Khanh et al. (2005) relataram que o nível mais elevado da inibição da planta por alelopatia pode ocorrer quando os níveis máximos de aleloquímicos coincidem com os estágios iniciais de desenvolvimento.

2.6 Metabólitos secundários com função alelopática

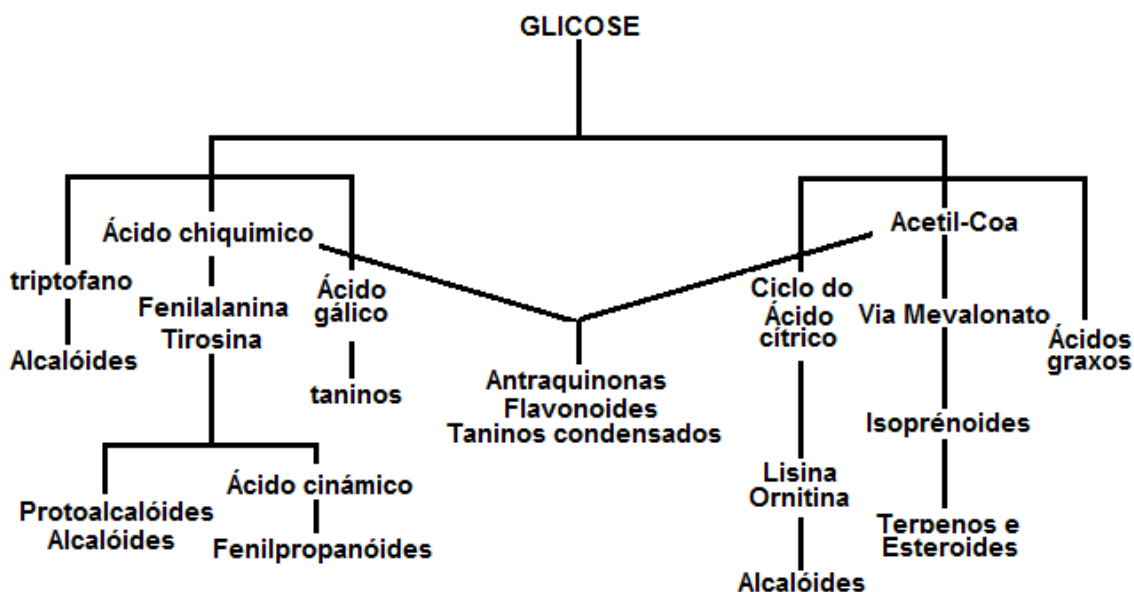
Os metabólitos secundários são sintetizados pela planta como um mecanismo de defesa quando sofre algum tipo de estresse. Os aleloquímicos são resultantes do metabolismo secundário e responsáveis por produzir os efeitos alelopáticos sobre o metabolismo de espécies receptoras (TAIZ e ZEIGER, 2013). Diferentes tipos de estresses abióticos e bióticos podem alterar a produção e liberação de aleloquímicos durante o ciclo vital de plantas. Seca, irradiação, temperatura, limitação de nutrientes, doenças e danos causados por insetos, variação sazonal tem sido apontados como fatores que afetam a biossíntese e podem causar aumento da liberação de aleloquímicos de plantas alelopáticas (EINHELLIG, 1996; VIDAL e BAUMAN, 1997; CSEKE e KAUFMAN, 2006; VIECELLI; CRUZ-SILVA, 2009). Eles são biossintetizados em organelas celulares, e estocados em estruturas especializadas (vacúolos,

parede celular, superfícies cerosas), com a finalidade de proteger os processos metabólicos da planta de seus efeitos tóxicos. Essas estruturas estão geralmente localizadas em áreas onde poderiam, provavelmente, ser efetivas na defesa dos vários órgãos das plantas (GERSHENZON e CROTEAU, 1993).

Entre indivíduos da mesma espécie, e de espécies diferentes, existe variação qualitativa e quantitativa dos metabólitos secundários (KROYMANN, 2011), sendo que as características bioquímicas e fisiológicas destes aleloquímicos dependem da atividade que desempenham na planta (WINK, 2010). Há uma grande variedade de metabólitos secundários com potencial alelopático já identificados, como os ácidos graxos, ácidos aromáticos, ácidos fenólicos, aldeídos, lactonas, cumarinas, quinonas, terpenos, sesquiterpenos, fenóis, taninos, alcalóides, flavonóides, terpenóides e esteróides, etc. (CATUNDA et al., 2002; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010, LI et al., 2010; SINGH, SAHARAN e BHANDARI, 2014). Estes metabólitos estão divididos em três principais grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides (FERREIRA e AQUILA, 2000; RICE, 2013).

Os compostos fenólicos são derivados a partir da via do ácido chiquímico e a via do ácido mevalônico, sendo esta menos significativa (SUTELA et al., 2009; BOUVIER; DOGBO; CAMARA, 2003).; os terpenos a partir de acetil CoA ou de moléculas glicosídicas como o piruvato; e a origem dos alcalóides é a partir de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptofano e lisina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). (PUTNAM, 1988; INDERJIT, 1996) (Figura 2)

Figura 2. Vias dos metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides. (adaptado de Santos, 2004).



2.6.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos, também chamados de fenóis, compreendem o maior grupo de metabólicos que foram identificados como alelopáticos, com aproximadamente 10.000 compostos (INDEJIT e DUKE, 2003; TAIZ e ZEIGER, 2009; CARMO et al., 2007). Eles possuem um anel aromático com um grupo hidroxila agregado e a maioria dos compostos fenólicos não são encontrados em estado livre na natureza, mas na forma de ésteres ou heterosídeos, sendo, portanto, solúveis em água e solventes orgânicos (SIMÕES et. al, 1999). Dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos e ligninas (SHAHIDI; NACZK, 1995; LARCHER, 2000).

Os flavonóides possuem esqueleto básico de dois anéis aromáticos unidos por uma ponte de três átomos de carbono (SIMÕES et al., 2004). São compostos polifenólicos solúveis em água e as características que definem sua classificação são baseadas na quantidade de grupos hidroxilas e presença ou ausência de cetonas. Podem ser subdivididos nas seguintes classes principais: flavonoides, flavonas, flavanonas, catequinas, chalconas, auronas, antocianinas, antocianidinas, leucoantocianinas, proantocianinas, isoflavonoides, entre outros (DORNAS et al, 2007; IBRAHIM et al., 2015). São os compostos naturais mais presentes nas plantas e possuem funções de pigmentos, atrativos ou repelentes de herbívoros, ações antimicrobianas, afetam a germinação do tubo polínico, atuam na proteção contra radiação UV, apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir a germinação e o crescimento de plantas, influenciam no transporte de auxinas; modulam os níveis das espécies reativas de oxigênio (EROS) (MACIAS et al., 1997; YANG; LAMPRECHT; LIU, 2000; SHIMOJI e YAMASAKI, 2005; HOAGLAND e WILLIAMS, 2004; BAIS et al., 2006; PEER e MURPHY, 2007; FRANCO et al., 2016). Possuem também a atividade de antioxidantes, devido a capacidade de capturar várias espécies oxidantes, como os radicais hidroxila ou peróxido (ABDELWAHED et al., 2007).

Buer e Djordjevic (2009) relataram ligação entre os flavonóides e a arquitetura da planta, demonstrando que os flavonóides mutantes podem causar alterações no crescimento da parte aérea e radicular das plantas. Não há uma definição ainda de como os flavonóides promovem essas alterações, mas há três possibilidades: efeito direto dos flavonóides em moléculas não identificadas; efeito indireto mediado pela sua habilidade em modular os níveis de auxina ou através da regulação das espécies reativas de oxigênio (EROS) (BUER et al., 2010).

Os ácidos fenólicos atuam induzindo o aumento da atividade de enzimas oxidativas, causando assim a modificação na permeabilidade da membrana e a formação de lignina,

contribuindo para a redução do crescimento radicular (BAZIRAMAKENGA; LEROUX; SIMARD, 1995; FERRARESE et al., 2000; BUBNA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Blum (1996) relatou que alguns ácidos fenólicos (ácido p-hidroxibenzóico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico) inibem a condutividade hidráulica e a absorção de nutrientes pelo sistema radicular das plantas, inibindo o desenvolvimento. Em outro estudo, Einhellig (1995) relatou que os ácidos fenólicos causam a despolarização da membrana celular, alterando o fluxo e a retenção de íons e a ação conjunta de vários ácidos fenólicos podem causar grandes danos a planta, potencializando o efeito alelopático.

Os taninos, hidrolisáveis ou condensados, são substâncias fenólicas solúveis em água, possuem elevado peso molecular e apresentam a habilidade de formar complexos insolúveis em água, sendo constituídos de unidades de açúcar, ácido gálico e derivados. São classificados de acordo com sua rota biossintética em taninos condensados, formado a partir da rota metabólica do ácido chiquímico, e taninos hidrolisáveis, derivados do metabolismo de fenilpropanoides (BRUNETON, 1991; KOLECKAR et. al, 2008; SEKOWSKI et. al, 2014). Segundo Zucker (1983), os taninos hidrolisáveis são os responsáveis pela defesa das plantas contra os herbívoros e os taninos condensados a assegurar a defesa contra microrganismos patogênicos. Sua utilização é como inseticidas e repelentes, pois formam complexos proteicos difíceis de serem digeridos por herbívoros (SIMÕES, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2009). Podem ser alelopáticos também (EINHELLIG, 2004; MONTEIRO et al., 2005). Há estudos que relatam que os taninos reduziram a germinação e o crescimento da parte aérea e raízes de *Parthenium hysterophorus*, possuindo potencial alelopático (JAVOID e SHAH, 2007).

2.6.2 Terpenos

Os terpenos estão entre as classes de produtos naturais de ampla ocorrência em plantas superiores (COLOMA et al., 2011), podendo ser encontrados também em organismos marinhos, algas, microorganismos e fungos (HILL e CONNOLLY, 2005). Entre a grande variedade de metabólitos secundários encontrados nas plantas, os fenólicos e terpenóides possuem a maior parte dos compostos com atividades alelopáticas identificados. Apresentam uma grande diversidade estrutural derivada da junção cabeça-cauda de unidades de cinco átomos de carbonos chamadas de unidades isoprênicas, sendo que a junção de duas, três, quatro, cinco, seis e oito unidades isoprênicas são chamadas de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos, triterpenos e tetraterpenos, respectivamente. (DZUBAK et al., 2006; DEGENHARDT; KÖLLNER; GERSHENZON, 2009). Dentro dos triterpenóides, foram

encontradas substâncias que compreendem mais de 4000 compostos identificados com atividade biológica, sendo subdivididos em: triterpenóides livres, triterpenóides glicosilados (saponinas), fitoesteróides e/ou seus precursores (DZUBAK et al., 2006).

Os hormônios vegetais, giberelina e ácido abscísico (ABA), são compostos por terpenos. A maioria das plantas produz e emite um grande número de terpenos, que por serem voláteis, ajudam as plantas a atrair agentes polinizadores, atuam na defesa vegetal contra fitopatógenos e herbívoros, além de possuírem efeitos inibitórios sobre a germinação de plantas (BARUAH et al., 1994; MAHMOUD, CROTEAU, 2001; HEMMERLIN et al., 2003; INDEJIT e DUKE, 2003; YANG et al., 2013; CARMO; LIMA; TAKAKI, 2007; EBRAHIMI et al., 2008). Abdelgaleil e Hashinaga (2007), verificaram que os sesquiterpenos isolados de *Magnolia grandiflora*, inibiram a germinação das espécies *Triticum aestivum*, *Lactuca sativa*, *Raphanus sativus* e *Allium cepa*, demonstrando assim seu potencial alelopático no controle de plantas.

As saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. Sua estrutura é composta por uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra parte hidrofílica (açúcares), que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e, conseqüentemente, a capacidade de ligação a membranas celulares, afetando o funcionamento celular. São conhecidas por apresentarem funções como regulação de crescimento e defesa contra insetos e patógenos (RIZVI e RIZVI, 1992; KOKATE, 1999). As saponinas, por sua vez, podem interagir com as membranas celulares e afetar o processo fotossintético, entre outros efeitos negativos (WEIR et al., 2004). Marchaim, Werker e Thomas (1994) relataram que as saponinas reduziram a taxa respiratória das sementes de algodão, devido a menor difusão do oxigênio através do tegumento, inibindo sua germinação.

2.6.3 Alcalóides

Os alcalóides são um grupo de compostos orgânicos cíclicos, de origem vegetal ou microbiana, contendo, pelo menos, um átomo de nitrogênio em um anel da molécula, formando um grupo diverso de baixo peso molecular. São alcalinos e solúveis em água. Possuem mais de 12.000 estruturas já descritas, ficando atrás apenas dos terpenóides. Essa classe de metabólitos é famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos e alucinógenos (SIMÕES, 1999; PERES, 2004). De acordo com Rice (1984), vários alcalóides são relatados com função de defesa vegetal, contra herbívoros e patógenos (nicotina e esticnina, por exemplo), capazes de inibir o crescimento de bactérias, são tóxicos para alguns invertebrados,

possuem ação farmacêutica (morfina, cocaína, codeína, escapolamina), além de serem alelopáticos (GUERRA e NODARI, 2001; BLUM, 2004).

2.7 Extratos aquosos e etanólicos

A demonstração dos efeitos alelopáticos tem sido feita experimentalmente por meio da aplicação de extratos de uma planta em sementes ou plântulas de outras espécies. Várias são as técnicas para extrair os aleloquímicos. A polaridade dos solventes deve ser considerada, pois diferentes tipos de solventes utilizados para extrair determinado composto químico são baseados na solubilização do composto com os solventes de polaridades semelhantes (NCUBE; AFOLAYAN; OKOH, 2008). Normalmente, estas substâncias são extraídas de partes vegetais trituradas e colocadas em contato com um solvente orgânico (álcool, acetona, clorofórmio, acetato de etila, éter, etc) ou água, obtendo-se, após filtragem, o extrato contendo os compostos alelopáticos (PIRES e OLIVEIRA, 2011).

Gholami, Faravani e Kashki (2011) avaliando o efeito do extrato aquoso da parte aérea e raiz de *Satureja hortensis* (Lamiaceae) e *Artemisia kopetdaghensis* (Asteraceae), observaram efeito inibidor significativo sobre a germinação e crescimento da parte aérea e radicular de *P. oleraceae*. Zhi-Cong et al. (2016) constataram que o efeito alelopático do extrato aquoso de *Wedelia trilobata* (Asteraceae) em sementes de *Lactuca sativa* (Asteraceae) e *Eupatorium catariun* (Asteraceae), inibiu a germinação e diminuiu o comprimento das plântulas conforme o aumento da concentração. Ito et al. (2015) avaliando a sensibilidade da *Digitaria insularis* ao extrato aquoso de *Triticum* sp. observaram que houve inibição da germinação, porém o comprimento de plântulas não foi afetado. Parente, Parente Filho e Silva (2015) avaliaram a atividade alelopática dos extratos aquoso e etanólico obtidos a partir de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) na germinação de *L. sativa* e *Lycopersicon esculentum* Mill, e verificaram que os parâmetros germinativos não foram influenciados pela aplicação do extrato aquoso, no entanto, quando utilizado extrato etanólico, houve efeitos adversos no processo de germinação das espécies receptoras.

Acredita-se que o efeito inibitório de extratos vegetais na germinação de sementes ou no crescimento inicial é causado por aleloquímicos, mas existe também a possibilidade de que os extratos possam exercer efeitos osmóticos negativos sobre as espécies receptoras, o que poderia interferir na germinação e crescimento das plântulas.

Os solutos presentes no extrato podem alterar a propriedade da água, resultando numa pressão osmótica diferente de zero na solução (VILLELA; DONI FILHO; SIQUEIRA, 1991). Assim, o controle da concentração de solutos dos extratos é fundamental na realização de

ensaios alelopáticos, pois podem haver neles substâncias como açúcares, aminoácidos, entre outros, que podem influenciar na concentração iônica e ser osmoticamente ativos (FERREIRA e BORGHETTI, 2004) e, assim, mascarar o fenômeno alelopático (FERREIRA e AQUILA, 2000). Gatti et al. (2004) recomendam que o potencial osmótico dos extratos envolvendo testes de germinação não ultrapasse -0,2 MPa.

2.8 Plantas doadoras

Diversos trabalhos foram desenvolvidos nos últimos anos para estudar espécies vegetais com potencial alelopático (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005; SOUZA FILHO, 2006; ARANITI et al., 2012; NERY et al., 2013; MALHEIROS, et al., 2014; PARENTE et al. 2015; FIORENZA et al., 2016). Pirzad et al. (2010) observaram que a taxa de germinação, comprimento de parte aérea e radicular, e matéria seca de *P. oleraceae* foram influenciadas pelos diferentes tipos de extrato aquoso da parte aérea de *Salvia officinalis* (Família: Lamiaceae) e *Artemisia sieberi* (Família: Asteraceae). Para essas espécies, a maior porcentagem de inibição da germinação foi com a concentração de 15 e 20%, respectivamente, mostrando que, dependendo da espécie doadora, há diferença na concentração necessária para mostrar o efeito alelopático nas espécies receptoras.

Diferenças de sensibilidade das espécies receptoras, quando submetidas ao extrato das espécies doadoras, são comuns em trabalhos verificando alelopatia (DELACHIAVE et al., 1999; HOFFMANN et al., 2007; ALMEIDA et al., 2008; MARINOV-SERAFIMOV, 2010). Marinov-Serafimov (2010) relatou diferenças na inibição das espécies receptoras de plantas daninhas quando submetidas a extratos de leguminosas.

2.8.1 *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

Canavalia ensiformis, conhecida comumente como feijão-de-porco, é uma planta da família Fabaceae muito cultivada como adubação verde, suas raízes possuem associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio (BLUM, 1995; CAVALCANTI, 2011). É bastante cultivada em regiões quentes, com climas tropical e subtropical, sendo encontrada em sua forma silvestre nas Antilhas e zonas tropicais africanas e asiáticas. Adapta-se a solos argilosos e também arenosos, incluindo os que têm baixos teores de fósforo (CALEGARI, 1995).

É uma planta arbustiva de ciclo vegetativo anual. Embora sua forma de crescimento seja rasteira ou trepadora, as plantas podem atingir até um metro de altura. Possui folhas

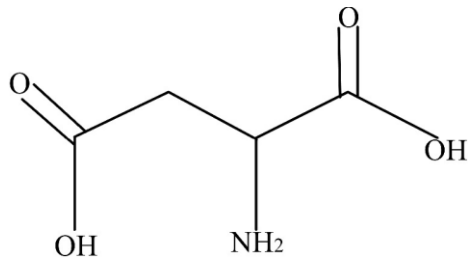
alternadas trifolioladas, com folíolos grandes em forma elíptica oval, de cor verde escura brilhante e nervuras salientes. A inflorescência é composta por flores grandes, apresentando corola de cor violeta ou roxa; vagens são achatadas, largas e compridas, contendo de 4 a 18 sementes brancas (RODRIGUES et al., 2004).

Santos et al. (2005) avaliaram o potencial alelopático de extratos obtidos de folhas de *C. ensiformis* sobre a germinação de sementes de *Cassia tora*, *Mimosa pudica* e *Cassia occidentalis*, concluindo que tal leguminosa apresenta forte potencial alelopático. Souza Filho (2002), ao analisar o efeito do extrato hidroalcolólico de *C. ensiformis* sobre a germinação de sementes e alongamento de radícula de *Mimosa pudica*, *Urena lobata*, *Senna obtusifolia* e *Senna occidentalis*, também observou efeito alelopático para estas espécies, pois houve inibição da germinação e do crescimento radicular. Fontanétti et al. (2004), utilizando-a como adubo verde para suprimir plantas espontâneas em lavoura com *Lactuca sativa* e *Brassica oleracea*, relataram que *C. ensiformis* destacou-se no controle de *Cyperus rotundus*. Em outro trabalho, Costa, Pessanha e Duque (1996), testando o extrato de *C. ensiformis*, verificaram que foi essa espécie que mais prejudicou o sistema radicular de *Phaseolus vulgaris* L.

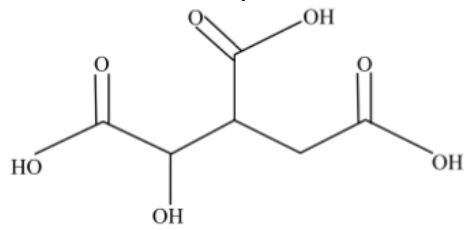
Mendes e Rezende (2014), ao aplicarem o extrato aquoso das folhas e sementes de *C. ensiformis* em soja transgênica e convencional, e nas plantas daninhas (*Ipomoea grandifolia* e *Commelina benghalensis*), em pós emergência, verificaram que as concentrações a partir de 25 g L⁻¹, mostraram eficiência como bioherbicida, sendo seletivo, pois não afetou as cultivares de soja. Estes mesmos autores revelaram a presença de ácido p-anísico, ácido clorogênico, rutina e naringina em folhas de *C. ensiformis*.

Há relatos na literatura dos seguintes metabólitos secundários identificados para essa espécie, tais como o ácido aspártico, ácido caféico, ácido cítrico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido maleico, ácido malônico, ácido oxálico, ácido p-anísico, atropina, genisteína, kaempferol, naringina, quercetina e rutina (SANTOS; MORAES; REZENDE, 2007; MENDONÇA, 2008; MENDES e REZENDE, 2014). As fórmulas estruturais de alguns desses metabólitos secundários estão demonstradas na Figura 3.

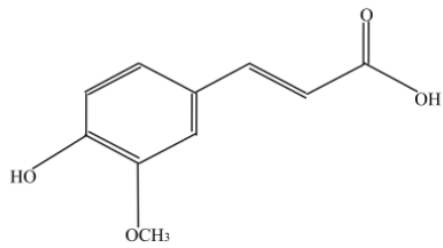
Figura 3. Metabólitos secundários identificados em *C. ensiformis*.



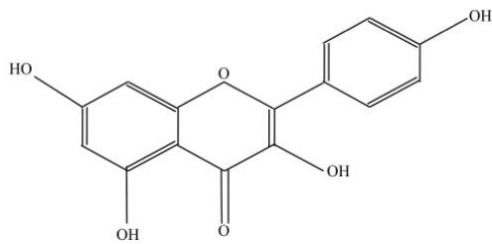
Ácido aspártico



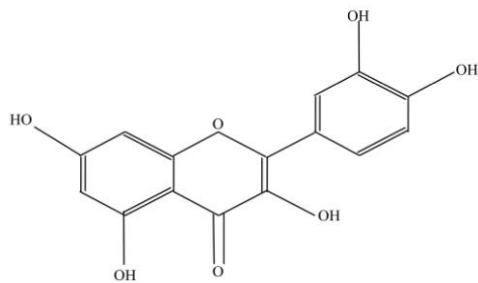
Ácido cítrico



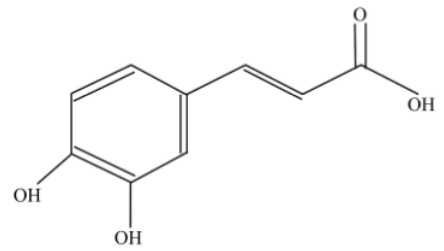
Ácido ferúlico



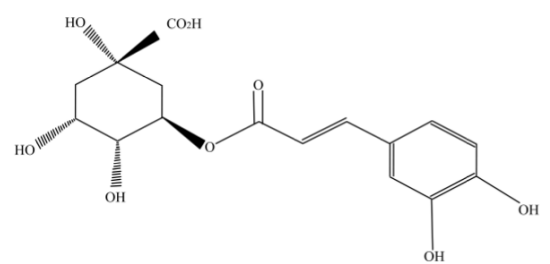
Kaempferol



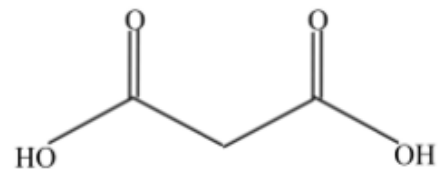
Quercetina



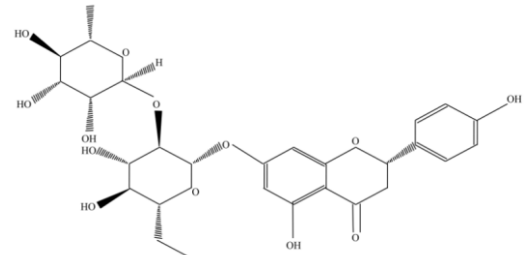
Ácido caféico



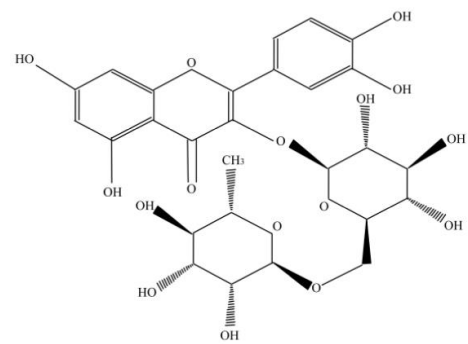
Ácido clorogênico



Ácido malônico



Naringina



Rutina

2.8.2 *Paspalum maritimum* Trind.

Paspalum maritimum Trind., conhecida popularmente como capim-gengibre, pertencente à família Poaceae, é uma das espécies de planta daninha que se notabilizam pela alta capacidade de invadir as áreas cultivadas, formando verdadeiras colônias puras, dominando a área em poucos anos. É uma espécie abundante, formando densas populações. Smith, Wasshausen e Klein, (1982) relataram que é uma planta com excelente crescimento e folhagem tenra, possuindo resistência ao pisoteio, fogo e seca. Encontrada em solos arenosos ou húmidos, dunas, campos antropizados, em relevo plano a levemente ondulado. Ocorre nas Antilhas (Cuba), Colômbia e ao longo da costa atlântica, até o sul do Brasil (JUDZIEWICZ, 1990).

Sua floração ocorre no período compreendido entre março a agosto. O fato de se multiplicar tanto por sementes como por partes vegetativas e apresentar alta capacidade para vegetar em condições de solos ácidos e de baixa fertilidade natural, confere a essa espécie, adicional vantagem competitiva em relação às outras espécies, possibilitando a sua expansão. Souza Filho (2006) demonstrou que os compostos produzidos pelo *P. maritimum*, impedem a germinação e o desenvolvimento de outras espécies (receptoras), restringindo o fluxo de novos indivíduos para a área de pastagem, comprometendo assim a renovação das demais espécies de plantas.

Os indícios dos efeitos alelopáticos dessa espécie foram relatados por Souza Filho e Mourão Jr (2010), que, comparando os efeitos alelopáticos da parte aérea e raiz de *P. maritimum* sobre as espécies *Mimosa pudica*, *Senna obtusifolia*, *Pueraria phaseoloides* e *Brachiaria brizantha*, verificaram que houve maior inibição da germinação dessas espécies para a parte aérea, e a parte radicular provocou uma maior inibição do comprimento radicular das plântulas.

Há poucos trabalhos relatando os metabólitos secundários presentes em *P. maritimum*. Correa (2010), verificou a presença de metabólitos secundários nas folhas de *P. maritimum* pertencentes a classe dos flavonóides (flavona tricina) e esteróides (α -espinasterol e sitosterol), e ao avaliar o efeito alelopático da flavona tricina sobre *Mimosa pudica*, *Senna obtusifolia* e *Pueraria phaseoloides*, verificou que essa substância química apresentou efeito alelopático, pois inibiu a germinação e o crescimento das plântulas dessas espécies daninhas.

2.9 REFERÊNCIAS

- ABDELGALEIL, S.A.M.; HASHINAGA, F. Allelopathic potential of two sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 737-742, 2007.
- ABDELWAHED, A.; BOUHLEL, I.; SKANDRANI, I.; VALENTI, K.; KADRI, M.; GUIRAUD, P.; STEIMAN, R.; MARIOTTE, A.M.; GHEDIRA, K.; LAPORTE, F.; DIJOUX-FRANCA, M.G.; CHEKIR-GUEDIRA, L.C. Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*. Confirmation by microarray expression profiling. **Chemico-Biological Interactions**, v. 165, p.1–13, 2007.
- ABHILASHA, D.; QUINTANA, N.; VIVANCO, J.; JOSHI, J. Do allelopathic compounds in invasive *Solidago canadensis* s.l. restrain the native European flora. **Journal of Ecology**, v. 96, p.993–1001, 2008.
- ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**, v.26, p. 611-624, 2000.
- AIRES, S.S.; FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamun indicum* L.(Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasileira**, v. 19, p. 339-344, 2005.
- ALBUQUERQUE, M.; SANTOS, R.; LIMA, L.; MELHO FILHO, P.; NOGUEIRA, R.; RAMOS, C.C. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n.2, p.379-395, 2011.
- ALMEIDA, F. S. **Alelopatia e as plantas**. Londrina: IAPAR, 1988. 68 p. (Circular , 53).
- ALMEIDA, L.F. R. de et al. In vitro allelopathic potential of *Leonurus sibiricus* L. leaves. **Journal of Plant Interactions**, v.3, n.1, p. 39-48, 2008.
- ANNETT, R.; HABIBI, H. R.; HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate based herbicides on the freshwater environment.. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, p. 458-479, 2014.
- AQUILA, M.E.A. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Iheringia, Série Botânica**, v. 53, p. 51-66, 2000.

ARANITI, F.; SORGONÀ, A.; LUPINI, A.; ABENAVOLI, M.R. Screening of Mediterranean wild plant species for allelopathic activity and their use as bio-herbicides. **Allelopathy Journal**, v. 29, p. 107-124, 2012.

BAGCHI, G.D.; JAIN, D.C.; KUMAR, P.O. Arteether: a potent plant growth inhibitor from *Artemisia annua*. **Phytochemistry**, v.45, n.6, p.1131-1133, 1997.

BAIS, H.P.; VEPACHEDU, R.; GILROY, S.; CALLAWAY, R.M.; VIVANCO, J.M. Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions. **Science**, v. 301, p. 1377-1380, 2003.

BAIS, H.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S.; VIVANCO, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review Plant Biology**, v. 57, p. 233–266, 2006.

BARBOSA, E.G.; PIVELLO, V.R.; MEIRELLES, S.T. 2008. Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 825-831, 2008.

BARUAH, J.C.; SARMA, J.C.; BARUA, N.C.; SARMA, S.; SHARMA, R.P. Germination and growth inhibitory sesquiterpene lactones and a flavone from *Tzthonza dzverszfolza*. **Phytochemistry**, v. 36, p. 29-36, 1994.

BATISH, D., SINGH, H., KAUR, M., KOHLI, R., YADAV, S. Caffeine affects adventitious rooting and causes biochemical changes in the hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.). **Acta Physiologiae Plantarum**. v.30, p.401–405, 2008.

BAZIRAMAKENGA, R.; LEROUX, G.D.; SIMARD, R.R. Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 271-285, 1995.

BELZ, R.G. Allelopathy in crop/weed interactions – an update. **Pest Management Science**, v.63, p.308–326, 2007.

BLANCO, J. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. **Ecological Modelling**, v. 209, p. 65-77, 2007.

BLUM, M.S. The importance of alkaloidal functions. In: Macias, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G., Cutler, H.G. (Ed.). **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**, p. 163-182, 2004.

BLUM, U. Allelopathic interactions involving phenolic acids. **Journal of Nematology**, v. 28, p. 259-267, 1996.

BLUM, U. The value of model plant-microbe-soil systems for understanding processes associated with allelopathic interaction: one example. In: Inderjit, Dakshini KMM, Einhellig FA (eds) Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications. **American Chemical Society**, p. 127–131, 1995.

BOGATEK, R.; GNIAZDOWSKA, A. ROS and phytohormones in plant–plant allelopathic interaction. **Plant Signal Behav.**, v. 2, p. 317 – 318, 2007.

BOND, W.; GRUNDY, A. C. Non-chemical weed management in organic farming systems. **Weed Research**, v. 41, n.5, p.383-405, 2001.

BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. Sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 3, p. 260-265, 2009.

BORGES, E. E. L.; SILVA, G. F.; LOPES, E. S. Avaliação de substâncias alelopáticas em vegetação de uma floresta secundária. **Revista árvore**, v.18, n.3, p.275-286, 1994.

BOUVIER, F.; DOGBO, O.; CAMARA, B. Biosynthesis of the food and cosmetic plant pigment bixin (Annatto). **Science**, v. 300, p. 2089-2091, 2003.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Acribia: Zaragoza, 1991. 600 p.

BUBNA, G.A.; LIMA, R.B.; ZANARDO, D.Y.L.; SANTOS, W.D.; FERRARESE, M.D.L.L.; FERRARESE-FILHO, O. Exogenous caffeic acid inhibits the growth and enhances the lignification of the roots of soybean (*Glycine max*). **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p.1627–1633, 2011.

BUER, C.S.; DJORDJEVIC, M.A. Architectural phenotypes in the transparent test a mutants of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 751–763, 2009.

BUER, C.S.; IMIN, N.; DJORDJEVIC, M.A. Flavonoids: news roles for old molecules. **Jounal of Integrative Plant Biology**, v. 53, p. 98–111, 2010.

CALEGARI, A. **Leguminosas para adubação verde no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1995. (IAPAR. Circular, 80).

CARBALLIDO, J.; RODRÍGUEZ-LIZANA, A.; AGÜERA, J.; PÉREZ-RUIZ, M. Field sprayer for inter and intra-row weed control: performance and labor savings' Span. **Journal of agricultural research**, v. 11, p. 642–651, 2013.

CARMO, F. M. S.; LIMA, E.E. B.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n.3, p. 697-705, 2007.

CARVALHO, L. B. **Plantas Daninhas**, Lages, SC, 2013, v. 1, 82 p.

CATUNDA, M.G.; SOUZA, C.L.M.; MORAIS, V.; CARVALHO, G.J.A.; FREITAS, S.P. Efeitos de extratos aquosos de tiririca sobre a germinação de alface, pimentão e jiló e sobre a divisão celular na radícula de alface. **Revista Ceres**, v. 49, p. 1-11, 2002.

CAVALCANTI, N.B. Influência de diferentes substratos na emergência e crescimento de plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L.). **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 8, n. 3, p. 51-70, 2011.

CHIAPUSIO, G.; SÁNCHEZ, A.M.; REIGOSA, M.J.; GONZÁLEZ, L.; PELLISSIER, L. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process. **Journal of Chemical Ecology**, v.11, p.2445-2453, 1997.

CHON, S.U.; JENNINGS, J.A.; NELSON, C..J. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) autotoxicity: Current status, **Allelopathy J.** v. 18, p. 57–80, 2006.

CHOU, C. H. Introduction to allelopathy. In: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; González, L. (Eds). **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Springer, Dordrecht, Holanda, p.1-9, 2006.

CHOU, C. H.; MULLER, C. H. Allelopathic mechanism of *Arctostaphylos glandulosa* var. *zacaensis*. **American Midland Naturalist**, v. 88, p. 324–347, 1972.

CHOU, C.H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, p. 609-636, 1999.

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

COELHO, M.F.B.; MAIA, S.S.S.; OLIVEIRA, A.K.; DIÓGENES, F.E.P. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.108-111, 2011.

COLOMA, A. G.; BALBOA, C. L.; REINA, O. S. M.; FRAGA, B. M. Triterpene-based plant defenses. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 245-260, 2011.

CONCENCO, G.; ANDRES, A.; SILVA, A. F. Da; GALON, L.; FERREIRA, E. A.; ASPIAZU, I. Ciência das plantas daninhas: histórico, biologia, ecologia e fisiologia. In: MONQUERO, P. A. (Org.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos, SP: RiMa, 2014, p. 1-29.

CORRÊA, M. J. C. ***Paspalum maritimum* Trin.: Estudo químico, isolamento de endofíticos, biotransformações, sínteses e atividade alelopática**. 2010. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Pará, Pará.

COSTA, A.S.V.; PESSANHA, G.G.; DUQUE, F.F. Efeito dos extratos de quatro leguminosas, utilizadas como adubo verde, sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v.43, n.250, p. 792-807, 1996.

CRUZ-ORTEGA, R.; ANAYA, A.L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B.E.; LAGUNA-HERNÁNDEZ, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, p. 2039- 2057, 1998.

CSEKE, L.J.; KAUFMAN, P.B. Regulation of metabolite synthesis in plants, in: CSEKE, L.J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P.B.; WARBER, S.; DUKE, J.A.; BRIELMANN H. (Eds.). **Natural products from plants**, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 101–141, 2006.

DA SILVA, J.E. N.; OLIVEIRA E SILVA, R.G. P.; MELHORANÇA FILHO, A.L.; SILVA, C. F. C.; SILVA, M. F. Efeito alelopático de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. sobre germinação e desenvolvimento inicial de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, 2012.

DASTAN, D.; SALEHI, P.; GHANATI, F.h; GOHARI, A.R.; MAROOFI, H.; ALNAJAR, N. Phytotoxicity and cytotoxicity of disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 43–48, 2014.

DAYAN, F.E.; WATSON, S.B.; GALINDO, J.C.G.; HERNÁNDEZ, A.; DOU, J.; MCCHESENEY, J.D. ; DUKE, O. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and structural requirements. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.65, p. 15-24, 1999.

DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T.G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1621–1637, 2009.

DEL MORAL, R. ; MULLER, C. H. Fog drip: a mechanism of toxin transport from *Eucalyptus camaldulensis*. **American Midland Naturalist**, v. 83, p. 254–282, 1969.

DELACHIAVE, M. E. A.P.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Efeitos alelopáticos de losna (*Artemisia absinthium* L.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.265-269, 1999.

DORNAS, W. C; OLIVEIRA, T.T.; DORES, R.G.R.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007.

DORNING, M.; CIPOLLINI, D. Leaf and root extracts of the invasive shrub, *Lonicera maackii*, inhibit seed germination of three herbs with no autotoxic effects. **Plant Ecology**, v. 184, n. 2, p. 287-296, 2006.

DUKE, S.O. Proving Allelopathy in Crop–Weed Interactions. **Weed Science**, v. 63, p.121-132, 2015.

DZUBAK, P.; URBAN, M.; KVASNICA, M.; SAREK, J. Pharmacological Activities of Natural Triterpenoids and Their Therapeutic Implications. **Natural Product Reports**, v. 23, p. 394-411, 2006.

EBRAHIMI, S.N.; HADIAN, J.; MIRJALILI, M.H.; SONBOLI, A.; YOUSEFZADI, M. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. **Food Chemistry** .v.110, p.927–931, 2008.

EINHELLIG, F.A Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. In: Inderjit, Dakshini KMM, Einhellig FA (eds) Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications. **American Chemical Society**, p. 96–116, 1995.

EINHELLIG, F.A. Mode of action of phenolic compounds. In: Macías, F.A., Galindo, J.C.G.; Molinillo, J.M.G., Cutler, H.G. (Ed.). **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**, p. 217-238, 2004.

ERCOLI, L.; MASONI, A.; PAMPANA, S.; ARDUINI, I. Allelopathic effects of rye, brown mustard and hairy vetch on redroot pigweed, common lambsquarter and knotweed. **Allelopathy Journal**, v.19, p. 249-256, 2007.

FAGERIA, N.K.; STONE, L.F. **Qualidade do solo e meio ambiente**. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2006. (Documento / Embrapa Arroz e Feijão, 197).

FAROOQ, M.; FLOWER, K.; JABRAN, K.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H. Crop yield and weed management in rainfed conservation agriculture. **Soil and Tillage Research**, v. 117, p. 172-183, 2011.

FERRARESE, M.L.L.; SOUZA, N.E.; RODRIGUES, J.D.; FERRARESE FILHO, O. Carbohydrate and lipid status in soybean roots influenced by ferulic acid uptake. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 23, p. 421-427, 2000.

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

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

FERREIRA, A.G. Interferência: competição e alelopatia. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 16, p. 251-262.

FERREIRA, N.R.; MEDEIROS, R.B.; SOARES, G. L.G. Potencial alelopático do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p.043-050, 2008.

FIORINZA, M.; DOTTO, D.B.; BOLIGNON, A.A.; BOLIGNON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; VESTENA, S. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni). **Iheringia**, Série Botânica, v. 71, p. 193-200, 2016.

FONTANETTI, A.; CARVALHO, G.J.; MORAIS, A.R.; ALMEIDA, K.; DUARTE, W.F. Adubação verde no controle de plantas invasoras nas culturas de alface americana e de repolho. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 967-973, 2004.

FRANCO, D.M.; SALDANHA, L.L.; NETO, J.S.L.; SANTOS, L.C.; DOKKEDAL, A.L.; ALMEIDA, L.F.R. Seasonal variation in allelopathic potential of the leaves of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p.157-165, 2016.

FUERST, E.P.; PUTNAM, A.R. Separating the competitive and allelopathic components of interference. **Journal of Chemical Ecology**, v. 9, p.937–943, 1983.

GATTI, A.B.; FERREIRA, A.G.; ARDUIM, M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Allelopathic effects of aqueous extract of *Aristolochia esperanzae* O.kuntze on development of *Sesamum indicum* L. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, n.02, p. 454-461, 2010.

GATTI, A.B.; PEREZ, S.C.J.G.A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L., **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 459-472, 2004.

GERSHENZON J.; CROTEAU, R.; Terpenoid biosynthesis: the basic pathway and formation of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. In: Moore TS Jr, editor. **Lipid Metabolism in Plants**. Boca Raton, FL: CRC Press; 1993. p. 339–388.

GHOLAMI, B.A.; FARAVANI, M.; KASHKI, M.T.K. Allelopathic effects of aqueous extract from *Artemisia kopetdaghensis* and *Satureja hortensis* on growth and seed germination of weeds. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences**, v.1, n.9, p. 283-290, 2011.

GIANESSI, L.P. The increasing importance of herbicides in worldwide crop production. **Pest Management Science**, v. 69, p. 1099–1105, 2013.

GOMES, R.V.R.S.; VILELA, V.L.R.; GOMES, E.N.; MAIA, A. J.; ATHAYDE, A.C.R. Análise Fitoquímica de Extratos Botânicos Utilizados no Tratamento de Helmintos Gastrointestinais de Pequenos Ruminantes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 4, p. 172-177, 2011.

GRISI, P.U.; RANAL, M.A.; GUALTIERI, S.C.J; SANTANA, D.G. Allelopathic potential of *Sapindus saponaria* L. leaves in the control of weeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 34, p.1-9, 2012.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES et al. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2001. p. 13-26.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia**. Porto Alegre, v. 66, n. 1, p. 87 - 98, 2011.

HAMDI, B.A.; INDERJIT, O.M.; STREIBIG, J.C. Laboratory bioassay for phytotoxicity: an example from wheat straw. **Agronomy Journal**, v.93, p.43-48, 2001.

HEJL, A.M.; KOSTER, K.L. Juglone disrupts root plasma membrane H⁺-ATPase activity and impairs water uptake, root respiration, and growth in soybean (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, p. 453–471, 2004.

HEMMERLIN, A.; HOEFFLER, J.F.; MEYER, O.; TRITSCH, D.; KAGAN, I.A.; GROSDEMANGE-BILLIARD, C.; ROHMER, M.; BACH, T.J. Cross talk between the cytosolic mevalonate and the plastidial methylerythritol phosphate pathways in Tobacco Bright Yellow-2 Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n.29, p. 26666-26676, 2003.

HILL, R. A.; CONNOLLY, J. D. Triterpenoids. **Natural Products Report**, v. 28, p. 1087-1117, 2011.

HOAGLAND, R.E.; WILLIAMS, R.D. Bioassays-useful tools of the study of allelopathy. In: MACIAS, F.A. et al. (Eds.) **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2004, p.315-41.

HOFFMANN, C. E. F.; NEVES, L.A.S.; BASTOS, C.F.; WALLAU, G.L. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca Sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.6, n.1, p.11-21, 2007.

IAS. International Allelopathy Society Constitution. **First World Congress on Allelopathy. A Science for the Future**. Cádiz , Universidad de Cádiz, 1996.

IBRAHIM, H.; WILLIAMS, F.E.; SALAWU, K.M.; USMAN, A.M. Phytochemical screening and acute toxicity studies of crude ethanolic extract and flavonoid fraction of *Carissa edulis* leaves. **Biokemistri**, v. 27, p. 39–43, 2015.

IGANCI, J.R.V.; BOBROWSKI, V.L.; HEIDEN, G.; STEIN, V.C.; ROCHA, B.H.G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n.1, p. 79-82, 2006.

INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. **Bot. Rev.**, v. 62 p. 186-202, 1996.

INDERJIT; BHOWMIK, P.C. The importance of allelochemicals in weed invasiveness and the natural suppression. In **Chemical Ecology of plant: allelopathy of aquatic and terrestrial ecosystems** (Inderjit & A.U. Mallik, eds.). Birkhauser Verlag AG, Basel. p.188-197, 2002.

INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, 1999. p.35-44.

INDERJIT; DEL MORAL, R. Is separating resource competition from allelopathy realistic? **Botanical Review**, v. 63, p.221–230, 1997.

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

INOUE, M.H.; SANTANA, D.C.; SOUZA FILHO, A.P.S.; POSSAMAI, A.C.S.; SILVA, L.E.; PEREIRA, M.J.B.; PEREIRA, K.M. Potencial alelopático de *Annona crassiflora*: efeitos sobre plantas daninhas. **Planta Daninha**. v. 28, n.3, p.489-498, 2010.

ITO, M.A.; CONCENCO, G.; MARQUES, R.F.; SANTOS, S.A.; ALVES, M.E.S.; PALHARINI, W.G.; MELO, T.S.; SILVA, L.B.X.; LINHARES, L.T.; CONCENCO, S.E. Allelopathic potential of wheat on sourgrass resistant to glyphosate. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p. 891-898, 2015.

JACOBI, U.S.; FERREIRA, A.G. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimicronata* (DC). sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 26, p. 935-943, 1991.

JAVAID, A.; SHAH, M.B.M. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of two *Eucalyptus* ssp. against *Parthenium hysterophorus* L. **Science International (Lahore)**, v. 19, p. 303–306, 2007.

JUDZIEWICZ, E. Family 187. Poaceae (Gramineae). In: **A.R,A. Görts-van Rijn (ed.)**. Fl. Guianas, ser. A, Phanerog. Koeltz Scientific Books, Königstein. v. 8, p. 1-727, 1990.

KADIOGLU, I.; YANAR, Y.; ASAV, U. Allelopathic effects of weeds extracts against germination of some plants. **Journal of Environmental Biology**, v. 26, p. 169- 173, 2005.

KAUR, H., KAUR, R., KAUR, S., BALDWIN, I.T.; INDERJIT. Taking ecological function seriously: soil microbial communities can obviate allelopathic effects of released metabolites. **PLoS One**, v. 4, p. e4700, 2009.

KHANH, T. D.; CHUNG, M.A.; XUAN, T.D.; TAWATA, S. The exploitation of crop allelopathy in sustainable agricultural production. **Journal of Agronomy and Crop Science**., v. 191, n. 3, p. 172-184, 2005.

KOKATE, A. Phytochemical methods. **Phytotherapy Research**, v. 78, p. 126-129, 1999.

KOLECKAR, V.; KUBIKOVA, K.; REHAKOVA, Z.; KUCA, K.; JUN, D.; JAHODAR, L.; OPLETAL, L. Condensed and Hydrolysable Tannins as Antioxidants Influencing the Health. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 436-447, 2008.

KORDALI, S.; KOTAN, S.; CAKIR, S. Screening of antifungal activities of 21 oxygenated monoterpenes in-vitro as plant disease control agents. **Allelopathy Journal**, v.19, n.2, p.373-91, 2007.

KROHN, N. G.; FERREE, D. C. Effects of low-growing perennial ornamental groundcovers on the growth and fruiting of “Seyval blanc” grapevines. **Horticultural Science**, v. 40, p. 561-568, 2005.

KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, p 246-251, 2011.

KRUSE, M; STRANDBERG, M.; STRANDBERG, B. **Ecological effects of allelopathic plants**. A. review, Department of Terrestrial Ecology, Silkeborg, Denmark, 2000, p. 315.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos., 2000. 531p.

LI, Z.H.; WANG, Q.; RUAN, X.; PAN, C.D.; JIANG, D.A. Phenolics and plant allelopathy. **Molecules**, v. 15, p. 8933–8952, 2010.

LLEWELLYN, L. S.; POWLES, S. B. High levels of herbicide resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in the wheat belt of western Australia. **Weed Science Society of America**, v. 15, n. 2, p. 242-248, 2001.

MACÍAS, F.A., MOLINILLO, J.M.G., VARELA, R.M. & GALINDO, J.C.G. Allelopathy – a natural alternative for weed Control. **Pest Management Science**, v. 63, p. 327-348, 2007.

MACIAS, F.A.; MOLINILLO, J.M.G.; TORRES, A.; VARELA, R.M.; CASTELLANO, D. Bioactive flavonoids from *Helianthus annuus* cultivars. **Phytochemistry**, v.45, p.683-687, 1997.

MAHMOUD, S.S.; CROTEAU, R.B. Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and menthofuran synthase. **Proceeding in National Academic Science**, v.98, n. 15, p, 8915-8920, 2001.

MALHEIROS, R. S. P.; SANTANA, F.S.; NETO, M.V. L.; MACHADO, L. L.; MAPELI, A.M. Atividade alelopática de extratos de *Lafoensia pacari* A. ST.-HIL. sobre *Lactuca sativa* L. e *Zea mays* L. em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n.1, p. 185-194, 2014.

MALLIK, M.; OLOFSDOTTER, A. U. Allelopathy symposium. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 1-2, 2001.

MARASCHIN-SILVA, F.; ÁQUILA, M. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia**, v. 60, p. 91-98, 2005.

MARCHAIM, U.; WERKER, E.; THOMAS, W.D.E. Changes in the anatomy of cotton seed coats caused by Lucerne saponins. **Botanical Gazzete**, v. 135, p. 139–146, 1974.

MARINOV-SERAFFIMOV, P. Determination of allelopathic effect of some invasive weed species on germination and initial development of grain legume crops. **Pesticides & Phytomedicine** (Belgrade), v. 25, p. 251-259, 2010.

MARTÍNEZ-OTERO, A; GONZÁLEZ, L., REIGOSA, M.J. Oxygen electrode for seedling metabolism measurement in allelopathy. **Allelopathy Journal**, v.16, p.,95-104, 2005.

MASSEY, A.B. 1925. Antagonism the walnuts (*Juglans nigra* L. and *J. Cinerea* L.) in certain plant associations. **Phytopathology**, v. 15, p.773-784, 1925.

MENDES, I.D.S.; REZENDE, M.A.O. Assessment of the allelopathic effect of leaf and seed extracts of *Canavalia ensiformis* as postemergent bioherbicides: A green alternative for sustainable agriculture. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 49, p. 374-380, 2014.

MENDONÇA, R.Q. **Determinação de aleloquímicos por HPLC/UV-Vis em extratos aquosos de sementes de *Canavalia ensiformis* e estudo da atividade alelopática**. 2008. 82p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

MILLER, D. A. Allelopathy in forage crop systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 854-859, 1996.

MIRO, C.P; FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia de frutos de ervamate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p. 1261-1270, 1998.

MOAMERI, M.; KHALALI, M.A.; TAVILI, A. Effects of *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Ljin extract on seeds germination and seedlings growth of *Agropyron Elongatum* (Host.) and *Agropyron Desertorum* (Fisch.). **Research Journal of Seed Science**, v.4, p. 40-50, 2011.

MONTEIRO, J. M.; NETO, E. M. F. L.; AMORIM, E. L. C.; STRATTMANN, R. R.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 999-1005, 2005.

MOREIRA, F. M., S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2ª ed. (atual e ampl.). Lavras: Ed. UFLA, 2006. 729 p.

MULLER, C. H.; MULLER, W. H.; HAINES, B. L. Volatile growth inhibitors produced by shrub. **Science**, v. 143, p. 471-473, 1964.

MUSHTAQ, N.M.; SUNOHARA, Y.; MATSUMOTO, H. Allelochemical L-DOPA induces quinoprotein adducts and inhibits NADH dehydrogenase activity and root growth of 43 cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, p. 374-378, 2013.

NCUBE, N.S. AFOLAYAN, A.J.; OKOH, A.L. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, p. 1797-1806, 2008.

NERY, M.C.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, F.C.; PIRES, R.M.O. Potencial alelopático de *Raphanus sativus* L. var. *oleiferus*. **Informativo abrates**, vol.23, n. 1, p. 15-20, 2013.

OLIVEIRA, S.C.C.; CAMPOS, M.L. Allelopathic effects of *Solanum paniculatum* leaves on germination and seedling growth. **Allelopathy Journal**, v.18, p. 331-338, 2006.

OLIVEIRA, P.V.A.; FRANÇA, S.C.; BREGAGNOLI, M.; PEREIRA, P.S. Avaliação alelopática de *Tithonia diversifolia* na germinação e no crescimento inicial de *Bidens pilosa* e *Brachiaria brizantha*. **Revista Agroambiental**, v.3, p.23-30, 2011.

PARENTE, K.M.S.; PARENTE FILHO, E.G.; SILVA, E.V. Alelopatia de *Ziziphus joazeiro* Mart. sobre *Lactuca sativa* L. e *Lycopersicon esculentum* Mill. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 9, n.2, p. 73-159, 2015.

PARVEZ, S.S.; PARVEZ, M.M.; FUJII, Y.; GEMMA, H. Allelopathic competence of *Tamarindus indica* L. root involved in plant growth regulation. **Plant Growth Regulation**, v. 41, p. 139-148, 2003.

PEDROL, N., GONZÁLEZ, L. ; REIGOSA, M. J. Allelopathy and abiotic stress. In: REIGOSA, M. J., PEDROL, N. & GONZÁLEZ, L. (Eds). **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Dordrecht: Springer, 2006, 637 p.

PEER, W.A.; MURPHY, A.S. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 556–563, 2007.

PERES, L.E.P. **Metabolismo Secundário**, Piracicaba - São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz., 2004, p. 1-10.

PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (eds). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Omnipax. p.95-124, 2011.

PIRES, N.M.; SOUZA, I.R.P.; PRATES, H.T.; FARIA, T.C.L.; PEREIRA FILHO, I.A.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** , v.13, p. 55-65, 2001.

PIRZAD, A.; GHASEMIAN, V.; DARVISHZADEH, R.; SEDGHI, M.; HASSANI, A.; ONOFRI, A. Allelopathy of sage and white wormwood on purslane germination and seedling growth. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 2, n.3, p. 91-95, 2010.

PITELLI, R. A. Competição entre plantas daninhas e plantas cultivadas. In: MONQUERO, P. A. (Org.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos, SP: RiMa, 2014, p. 61-81.

POWLES, S.B. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. **Pest Management Science**, v. 64, p.758–770, 2008.

PRATI, D.; BOSSDORF, O. Allelopathic inhibition of germination by *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). **American Journal of Botany**, v. 91, p. 285-288, 2004.

PUNJANI, B.L.; PATEL, K.M. ; PATEL, U.A. Allelopathic influence of *Prosopis cineraria* leaf extracts on germination and seedling growth of rice. **Allelopathy Journal**, v. 18, p. 339-344, 2006.

PUTNAM, A. R.; DUKE, W.B. Allelopathy in agroecosystems. **Annual Review Phytopathology**, v. 16, p. 431-451, 1978.

QIAN, H.; XU, X.; CHEN, W.; JIANG, H.; JIN, Y.; LIU, W.; FU, Z. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. **Chemosphere**, v. 75, p. 368–375, 2009.

RAHMAN, A. Allelopathic potential of *Parthenium hysterophorus* L. on *Cassia* sp. **Allelopathy Journal**, v. 18, p. 345-354, 2006.

REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, p. 577-608, 1999.

RIBEIRO, J. P. N.; MATSUMOTO, R. S.; TAKAO, L. K.; VOLTARELLI, V. M.; LIMA, M. I. S. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 1, p. 183-188, 2009.

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

RICE, E.L. **Allelopathy**. Ed. Academic press, New York, 2013, p. 421.

RODRIGUES, B.N.; PASSINI, T.; FERREIRA, A.G. Research on allelopathy in Brazil. In: NARWAL, S. S. (Eds.). **Allelopathy update**. New Hampshire: Science Publishers. 422 p, 1999.

RODRIGUES, J.E.L.; ALVES, R.N.B.; LOPES, O.M.N.; TEIXEIRA, R.N.G.; ROSA, E.S. **A importância do feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) como cultura intercalar em rotação com milho e feijão caupi em cultivo de coqueiros no município de Ponta de Pedras/Marijó-PA**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 4 p. (Embrapa Amazonia Oriental. Comunicado Técnico, 96).

ROMAGNI, J.G.; ALLEN, S.N.; DAYAN, F.E. Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p.303-313, 2000.

SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários**. In: Simões, C.

M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Florianópolis: Ed. da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, p.403-434, 2004.

SANTOS, S.; MORAES, M.L.L.; REZENDE, M.O.O. Allelopathic potential and systematic evaluation of secondary compounds in extracts from roots of *Canavalia ensiformis* by capillary electrophoresis. **Revista Eclética**, v. 32, p. 13-18, 2007.

SANTOS, S.; MORAES, M.L.L.; SOUZA FILHO, A.P.S.; REZENDE, M.O.O. Allelopathic potential and systematic evaluation of organic extracts from *Canavalia ensiformis* leaves (Jack beans). **Journal of Environmental Science and Health**, v. 40, p. 77-84, 2005.

SANTOS, S.; RESENDE, M.O.O. Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. **Revista Analytica**, v.32, p.72-78, 2008.

SCHREINER, O.; REED, H.S. The production of deleterious excretions by roots. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v.34, n.6, p.279-303, 1907.

SEKOWSKI, S.; IONOV, M.; KASZUBA, M.; MAVLYANOV, S.; BRYSEWSKA, M.; ZAMARAEVA, M. Biophysical studies of interaction between hydrolysable tannins isolated from *Oenothera gigas* and *Geranium sanguineum* with human serum albumin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 123, p. 623-628, 2014.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

SHIMOJI, H.; YAMASAKI, H. Inhibitory effects of flavonoids on alternative respiration of plant mitochondria. **Biologia Plantarum**, v. 49, p. 117-119, 2005.

SILVA, E.R.; OVERBECK, G.E.; SOARES, G.L.G. Phytotoxicity of volatiles from fresh and dry leaves of two Asteraceae shrubs: Evaluation of seasonal effects. **South African Journal of Botany**, v.93, p. 14-18, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª Edição ed. Editora UFRGS/Editora UFSC, 2004, 821p. 2004.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENCKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6ª Edição ed. Editora UFRGS/Editora UFSC, 1999, 821p.

SINGH, A.; SAHARAN, V.A.; BHANDARI, A. Pharmacognostic standardization with various plant parts of *Desmostachya bipinnata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, p. 298-307, 2014.

SINGH, H.P.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Allelopathy in agroecosystems: an overview. In: KOHLI, R.K.; SINGH, H.P.; BATISH, D.R. **Allelopathy in agroecosystems**. New York: The Haworth Press, p.1-42, 2001.

SMITH, F.A.; SMITH, S.E. What is the significance of the arbuscular mycorrhizal colonisation of many economically important crop plants? **Plant Soil**, v.348, p.63–79, 2011.

SMITH, L.B.; WASSHAUSEN, D.; KLEIN, R. Gramíneas vol 3. In: **Flora Ilustrada Catarinense**, REITZ, R. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 1982, 1407p.

SOUZA FILHO, A. P. S. Prefácio. In: MONQUERO, P. A. (Org.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos, SP: RiMa, 2014.

SODAEIZADEH, H.; RAFIEIOLHOSSAINI, M.; HAVLÍK, J.; VAN DAMME, P. Allelopathic activity of different plant parts of *Peganum harmala* L. and identification of their growth inhibitors substances. **Plant Growth Regulation**, v. 59, p. 227-236, 2009.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. **Planta Daninha**, v. 18, n. 3, p. 435-441, 2000.

SOUZA FILHO, A.P.S. Atividade potencialmente alelopática de extratos brutos e hidroalcoólicos de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). **Planta Daninha**, v.20, n.3, p. 357-364, 2002.

SOUZA FILHO, A.P.S. Interferência potencialmente alelopática do capim-gengibre (*Paspalum maritimum*) em áreas de pastagens cultivada. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 451-456, 2006.

SOUZA FILHO, A.P.S.; MOURÃO JR, M. Padrão de resposta de *Mimosa pudica* e *Senna obtusifolia* à atividade potencialmente alelopática de espécies de Poaceae. **Planta daninha**, v. 28, p. 927-938, 2010.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MARTINS, D.; ROSELEM, C.A. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 657-668, 2006.

STARLING, A.P.; UMBACH, F.; KAMEL, S.; LONG, D.P.; SANDLER, J.A. Pesticide use and incident diabetes among wives of farmers in the agricultural health study. **Occupational and Environmental Medicine**, v.71, p. 629–635, 2014.

SUTELA, S.; NIEMI, K.; EDESI, J.; LAAKSO, T.; SARANPAA, P.; VUOSKU, J.; MAKELA, R.; TIIMONEN, H.; CHIANG, V.L.; KOSKIMAKI, J.; SUORSA, M.; JULKUNEN-TIITTO, R.; HAGGMAN, H. Phenolic compounds in ectomycorrhizal interaction of lignina modified silver birch. **BMC Plant Biology**, v.9., n. 124, p. 1-15, 2009.

SUWITCHAYANON, P.; KATO-NOGUCHI, H. Allelopathic activity of leaves, stalks and roots of *Cymbopogon nardus*, **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 26, p. 436-443, 2014.

SZCZEPANSKI, A.J. Allelopathy as a mean of biological control of water weeds. **Aquatic Botany**, v.3, p. 193-197, 1977.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.

TAWAHA, A. M.; TURK, M. A. Allelopathic effects of black mustard (*Brassica nigra*) on germination and growth of wild barley (*Hordeum spontaneum*). **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 189, n. 5, p. 298-303, 2003.

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

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. 2005. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Belo Horizonte: EPAMIG. 359p.

VIDAL R.A.; BAUMAN T.T. Fate of allelochemicals in the soil, **Ciência Rural**, v. 27, p.351–357, 1997.

VIECELLI, C.A.; CRUZ-SILVA, C.T.A. Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de Sálvia. **Semina**, v. 30, n. 1, p. 39-46, 2009.

VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, p.1957-1968, 1991.

WARDLE, D.A. Allelopathic in New Zealand pasture grassland ecosystem. **Journal of Experimental Agriculture**, v.15, p.243-55, 1987.

WEIR, T.L.; PARK, S.W.; VIVANCO, J.M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Plant Biology**, v. 7, p. 472-479, 2004.

WILLIAMSOM, G.B. Allelopathy, Koch's postulates and the riddle. In: GRACE, J.B.; TILMAN, D. **Perspectives on plant competition**. New York, EUA: Academic Press, p. 143-162, 1990.

WINK, M. Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites: In **Annual Plant Reviews: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism**, 2 ed. Edited by Wink M. Wiley-Blackwell, v. 40, p. 1-19, 2010.

YANG, K.; LAMPRECHT, S.A.; LIU, Y. Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. **Carcinogenesis**, v.21, p.1655-1660, 2000.

YOUNG, S.T.; MEYER, G.E.; WOLDT, W.E. Future directions for automated weed management in precision agriculture. **Automation: The Future of Weed Control in Cropping Systems**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, p. 249-259, 2014.

ZHANG, D.; ZHANG, J.; YANG, W.; WU, F. Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across a range of plantation ages. **Ecological Research**, v. 25, p. 13-23, 2010.

ZHI-CONG, D.; XIAO-YING, W.; SHAN-SHAN, Q.; HONG-HONG, C.; JIAN-FAN, S.; PING HUANG, D.L. Effects of leaf litter on inter-specific competitive ability of the invasive plant *Wedelia trilobata*. **Ecological Research**, v.31, n.3, p. 367-374, 2016.

ZHOU, Y.H.; YU, J.Q. Allelochemicals and photosynthesis. In: Reigosa MJ, Pedrol N, González L (Eds.). **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**, Netherlands: Kluwer Academic Publishers; p.127-39, 2006.

ZHU, X.; ZHANG, J.; MA, K. Soil biota reduce allelopathic effects of the invasive *Eupatorium adenophorum*. **PLoS One**, v. 6, p.e25393, 2011.

ZIMDAHL, R. L. **Fundamentals of weed science**. 4. ed. New York: Academic Press, 2013. 209 p.

ZUCKER, M.V. Tannins: does structure determine function? Na ecological perspective. **The American Naturalist**, v. 121, p. 335-365, 1983.

3. Potencial alelopático do extrato aquoso, etanólico e análise fitoquímica de *Paspalum maritimum* Trind.

RESUMO

Alelopatia é definida como a capacidade que determinadas plantas e microorganismos têm de interferir no metabolismo de outras espécies, por meio de substâncias liberadas no ambiente, podendo ser uma alternativa de combate às plantas daninhas e doenças. Nesse contexto, este estudo teve por objetivo avaliar o potencial alelopático e identificar os grupos de metabólitos secundários de *Paspalum maritimum* Trind. *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* e *Portulaca oleracea* foram utilizadas como espécies receptoras. Para avaliar o potencial alelopático, foram obtidos os extratos aquoso e etanólico da parte aérea e radicular da espécie doadora. Os efeitos potencialmente alelopáticos foram avaliados por meio de testes de germinação, crescimento inicial de plântulas, matéria seca e índice de velocidade de germinação. Foi realizada também a análise fitoquímica do extrato para identificar os metabólitos secundários. Foram detectadas, na fração mais ativa da parte aérea de *P. maritimum*, a presença de taninos condensados, chalconas e auronas, flavononas, esteróides e saponinas. O extrato aquoso da parte radicular de *Paspalum maritimum* não apresentou efeito alelopático, porém o extrato aquoso da parte aérea, e o etanólico, de ambas as partes da planta, causaram efeito alelopático nas espécies receptoras.

Palavras-chave: alelopatia, capim gengibre, metabólitos secundários.

**Allelopathic potential of aqueous extract, ethanolic and phytochemical analysis of
Paspalum maritimum Trind.**

ABSTRACT

Allelopathy is defined as the ability of certain plants and microorganisms to interfere in the metabolism of others species, through substances released into the environment, and may be an alternative to control weed and diseases. In this context, this study aimed to evaluate the allelopathic potential and to identify the groups of secondary metabolites of *Paspalum maritimum* Trind. The *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* and *Portulaca oleracea* species were used as recipient species. To evaluate the allelopathic potential, the aqueous and ethanolic extract of the aerial and root part of the donor specie were carried out. Potential allelopathic effects were evaluated by germination tests, initial seedling growth, dry matter and germination speed index. A phytochemical analysis of the extract was also performed to identify the secondary metabolites. The presence of condensed tannins, chalcones and aurones, flavonones, steroids and saponins were detected in the most active fraction of the *P. maritimum* aerial part. The aqueous extract of the root part of *Paspalum maritimum* has no allelopathic effect, but the aqueous extract of the aerial part, and the ethanolic of both parts of the plant, had an allelopathic effect on the recipient species.

Keywords: allelopathy, ginger grass, secondary metabolites.

3.1 INTRODUÇÃO

As interferências das plantas daninhas na produtividade das culturas de interesse econômico têm causado grandes perdas, sendo necessário o manejo adequado dessas plantas para diminuir os prejuízos causados. Apesar da contribuição significativa dos métodos convencionais de controle de plantas daninhas na melhoria da produtividade das culturas, certos desafios também estão associados a eles, tornando cada vez mais necessário o uso de opções de manejo diversificadas. A pesquisa com espécies que possuem potencial alelopático está cada vez mais em evidência na perspectiva da sua manipulação, para aplicações práticas na agricultura e, assim, ser utilizadas no controle de plantas daninhas (JABRAN e FAROOQ, 2013; ZENG, 2014).

Normalmente, as substâncias químicas são extraídas das estruturas vegetais trituradas e colocadas em contato com água ou algum extrator orgânico (Etanol, Acetona, Éter, Clorofórmio, etc), obtendo-se, após filtragem, o extrato contendo os compostos alelopáticos (PIRES e OLIVEIRA, 2011). A demonstração dos efeitos alelopáticos tem sido feita experimentalmente por meio da aplicação de extratos da espécie doadora, afim de verificar os efeitos dos aleloquímicos, em sementes ou plântulas das espécies receptoras. Os aleloquímicos, presentes em várias partes da planta, são resultantes do metabolismo secundário e responsáveis por produzir os efeitos alelopáticos sobre o metabolismo de espécies receptoras (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Há uma grande variedade de metabólitos secundários com potencial alelopático já identificados, como os ácidos graxos, ácidos aromáticos, ácidos fenólicos, aldeídos, lactonas, cumarinas, quinonas, terpenos, sesquiterpenos, fenóis, taninos, alcalóides, flavonóides, terpenóides e esteróides, etc. (RICE, 1984; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010, LI et al., 2010). Estes metabólitos estão divididos em três principais grupos constituídos de compostos fenólicos, terpenos e alcalóides (FERREIRA e AQUILA, 2000; RICE, 2013). E afetam vários processos fisiológicos, dentre eles, o crescimento de plântulas (PEER e MURPHY, 2007; BUER e DJORDJEVIC, 2009) e a germinação das sementes (HEMMERLIN et al., 2003; CARMO; LIMA; TAKAKI, 2007).

Paspalum maritimum Trind, popularmente conhecida como capim gengibre, pode se destacar, uma vez que é uma das espécies de plantas daninhas que se notabiliza pela alta capacidade de invadir as áreas cultivadas, formando verdadeiras colônias puras, dominando rapidamente a área, apresentando possível efeito alelopático (SOUZA FILHO, 2006; CORREA et al., 2010; SOUZA FILHO, 2010). As pesquisas, na abordagem de controlar as

plantas daninhas através do fenômeno alelopático, têm permitido concluir que os aleloquímicos interferem em muitos dos processos metabólicos primários e no sistema de crescimento das plantas. Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar o potencial alelopático e identificar os grupos de metabólitos secundários de *Paspalum maritimum* Trind.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA), pertencente a Universidade Federal de Alagoas (UFAL), situado em Rio Largo/Alagoas (latitude 9° 27' S, longitude de 35° 27' W e a 127 m de altitude). Como espécies receptoras foi utilizada uma considerada sensível aos testes de alelopatia (*Lactuca sativa* - alface) (FERREIRA e AQUILA, 2000), e as espécies daninhas *Digitaria insularis* (Capim amargoso), *Emilia coccinea* (Falsa-serralha) e *Portulaca oleracea* (Beldroega). Foi selecionada *P. maritimum* como espécie doadora para se avaliar o possível potencial alelopático.

3.2.1 Coleta do material e obtenção dos extratos

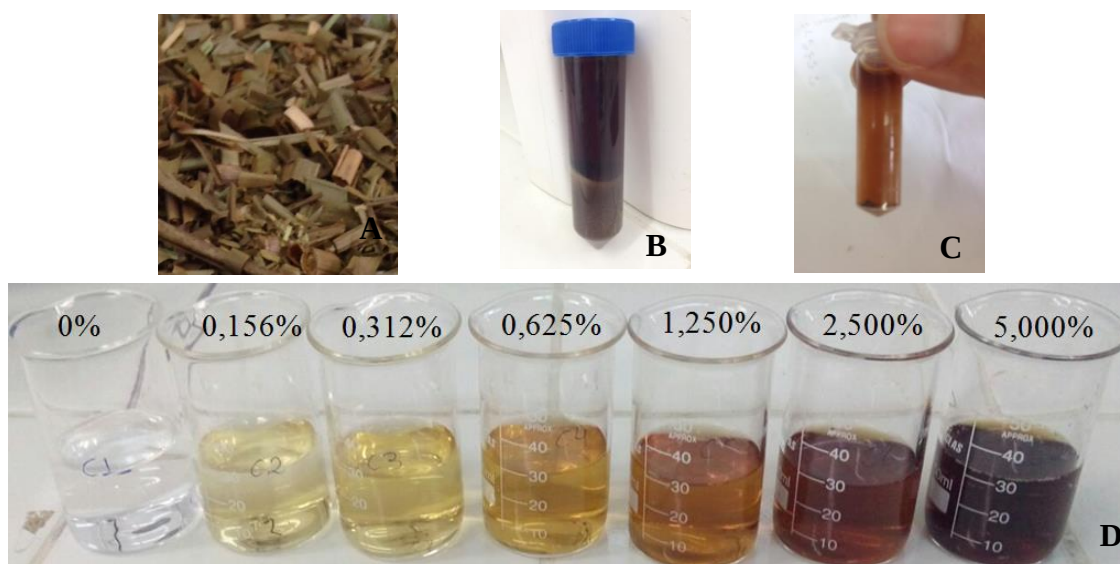
Para obtenção do material vegetativo de *P. maritimum* foi realizada uma coleta de forma aleatória em área de canavial, situada no município de Messias/AL. Após a coleta, foi realizada a lavagem do material com água corrente para retirada das impurezas, separado a parte aérea da parte radicular e levados a estufa de circulação de ar forçada, a 60 °C, até atingir massa constante. Após este processo, o material desidratado foi triturado em moinho de facas “tipo Willey” com peneira 30 Mash até a obtenção de fragmentos menores. O pó obtido foi armazenado em recipientes vedados, e mantidos a temperatura de -20 °C até o momento de seu uso (adaptado de HAGEMANN et al., 2010).

3.2.1.1 Extrato aquoso

Para a obtenção do extrato aquoso de *P. maritimum*, foram utilizados o pó da parte aérea e raiz, separadamente, sendo preparadas soluções estoque na concentração de 1g 10 mL⁻¹ (10%) (peso/volume). Estas soluções permaneceram em repouso por 24 horas no refrigerador (5 ± 1 °C). Após esse período, o material da solução foi colocado em tubos falcons e centrifugado durante dez minutos a 3.000 rpm para separação das partículas maiores. Os sobrenadantes foram colocados em eppendorfs e submetidos novamente à centrifugação por 15 minutos a 15.000 rpm. A parte utilizada foi o sobrenadante límpido obtido após a centrifugação. Foram realizadas as diluições para as concentrações de 0,156%;

0,312%; 0,625%; 1,25%; 2,50% e 5,00% (adaptado de HAGEMANN et al., 2010) (Figura 4).

Figura 4. Etapas da preparação do extrato aquoso: A- Material da espécie doadora desidratado; B – Primeira centrifugação em tubos falcons; C- Segunda centrifugação em eppendorfs (extrato bruto); D- Extrato aquoso em diferentes concentrações.

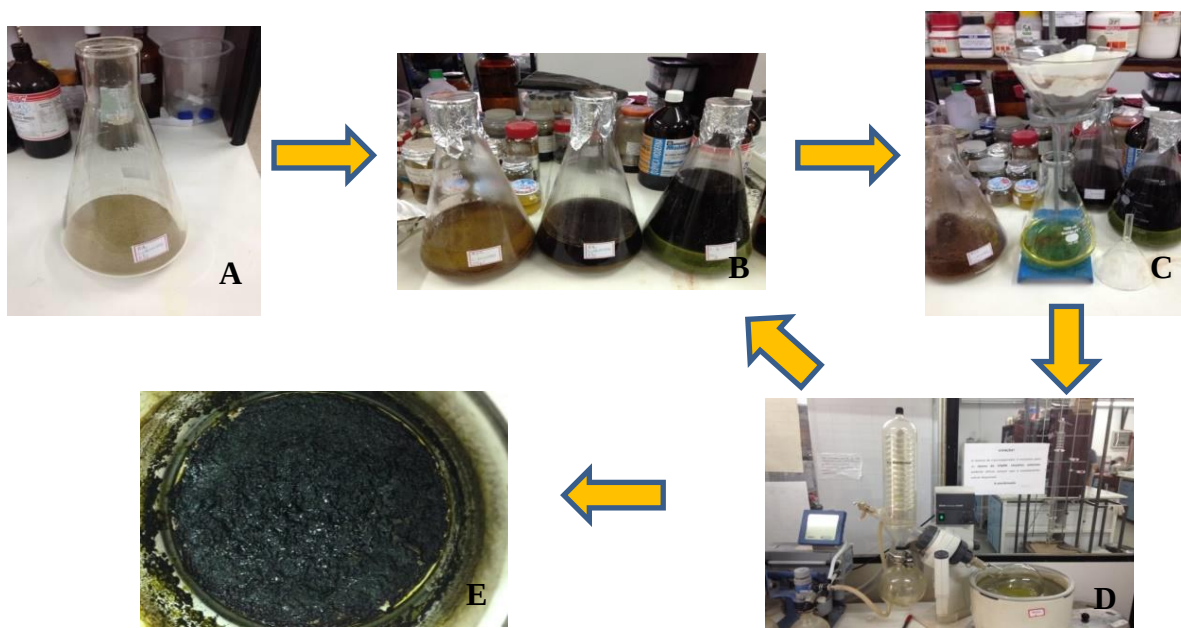


Fonte: Autoria própria (2017)

3.2.1.2 Extrato etanólico

Para o extrato etanólico, os materiais referentes a porções da parte aérea e das raízes da planta foram submersos em álcool etílico 95%, separadamente, na proporção de 1:5 (peso/volume), agitados e mantidos em temperatura ambiente por 72 horas. Após este período, os extratos obtidos foram filtrados e o resíduo do material foi novamente extraído com o mesmo solvente por mais 72 horas. Este processo foi repetido várias vezes até a obtenção de uma extração límpida. Os extratos filtrados resultantes e todas as extrações foram reunidos e concentrados com o auxílio de um rotaevaporador de pressão reduzida em uma temperatura média de 50 °C (adaptado de AL-SHERIF et al., 2013). O extrato bruto seco resultante foi armazenado em recipiente de vidro (Figura 5).

Figura 5. Etapas da preparação do extrato etanólico: A – Material desidratado da espécie doadora. B – Adição do solvente ao material. C – Filtragem do solvente. D – Evaporação do solvente no rotaevaporador. E- Extrato bruto.



Fonte: Autoria própria (2017)

Para a obtenção das concentrações de $1,25 \text{ mg ml}^{-1}$; $2,50 \text{ mg ml}^{-1}$; $5,00 \text{ mg ml}^{-1}$; $10,00 \text{ mg ml}^{-1}$ e $20,00 \text{ mg ml}^{-1}$, o extrato bruto foi solubilizado adicionando-se DMSO (dimetilssulfóxido) a 0,1% e água destilada, submetido a ultrassom até a sua completa solubilização. Para evitar possível interferência do solubilizante, como testemunha, utilizou-se água + DMSO.

Foi realizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada extrato obtido foi considerado um experimento individual, em concentrações crescentes, visando observar o efeito alelopático em diferentes espécies receptoras, realizando-se assim dois experimentos para o extrato aquoso, e dois para o extrato etanólico, conforme descrito a seguir:

Extrato aquoso:

Experimento 1: Extrato aquoso da parte aérea de *Paspalum maritimum*;

Experimento 2: Extrato aquoso da parte radicular de *Paspalum maritimum*.

Extrato etanólico:

Experimento 1: Extrato etanólico da parte aérea de *Paspalum maritimum*;

Experimento 2: Extrato etanólico da parte radicular de *Paspalum maritimum*.

3.2.2 Curvas do potencial osmótico

Visando verificar o potencial osmótico crítico para a germinação das espécies receptoras e a relação com o potencial osmótico dos extratos das espécies doadoras, foram obtidas as curvas de resposta ao potencial osmótico. Foram utilizadas soluções de polietileno glicol 6000 (PEG-6000), por ser quimicamente inerte e não apresentar toxicidade sobre as sementes, e preparadas segundo especificações de Michel e Kaufmann (1973), conforme a fórmula abaixo:

$$\psi_s = - (1,18 \times 10^{-2}) C - (1,18 \times 10^{-4}) C^2 + (2,67 \times 10^{-4}) CT + (8,39 \times 10^{-7}) C^2T$$

Onde: ψ_s = potencial osmótico (bar), C = quantidade de PEG 6.000/kg de água (g), T = temperatura (°C), 1 MPa = 9,87 atm = 10 bar.

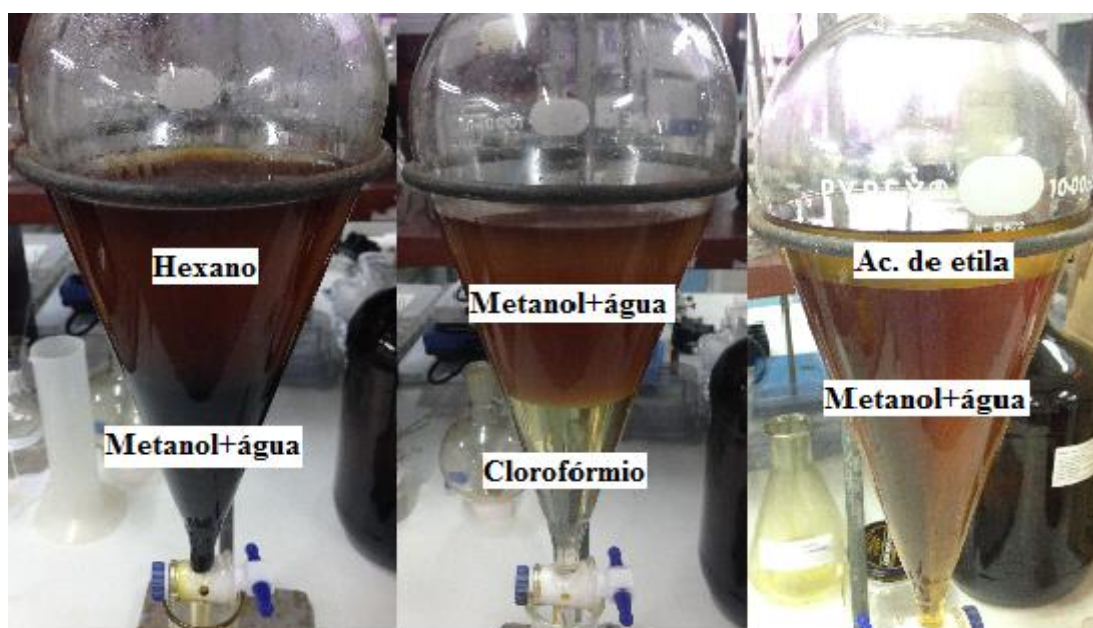
As soluções de PEG-6000 aplicadas foram as seguintes: 0 MPa; -0,1MPa; -0,2 MPa; -0,4 MPa; -0,8 MPa; -1,6 MPa e -3,2 MPa e realizou-se o teste de germinação com as espécies receptoras, utilizando a mesma metodologia descrita abaixo na variável germinação. O potencial osmótico de cada extrato foi aferido por meio de osmômetro Wescor.

3.2.3 Partição líquido-líquido

Na extração líquido-líquido ocorre a partição da amostra entre duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001). Os métodos de partição entre os solventes servem para purificar a amostra, retirando grande parte do material indesejado. Com as partições, associadas aos testes alelopáticos, pode-se definir as frações enriquecidas que possuem compostos químicos que causam efeito inibitório nas plantas.

A partição líquido-líquido foi realizada com o Extrato bruto etanólico da parte aérea de *P. maritimum* com solventes de polaridades crescentes (Hexano, Clorofórmio, Acetato de Etila e Metanol), obtendo uma separação das substâncias através de suas polaridades (Figura 6). Inicialmente, 12,5 g do extrato bruto foi suspenso com 250 mL de Metanol em um funil de separação e adicionado o solvente n-Hexano para a extração (3 x 250 mL). Após esse processo, foi retirada a fração hexânica, sendo a fração metanólica suspensa em água (250 mL), e submetida a partição com Clorofórmio (3 x 250 mL). Foi retirada a fração Clorofômica, e na fração Metanólica + água, foi adicionado Acetato de Etila (3 x 250 mL). As quatro frações resultantes desse processo foram submetidas a secagem do solvente no rotaevaporador.

Figura 6. Partição líquido-líquido com os solventes Hexano, Clorofórmio, Acetato de etila e Metanol do extrato da parte aérea de *P. maritimum*.



Fonte: Autoria própria (2017)

Para a determinação da fração mais ativa dessa partição líquido-líquido, foi selecionada a concentração mais próxima que inibiu 50% da germinação da espécie *L. sativa* ($2,5 \text{ mg ml}^{-1}$), e realizados testes de germinação, comprimento de parte aérea e radicular das plântulas.

3.2.4 Variáveis avaliadas

Os efeitos potencialmente alelopáticos dos extratos aquoso e etanólico de *P. maritimum* foram avaliados por meio de testes de germinação, crescimento inicial de plântulas, acúmulo de matéria seca e índice de velocidade de germinação das espécies receptoras.

Germinação

Para os testes de germinação as sementes foram acondicionadas em caixas plásticas transparentes tipo gerbox com tampa (11x11x4 cm), previamente desinfetadas com álcool, e forradas com duas folhas de papel germitest previamente autoclavadas à temperatura de 120°C . O papel foi umedecido com 6 mL de cada extrato e foram colocadas sobre o papel 30, 30, 50 e 200 sementes de *L. sativa* (cultivar "Baba de Verão") e *D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae*, respectivamente. As caixas foram mantidas em câmara climatizada tipo BOD

(Demanda Bioquímica de Oxigênio) sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas para *L. sativa*, e sob temperatura alternada de 20-30 °C, com fotoperíodo de 12 horas, para *D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae*.

A cada 24 horas, as sementes foram avaliadas para verificar a protrusão radicular, conforme Borghetti e Ferreira (2004). Ao final do tempo experimental, sete dias da semeadura para *L. sativa* e *D. insularis*, e 14 dias para *E. coccinea* e *P. oleraceae*, as plântulas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento da parte aérea e da raiz e classificadas em normais ou anormais (BRASIL, 2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG)

Os dados obtidos nas contagens diárias realizadas durante o teste de germinação foram utilizados para cálculo do IVG, segundo a equação de Maguire (1962):

$$IVG = (N1/E1) + (N2/E2) + ... + (Nn/En)$$

Onde: IVG = índice de velocidade de germinação E1, E2, En = número de plântulas na primeira contagem, na segunda e na última. N1, N2, Nn = número de dias da semeadura à primeira, à segunda e à última contagem.

Comprimento de Plântulas

O comprimento de plântulas foi avaliado em conjunto com o teste de germinação utilizando as plântulas normais, medindo-se o comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz primária (CRA) por meio de régua milimetrada. O comprimento da raiz foi obtido tomando-se a medida do ápice meristemático da raiz principal até a região do coleto. Esse mesmo procedimento foi empregado para a medição do hipocótilo das plântulas, tomando-se a medida da região do coleto até o ponto de inserção dos cotilédones (VIEIRA; CARVALHO, 1994). O comprimento médio da parte aérea e da raiz primária da plântula foi calculado pelo quociente entre a soma das medidas em cada repetição e o número de plântulas (VANZOLINI et al., 2007).

Matéria seca

Ao final do teste de germinação, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel tipo kraft e expostas a secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 60°C durante 72 horas. A massa obtida foi dividida pelo número de plântulas normais, e os resultados expressos em g plântula⁻¹.

3.2.5. Análise fitoquímica

Alíquotas dos extratos brutos e das frações provenientes da partição com Hexano, Clorofórmio, Acetato de Etila e Metanol da parte aérea de *P. maritimum* foram preparadas para verificar a existência de grupos como fenóis, taninos pirogalicos, taninos flobafênicos, antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononois, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, flavonois, xantonas, esteroides, triterpenóides e saponinas, através da alteração de coloração ou formação de precipitado seguindo metodologia de Matos (1997).

Com o extrato bruto e cada fração da partição, foi preparada uma solução à concentração de 40 mg ml⁻¹, e desta solução retirou-se alíquotas de 2 ml, as quais foram colocadas em tubos de ensaio com numeração de “1” a “7”. Para os tubos de ensaio de numeração “8” a “9”, foi retirado 10 ml e levado ao banho-maria em um béquer até a completa evaporação do solvente, restando apenas resíduos.

Testes para fenóis, taninos hidrolisáveis e taninos condensados

No tubo “1”, foram colocadas 3 gotas da solução de FeCl₃.

Testes para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flavononóis

O tubo “2” foi acidulado com ácido clorídrico (HCl) a pH 3, o tubo “3” alcalinizado até pH 8,5 com Hidróxido de Sódio (NaOH) e o tubo “4” até o pH 11. Se houve alteração na cor, indicou a presença ou ausência dos compostos (Tabela 1).

Tabela 1. Colorações indicativas para a presença de antocianinas e antocianidinas, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas e flavononóis.

Constituintes	Tubos de ensaio com pHs diferentes		
	Ácido – pH 3 (tubo “2”)	Alcalino – pH 8,5 (tubo “3”)	Alcalinizado – pH 11 (tubo “4”)
Antocianinas e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul – púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Vermelho púrpura
Flavononóis	-	-	Vermelho laranja

Fonte: Matos (1997).

Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

O tubo “5” foi acidulado até pH 2, e o tubo “6” alcalinizado até pH 11. Após, ambos os tubos foram aquecidos durante 3 minutos e observada a variação de coloração (Tabela 2).

Tabela 2. Colorações indicativas para a presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.

Constituintes	Tubos de ensaio com pHs diferentes	
	Ácido – pH 2 (tubo “5”)	Alcalino – pH 11 (tubo “6”)
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas	Pardo-amarelada	-
Flavanonas	-	Vermelho-laranja

Fonte: Matos (1997).

Testes para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Pequenas fitas de Magnésio e 1,0 ml de HCl foram adicionados ao tubo “7”. Após o término da reação observou-se a mudança na coloração, comparando com o tubo “5”.

Testes para esteróides e triterpenóides

Com o béquer preparado anteriormente para os tubos de “8” a “9”, o resíduo seco do béquer foi extraído 3 vezes com 2 ml (6ml) de clorofórmio e homogeneizado. A solução foi filtrada em um funil com algodão, coberta com alguns decigramas de Na₂SO₄, para o tubo de ensaio “8”, e foi adicionado 1 ml de anidro acético e 3 gotas de H₂SO₄. Aguardou-se a mudança na coloração.

Teste para saponinas

O resíduo insolúvel de clorofórmio, preparado na etapa anterior, foi redissolvido em 8 ml de água destilada e a solução foi transferida para o tubo “9”. Agitou-se durante 3 minutos e observou-se a formação de espuma persistente e abundante, indicando a presença de saponinas.

Os resultados obtidos nos testes realizados na análise fitoquímica foram estabelecidos conforme os seguintes parâmetros: Positivo (+) e Negativo (-).

3.2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o programa estatístico Sisvar. Os dados referentes à partição líquido-líquido foram

transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, para realização das análises estatísticas (BARBIN, 2003). As médias apresentadas referem-se aos dados originais.

Os dados obtidos, referente às concentrações, para as variáveis analisadas, foram averiguados através da aplicação do teste F sobre a análise da variância. Sendo significativo o efeito do extrato, para determinar a CL₅₀ (concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha), os dados foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo logístico com três parâmetros (STREIBIG, 1988), utilizando-se o programa Sigmaplot:

$$y = \frac{a}{\left[1 + \left(\frac{x}{b} \right)^c \right]}$$

Onde: y = controle percentual; x = concentração do extrato; a , b , e c , parâmetros estimados da equação, de forma que a = amplitude existente entre o ponto máximo e o ponto mínimo da variável, b = concentração que proporciona 50% de resposta da variável e c = declividade da curva ao redor de b .

O modelo logístico apresenta vantagens, uma vez que um dos termos integrantes da equação (b) é uma estimativa do valor de CL₅₀ (CHRISTOFFOLETI, 2002). Por ser um bom parâmetro utilizado para determinar a melhor dose que controla 50% em herbicidas, foi adaptado para determinar essa concentração em alelopatia. O CL₅₀ é a concentração do extrato, em % (aquoso) e mg ml⁻¹ (etanólico), que proporciona o valor de 50% de controle ou de redução de crescimento da espécie receptora (adaptado de CHRISTOFFOLETI, 2002; CHRISTOFFOLETI e LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Os valores da testemunha foram considerados 100%, sendo os resultados de cada variável dos demais tratamentos calculados em relação a testemunha, utilizando a seguinte fórmula:

$$VR (\%) = 100 \cdot V / Tm$$

Onde: VR = variável em relação a testemunha (%); V = variável analisada (G, IVG, CPA, CRA e MS); Tm = média da testemunha (%).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Partição Líquido-Líquido

Verifica-se, através da média das três variáveis (G, CPA, CRA), que as partições que apresentaram maior percentual de inibição da germinação e redução do comprimento de plântulas foram as extraídas com os solventes Clorofórmio, Acetato de etila e Metanol (Tabela 3). Estes resultados são importantes para os próximos estudos, pois direcionam qual a fração mais ativa a ser utilizada como padrão, garantindo uma melhor extração das substâncias com possível atividade alelopática.

Tabela 3. Porcentagem de germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e radicular (CRA) da espécie *L. sativa*, submetidas ao Extrato bruto, Hexânico, Clorofórmico, Acetato de etila, Metanólico e Testemunha da parte aérea de *P. maritimum*.

TIPO DE EXTRATO	G	CPA	CRA	Média
TESTEMUNHA	100,000a	100,000a	100,000a	100,000a
EXTRATO BRUTO	86,868 ^a	72,394ab	54,392ab	71,218b
HEXANICO	39,705b	51,954bc	43,495b	45,051c
CLOROFÓRMIO	16,764c	20,464d	52,949ab	30,059cd
ACETATO DE ETILA	18,529c	35,367cd	26,148b	26,681d
METANÓLICO	46,764b	36,924cd	20,431b	34,706cd
C.V.	9,99	9,44	19,68	8,93

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Há vários trabalhos que relatam a capacidade da fração Acetato de etila em extrair os possíveis compostos alelopáticos. SANTOS et al. (2011), ao avaliarem a germinação de *Cassia tora* (Fabaceae), *Mimosa pudica* (Fabaceae) e *Cassia occidentalis* (Fabaceae), submetidas ao extrato Hexânico, Diclorometano, Acetato de etila e Metanol de *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae), verificaram que o extrato obtido com Acetato de etila foi mais ativo da inibição da germinação das sementes. MATSUMOTO et al., (2010) também verificaram inibição da germinação e redução do comprimento da parte aérea e radicular de *L. sativa* submetidas a fração Acetato de etila de *Annona glabra* (Annonaceae). O mesmo comportamento foi observado para a fração Acetato de etila da planta *Hydrocotyle bonariensis* (Araliaceae) (SILVA et al., 2010). Hernandez-Terrones et al. (2007), observaram que a fração Acetato de etila da espécie *Pterodon emarginatus* (Fabaceae) apresentou maior porcentagem de inibição sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento da parte aérea e raiz de *Panicum maximum* Jacq.

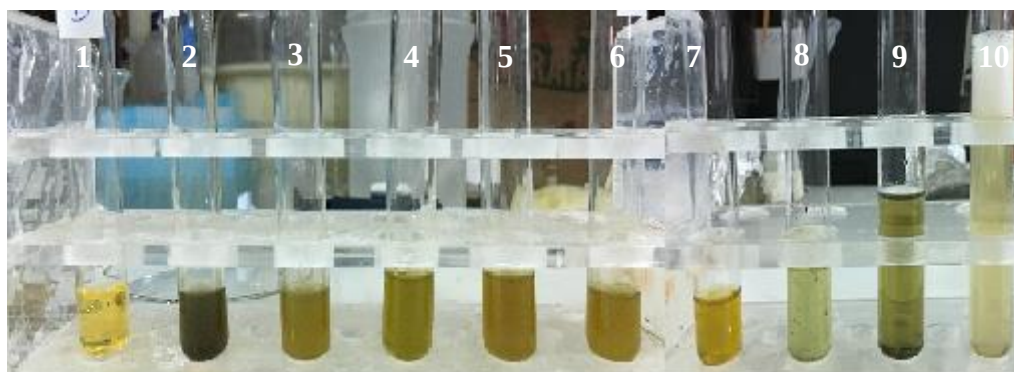
Os resultados obtidos estão de acordo com as informações da literatura, em que se

observa que a fração Acetato de etila da parte aérea de *P. maritimum* têm metabólitos secundários que afetam algum processo fisiológico durante a germinação de *L. sativa*, comprometendo o desenvolvimento da espécie. Silva et al. (2010), verificaram, que a fração Acetato de etila de *Hydrocotyle bonarienses* (Araliaceae) inibiu a germinação e o crescimento da parte aérea e radicular das espécies *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum*, *Allium cepa* e *Triticum aestivum*, e apresentou maiores teores de compostos fenólicos.

3.3.2 Análise Fitoquímica

A análise fitoquímica é uma ferramenta usada para identificação rápida dos constituintes químicos da planta em análise. A identificação preliminar dos grupos químicos presentes no extrato é importante, pois possibilita um *screening* inicial de baixo custo e com rapidez (MATTOS, 1997), e assim direcionar o melhor método para a extração desses compostos. Na Figura 7 se encontra a imagem da coloração das soluções, resultante da análise fitoquímica após as reações para cada metabólito secundário.

Figura 7. Colorações resultantes da análise fitoquímicas para a testemunha (1), fenóis, taninos hidrolisáveis e taninos condensados (2), antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flavononóis (3, 4 e 5), leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas (6 e 7), flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas (8), esteróides e triterpenóides (9) e saponinas (10).



Fonte: Autoria própria (2017)

Os resultados da análise fitoquímica do extrato da parte aérea de *P. maritimum* demonstraram que o extrato bruto etanólico, a fração hexânica e a fração clorofórmica apresentaram maior capacidade de extração de metabólitos secundários, apresentando em comum os taninos condensados, catequinas, flavononas, esteróides e saponinas (Tabela 4), porém não foram as frações que apresentaram maior capacidade de inibição da germinação e do crescimento de plântulas da espécie receptora (Tabela 3).

Tabela 4. Análise fitoquímica do Extrato bruto etanólico (E.B.) e das frações de Hexano (HEX.), Clorofórmio (CLOR.), Acetato de etila (A.ETIL) e Metanol (MET.), provenientes da parte aérea de *P. maritimum*.

Metabólitos 2º	E.B.	HEX.	CLOR.	A.ETIL	MET.
Fenóis	-	-	-	-	-
Taninos hidrolisáveis	-	-	-	-	-
Taninos condensados	+	+	+	+	+
Antocianina e antocianidina	-	-	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	+	-	-
Chalconas e auronas	-	-	-	+	-
Flavononóis	+	+	-	-	+
Leucoantocianidinas	-	-	-	-	-
Catequinas	+	+	+	-	-
Flavononas	+	+	+	+	+
Flavonóis, flavononas e xantonas	-	-	-	-	-
Esteróides	+	+	+	+	-
Triterpenóides	-	-	-	-	-
Saponinas	+	+	+	+	+

- resultado negativo, + resultado positivo

Os diferentes tipos de solventes utilizados para extrair determinado metabólito secundário são baseados na solubilização do composto com os solventes de polaridades semelhantes (NCUBE; AFOLAYAN; OKOH, 2008). Pode-se observar resultados positivos, em todas as frações, para os taninos condensados, flavononas e saponinas (Tabela 4). Catunda et al. (2002) também observaram presença de fenóis, taninos condensados, flavononas, saponinas, e terpenóides na parte aérea de *Cyperus rotundus* (Cyperaceae). As flavonas, flavonóis e xantonas foram detectadas apenas na fração clorofórmio. E as chalconas e auronas, apenas na fração Acetato de etila. Singh, Saharan e Bhandari (2014), realizando estudos fitoquímicos preliminares da parte aérea de *Desmostachya bipinnata* (Poaceae), identificaram a presença de alcalóides, taninos, flavonóides, esteróides, glicosídeos e cumarina.

No Extrato bruto etanólico e na fração Hexânica foram identificados os mesmos metabólitos secundários (taninos condensados, flavononóis, catequinas, flavononas, esteróides e saponinas). Na fração Clorofórmica, os flavonóides detectados foram as flavonas, flavonóis e xantonas, catequinas e flavononas. Nesta mesma fração, foram encontrados também compostos fenólicos e terpenos (esteróides e saponinas). Semelhante a este resultado, Gomes et al. (2011), realizaram testes fitoquímicos com extratos de *Cymbopogon citratus*

(Poaceae) e identificaram a presença de taninos, alcalóides e flavonóides (flavonas e flavonóis). Há estudos que relatam que os taninos reduziram a germinação e o crescimento da parte aérea e raízes de *Parthenium hysterophorus*, possuindo potencial alelopático (JAVOID e SHAH, 2007). Fiuza et al. (2008) avaliando a fração Clorofórmica da parte aérea de *E. uniflora*, também constataram a presença de flavonóides e terpenos.

A fração Acetato de etila demonstrou a presença de compostos fenólicos (taninos condensados, flavonononas) e terpenos (esteróides e saponinas). As chalconas e auronas, pertencente aos flavonóides, foram detectadas somente nesta fração. A presença das chalconas pode ser uma possível explicação para o solvente Acetato de etila ter sido mais ativo na inibição da germinação e comprimento de plântulas (Tabela 3). Alguns flavonóides, como as chalconas, são capazes de aumentar os níveis das espécies reativas de oxigênio (KUMAR et al., 2010). Bittencourt, Santos e Souza Filho (2007), ao avaliarem a inibição da germinação das espécies *Mimosa pudica* e *Senna obtusifolia* sob presença de chalconas, verificaram que houve inibição da germinação para ambas as espécies, indicando que essas substâncias apresentam atividade alelopática. As chalconas são precursoras da síntese de flavonóides em plantas superiores. Os derivados das chalconas tem mostrado potencial na área de farmacologia devido sua atividade anticancerígena, antioxidante, anti-inflamatória (NI; MENG; SIROSKI, 2004; MAHAPATRA; BHARTI; ASATI, 2015).

O Metanol foi o solvente que demonstrou menor eficiência ao extrair os metabólitos secundários, comparado às outras frações, possibilitando a extração dos taninos condensados, flavononóis, flavonononas e saponinas. Diferindo desses resultados, Allem (2010) verificou que o Metanol possibilita a extração de um maior número de compostos em comparação com outros solventes.

Em todas as frações analisadas foi detectada a presença de flavonóides. Eles são os compostos naturais mais presente nas plantas e possuem funções de pigmentos, atrativos ou repelentes de herbívoros, ações antimicrobianas, interferem na germinação do tubo polínico, atuam na proteção contra radiação UV, influenciam no transporte de auxinas; capturam espécies reativas de oxigênio, apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir o crescimento de plantas (RICE, 1984; SAKIHAMA et al., 2002; SHIMOJI e YAMASAKI., 2005; PEER e MURPHY, 2007; EDWARD et al., 2008; AGATI e TATTINI, 2010).

Os esteróides foram detectados em todas as frações, com exceção da fração Metanólica. Isso ocorre porque são compostos apolares, surgindo apenas em solventes apolares como o Hexano, Clorofórmio ou, em menor quantidade, em solventes de polaridade intermediária (Acetato de etila). Eles são considerados comuns entre as plantas, e estão

relacionados ao crescimento do tubo polínico, enrolamento de folhas de gramíneas, inibição do crescimento radicular e reguladores de crescimento (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; KERBAUY, 2004). Há relatos de que os esteróides possuem atividade alelopática nas espécies *Hordeum vulgare* (Poaceae) (EVERALL e LEES, 1996), *Triticum aestivum* (Poaceae) (TANAKA; ONO; HAYASAKA, 1990), *Oryza sativa* (Poaceae) (MACÍAS et al., 2006); *Vigna unguiculata* (Fabaceae) (KPOVIÉSSI et al., 2008), *Moutabea guianensis* (Polygalaceae) (RIPARDO FILHO et al., 2012).

As saponinas também foram encontradas em todas as frações. Bertoldi, De Leo, Braca e Ercoli (2009), identificaram a presença de saponinas e flavonóides na espécie *Avena sativa* L. (Poaceae), porém verificaram que apenas os flavonóides exerceram atividade alelopática, inibindo a germinação de sementes de *L. sativa*. Oleszk (1993) também identificou saponinas em *Medicago sativa* e, quando testada sua atividade em sementes de trigo, não houve influência na germinação. Porém, Marchaim, Werker e Thomas (1974), relataram que as saponinas reduziram a taxa respiratória das sementes de algodão, devido a menor difusão do oxigênio através do tegumento, inibindo sua germinação. Plantas que possuem saponinas demonstraram atividade anticancerígena (AUYEUNG; CHO; KO, 2009), antimicrobiana (AVATO et al., 2006), analgésica e anti-inflamatória (MOHARRAM e EL-SHENAWY, 2007).

Com as alterações das espécies receptoras testadas nesse experimento, referente a germinação e comprimento das plântulas (Tabela 3), sob ação do extrato da parte aérea de *P. maritimum*, pode-se inferir que houve atividade alelopática, possivelmente devido a presença dos metabólitos secundários identificados na fração Acetato de etila (Tabela 4). Os efeitos visualizados nas espécies receptoras referente à inibição da germinação e crescimento de plântulas podem ser devido à presença dos metabólitos secundários pertencentes ao grupo das flavononas, taninos condensados, chalconas, esteróides e saponinas. Essas alterações podem estar relacionadas à atuação de forma isolada, ou pode haver alteração sinérgica ou antagônica com outras substâncias. A grande diversidade de compostos que causam alelopatia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, seus efeitos nas espécies receptoras podem ser devido ao rompimento celular generalizado do que um mecanismo específico (EINHELLIG, 1995).

3.3.3 Extrato Aquoso

O resultado da análise de variância indicou que as espécies receptoras (ER), dos extratos aquosos da parte aérea e radicular de *P. maritimum*, apresentaram efeito significativo para as variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento radicular (CRA), com exceção da matéria seca (MS) do extrato da parte aérea de *P. maritimum*, demonstrando assim que houve influência dos extratos sobre as espécies receptoras (Tabela 5). O CPA não apresentou diferença significativa com as concentrações (C) do extrato aquoso da parte aérea de *P. maritimum*. As concentrações do extrato da parte radicular, avaliado pelo CPA e CRA, apresentaram significância, indicando que houve interferência das concentrações no crescimento das plântulas para esse extrato (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato aquoso da parte aérea e radicular de *P. maritimum* e da interação entre esses fatores (ER*C).

Análise de variância	G	IVG	CPA	CRA	MS
	-----Fcalc-----				
<i>Paspalum maritimum</i> – Parte aérea					
ER	32,090**	15,281**	26,225**	51,516**	0,761 ^{ns}
C	18,305**	25,114**	1,177 ^{ns}	5,961**	27,938**
ER*C	3,740**	4,412**	4,673**	3,148**	0,481 ^{ns}
C.V.(%)	22,23	19,63	23,29	23,97	62,78
<i>Paspalum maritimum</i> – Parte radicular					
ER	6,687**	12,989**	17,752**	4,421**	4,722**
C	1,544 ^{ns}	2,208 ^{ns}	10,327**	5,774**	1,227 ^{ns}
ER*C	1,076 ^{ns}	0,870 ^{ns}	3,168**	1,560 ^{ns}	0,909 ^{ns}
C.V.(%)	16,57	17,04	15,34	17,97	38,12

Observa-se ainda que para a variável germinação apenas as espécies receptoras submetidas ao extrato da parte aérea de *Paspalum maritimum* apresentaram efeito significativo para a interação espécie receptora x concentração. Estas interações expressam que há diferença para o potencial alelopático entre as espécies receptoras testadas, sendo que a expressão desses resultados depende da concentração utilizada. Para o extrato radicular de *P. maritimum*, nesta mesma interação, houve significância apenas o comprimento da parte aérea

da plântula.

Há trabalhos que relataram maior efeito alelopático da parte aérea comparado a parte radicular da planta (JACOBI e FERREIRA, 1991; CHON e KIM, 2002; TURK e TAWAHA, 2002; AIRES et al., 2005; RIBEIRO et al., 2009). Moameri et al. (2011) observaram que o extrato da parte aérea de *Haloxylon aphyllum* apresentou maior potencial alelopático comparado ao extrato da parte radicular, possivelmente devido a maior concentração de aleloquímicos nas folhas.

Os resultados do teste de média das espécies receptoras submetidas ao extrato aquoso da parte radicular de *P. maritimum*, que apresentaram significância, para as variáveis germinação, comprimento radicular, matéria seca e índice de velocidade de germinação estão dispostos na Tabela 6. Analisando todas as variáveis, a espécie *E. coccinea* é menos vigorosa.

Tabela 6. Teste de média das variáveis germinação (G), comprimento radicular (CRA), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG) das espécies receptoras submetidas ao extrato aquoso da parte radicular de *P. maritimum*.

Espécies	G	CRA	MS	IVG
<i>L. sativa</i>	98,891a	110,172a	88,922ab	92,532bc
<i>D. insularis</i>	86,352b	95,712b	109,778a	96,461b
<i>E. coccínea</i>	94,581ab	98,728ab	75,694b	81,719c
<i>P. oleraceae</i>	104,86a	94,618b	87,545ab	108,370a

O efeito alelopático só ocorre se os metabólitos secundários liberados pela planta doadora estiverem em concentrações adequadas e forem absorvidos e translocados até algum sítio de ação, que resulte em algum comprometimento na espécie receptora. Segundo Taiz e Zeiger (2013), devido às diferenças morfológicas e fisiológicas nas espécies receptoras, pode ocorrer variação nessa absorção e translocação do composto. Isto poderia explicar a maior sensibilidade de *E. coccinea* ao extrato.

Pelas curvas de dose-resposta, pode-se observar com mais clareza a sensibilidade das espécies receptoras (*L. sativa*, *D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae*) aos aleloquímicos presentes no extrato, determinando a concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha (CL₅₀) (Tabela 7).

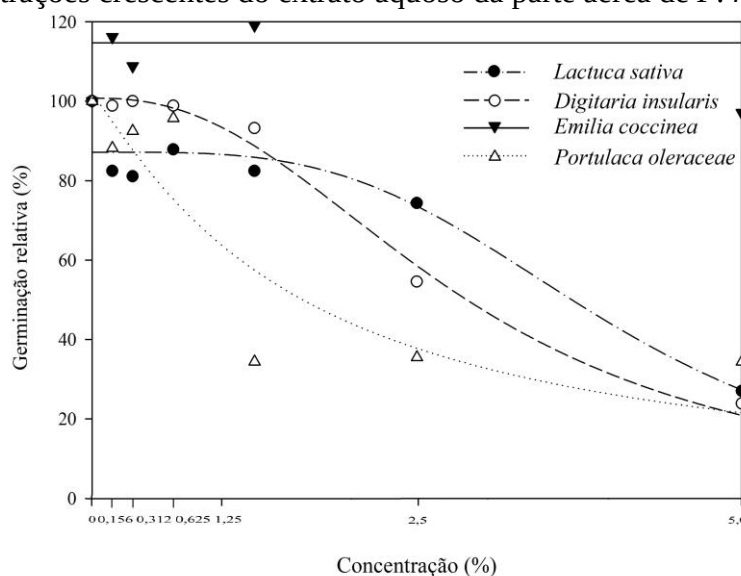
Tabela 7. Estimativas do parâmetro a, b e c do coeficiente de determinação (R²) do modelo log-logístico, para germinação (G), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato aquoso da parte aérea (P.A.) e radicular (R.A.) de *P. maritimum*.

Variável	Parte planta	Espécie receptora	Parâmetros ⁽¹⁾			R ⁽²⁾	F ⁽³⁾
			a	b	c		
G	P.A.	<i>L. sativa</i>	87,17**	4,009**	3,56*	0,96	25,23
		<i>D. insularis</i>	100,75**	2,863**	2,40**	0,99	220,25
		<i>E. coccínea</i>	114,70**	862368,74**	3,25**	0,00	0,00
		<i>P.oleraceae</i>	101,74**	1,571	1,13	0,89	8,29
	R.A.	MDE ⁽⁴⁾	101,02**	707,090	0,44	0,69	1,84
IVG	P.A.	<i>L. sativa</i>	91,97**	3,975**	2,86*	0,96	30,00
		<i>D. insularis</i>	99,79**	2,329**	4,28**	0,99	528,88
		<i>E. coccínea</i>	104,92**	5,284	28,11	0,76	2,76
		<i>P.oleraceae</i>	101,36**	4,222	0,73	0,90	8,70
	R.A.	MDE	101,32**	77,182	0,60	0,92	12,65
CPA	P.A.	<i>L. sativa</i>	90,43**	3,536**	4,72*	0,96	24,50
		<i>D. insularis</i>	100,22**	9735876,48	0,11	0,37	0,3364
		<i>E. coccínea</i>	126,96**	204305,01**	12881600,79**	1,4901	4,2914
		<i>P.oleraceae</i>	115,73 **	6930694,1**	41,7859**	0,0000	-7,2645
	R.A.	<i>L. sativa</i>	IDM ⁽⁵⁾	IDM	IDM	IDM	IDM
		<i>D. insularis</i>	IDM	IDM	IDM	IDM	IDM
		<i>E. coccínea</i>	IDM	IDM	IDM	IDM	IDM
		<i>P.oleraceae</i>	IDM	IDM	IDM	IDM	IDM
	P.A.	<i>L. sativa</i>	91,51**	3,336**	4,31*	0,98	63,47
		<i>D. insularis</i>	100,60**	68,399	0,39	0,56	0,93
		<i>E. coccínea</i>	94,84	0,856	0,90	0,71	2,17
		<i>P.oleraceae</i>	100,03**	4812,775	0,14	0,97	38,67
CR	R.A.	MDE	106,93**	14,626	1,110	0,83	4,68
MS	P.A.	MDE	92,87**	3,691**	3,59*	0,97	37,45
	R.A.	MDE	100,30**	1890816,013	0,14	0,48	0,61

⁽¹⁾Modelo: $y = y_0 + a/(1+(x/b)^c)$; ⁽²⁾Coefficiente de determinação da curva de regressão; ⁽³⁾Valor de F para regressão não linear; ⁽⁴⁾ Média das espécies; ⁽⁵⁾ Impossível determinar pelo método.

Observa-se uma redução da germinação de *L. sativa*, *D. insularis* e *P. oleraceae* com o aumento das concentrações do extrato aquoso da parte aérea de *P. maritimum*. Os dados obtidos para *E. coccinea* não se ajustaram ao modelo de regressão, haja vista que essa espécie não foi suscetível a esse extrato, impossibilitando a obtenção da curva de dose-resposta (Figura 8). Araniti et al. (2012), ao avaliarem os extratos aquosos de *Calamintha nepeta* (Lamiaceae), *Hypericum hircinum* (Hypericaceae), *Artemisia arborescens* (Asteraceae) e *Euphorbia rigida* (Euphorbiaceae) sobre *Chenopodium álbum*, *Sinapis alba* e *Echinochloa crus-galli*, observaram que esta última foi mais tolerante aos extratos, pois também não se ajustou ao modelo de regressão para a variável germinação de todos extratos, com exceção do extrato da espécie *A. arborescens*. Diferenças de sensibilidade entre espécies receptoras são comuns em trabalhos verificando alelopatia (DELACHIAVE et al., 1999; HOFFMANN et al., 2007; ALMEIDA et al., 2008; MARINOV-SERAFIMOV, 2010).

Figura 8. Porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de *P. maritimum*.



Para a parte aérea de *P. maritimum*, *P. oleraceae* demonstrou ser a espécie mais sensível para este extrato, sendo o valor da $CL_{50} = 1,571\%$, seguida da *D. insularis* e *L. sativa*, com CL_{50} de $2,863\%$ e $4,009\%$, respectivamente (Tabela 7). Fiorenza et al. (2016), observaram comportamento semelhante de inibição da germinação de espécies forrageiras com extrato da parte aérea de *Eragrostis plana* Nees (Poaceae), ao verificar que nas sementes de *Avena sativa* L. e *Trifolium pratense* L. a germinação foi inibida a partir da concentração de 10% , e para as de *Lolium multiflorum* Lam. e *Lotus corniculatus* L., a partir de 30% .

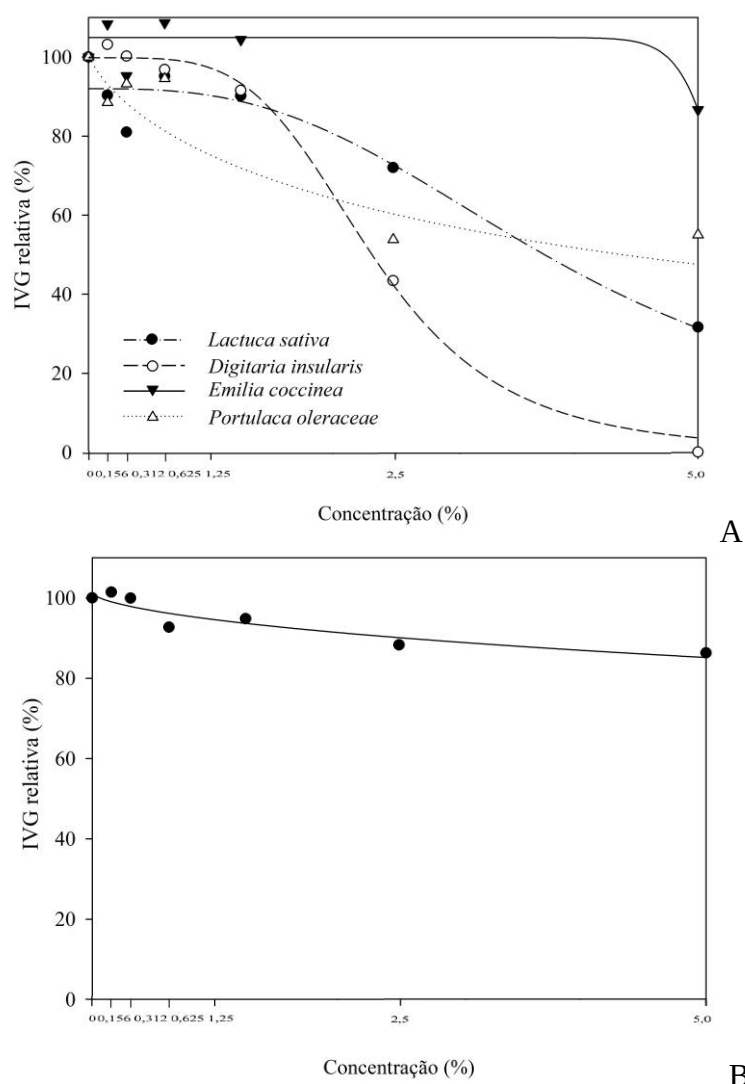
Concordando com esses resultados, Pirzad et al. (2010) observaram que a taxa de germinação, comprimento de parte aérea e radicular, e matéria seca de *P. oleraceae* foram

influenciadas pelos diferentes tipos de extrato aquoso da parte aérea de *Salvia officinalis* (Lamiaceae) e *Artemisia sieberi* (Asteraceae). Para esses autores, a maior porcentagem de inibição da germinação foi com as concentrações de 15 e 20%, respectivamente, mostrando que, dependendo da espécie doadora, há diferença na concentração necessária para mostrar o efeito alelopático nas espécies receptoras. Gholami et al. (2011) também verificaram efeito inibidor significativo sobre a germinação e crescimento da parte aérea e radicular da *P. oleraceae* sob ação de extratos aquosos de *Satureja hortensis* (Lamiaceae) e *Artemisia kopetdaghensis* (Asteraceae).

Ferreira e Borghetti (2004) relatam que o efeito alelopático pode não ocorrer sobre a porcentagem de germinação, e sim sobre outros processos de desenvolvimento da planta. Ferreira e Aquila (2000) também evidenciaram o fato de que a germinação é menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas. Chiapusio et al. (1997) indicam que, apesar de a porcentagem de germinação ser um índice muito utilizado, a mesma não evidencia outros aspectos do processo germinativo, por englobar apenas resultados finais, ignorando atrasos ou períodos inativos de germinação durante o bioensaio.

Nesse sentido, o extrato aquoso da parte aérea de *P. maritimum* provocou alterações no IVG para as espécies analisadas conforme o aumento das concentrações (Figura 9-A). *D. insularis* obteve a menor CL₅₀ com 2,329% (Tabela 7). Já a *E. coccinea*, houve pouca variação no IVG, ocorrendo uma diminuição de 14% em relação a testemunha. Para a parte radicular de *P. maritimum* (Figura 9-B), todas as espécies receptoras se comportaram de maneira semelhante, havendo pouca redução do IVG com a maior concentração analisada.

Figura 9. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.

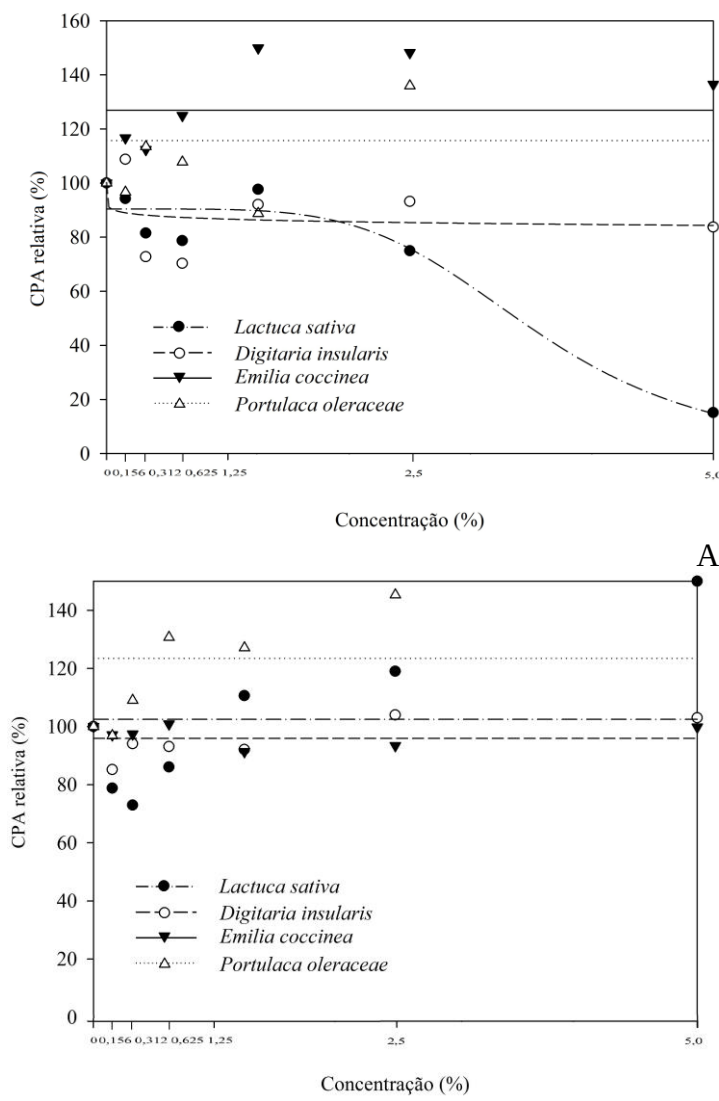


O atraso na velocidade de germinação é um indicador do efeito alelopático sobre o alongamento e divisão celular. Quanto menor o IVG, maior o tempo necessário para ocorrer a germinação. Hoagland e Williams (2004) observaram que isto pode ocorrer através da ativação de mecanismos de desintoxicação celular. Os mesmos autores também observaram que o tempo para a ativação deste mecanismo retarda a germinação.

Verificando o crescimento das plântulas, observa-se que o extrato da parte aérea de *P. maritimum* provocou redução do comprimento da parte aérea apenas para *L. sativa* (Figura 10-A). E o extrato da parte radicular de *P. maritimum* não provocou interferência no comprimento da parte aérea de *L. sativa*, *D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae* (Figura 10-B). Concordando a esse resultado, Ito et al (2015) avaliando a sensibilidade da *D. insularis*

sobre o extrato aquoso de *Triticum* sp. observaram que o comprimento de plântulas não foi afetado.

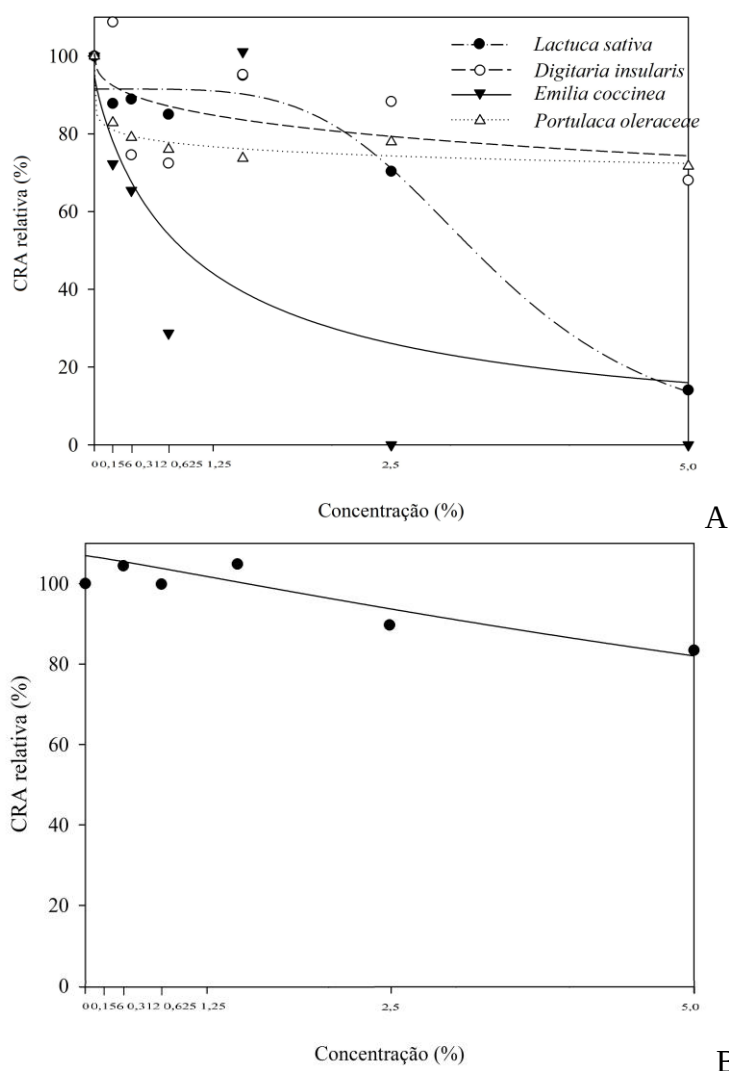
Figura 10. Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos aquosos da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.



Apenas para *L. sativa* foi possível determinar a CL_{50} do extrato da parte aérea de *P. maritimum* pelo modelo log logístico, sendo a concentração de 3,536% a que inibe 50% do comprimento da parte aérea das plântulas dessa espécie (Tabela 7). Semelhante a esse estudo para a espécie *L. sativa*, Borella et al. (2009) ao analisar os efeitos de extrato aquoso da parte aérea de *Persea americana* (Lauraceae) sobre sementes de *L. sativa* observaram inibição da germinação e crescimento inicial das plântulas. Zhi-Cong et al. (2016) constataram que o efeito alelopático do extrato aquoso de *Wedelia trilobata* (Asteraceae) em sementes de *L. sativa* e *Eupatorium catariun*, inibiu a germinação e diminui o comprimento das plântulas conforme o aumento da concentração.

O extrato aquoso da parte aérea de *P. maritimum* contribui para a redução do comprimento radicular da plântula (CRA) conforme o aumento da concentração (Figura 11-A), sendo que a *E. coccinea* apresentou maior redução com a menor concentração, sendo a $CL_{50} = 0,85\%$ (Tabela 7). O extrato da parte radicular de *P. maritimum*, causou declínio do comprimento radicular de 16,5% da maior concentração em relação à testemunha, na média de todas as espécies receptoras (Figura 11-B).

Figura 11. Comprimento radicular (CRA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos aquosos da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.



No presente estudo, verificou-se que o comprimento da parte aérea da plântula, para o extrato da radicular de *P. maritimum*, apresentou menor sensibilidade aos aleloquímicos do extrato quando comparado ao comprimento da parte radicular da plântula. Vários estudos de alelopatia revelam que as raízes são mais sensíveis aos aleloquímicos que a parte aérea da

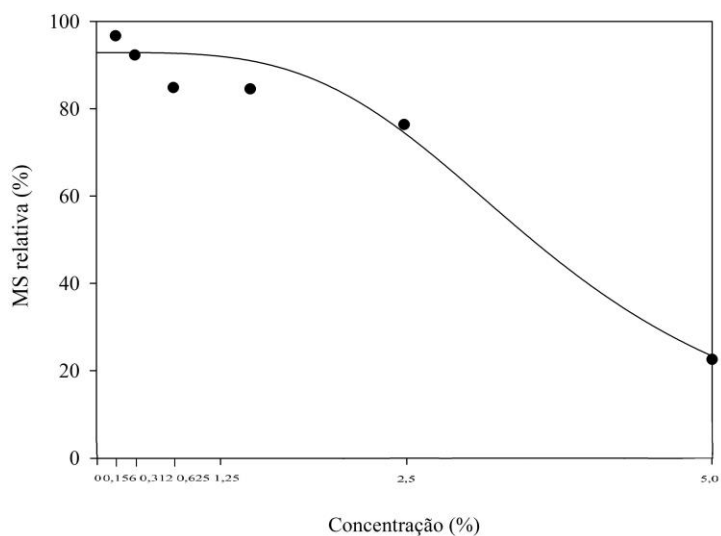
plântula (CHUNG et al., 2001; PARVEZ et al. 2003; RAHMAN, 2006; PUNJANI, et al., 2006; OLIVEIRA e CAMPOS, 2006; ERCOLI et al., 2007; BARBOSA et al., 2008; BORELLA et al., 2009; INOUE et al., 2010; GUSMAN et al., 2011; GRISI et al., 2012; NERY et al., 2013). De acordo com Chon et al. (2003) , as raízes são geralmente mais sensíveis as substâncias presentes nos extratos, quando comparada com outras estruturas da plântula, devido o seu contato direto e prolongado das raízes com o extrato (aleloquímico) e / ou a uma resposta fisiológica distinta entre estruturas (FERREIRA e AQUILA, 2000).

A inibição do crescimento e desenvolvimento das raízes por aleloquímico pode ser devido as alterações na síntese de DNA em células do meristema apical, alteração do metabolismo mitocondrial (ABRAHIM et al., 2000) ou alterações nos índices mitóticos de células (DAYAN et al. 1999 ; ROMAGNI; ALLEN; DAYAN, 2000 ; PIRES et al., 2001; FERREIRA, 2004; IGANCI et al., 2006; RAHMAN, 2006). O crescimento da raiz é caracterizado por altas taxas metabólicas, e por esta razão as raízes são altamente suscetíveis a estresses ambientais, tais como aleloquímicos em substrato (CRUZ - ORTEGA et al. , 1998).

Ao nível celular, o aleloquímico induz a peroxidação de lipídios, afeta certas atividades enzimáticas e despolariza rapidamente a membrana da célula de raiz, o que resulta em um aumento generalizado na permeabilidade da membrana, bloqueando assim a absorção de nutrientes de plantas (SANTOS; RESENDE, 2008). O efeito do extrato sobre o crescimento de raiz retarda o desenvolvimento das plantas daninhas, favorecendo o crescimento das espécies de cultivo (SOUZA FILHO e ALVES, 2000). Khanh et al. (2005) relatou que o nível mais elevado da inibição da planta por alelopatia pode ocorrer quando os níveis máximos de aleloquímicos coincidem com os estágios iniciais de desenvolvimento.

Em relação à matéria seca das plântulas, o extrato da parte aérea de *P. maritimum* causou decréscimo na matéria seca das plântulas de todas as espécies receptoras, intensificando a partir da concentração 1,25% (Figura 12).

Figura 12. Matéria seca (MS) da média das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de *P. maritimum*.



3.3.4 Extrato etanólico

A análise de variância dos dados obtidos, para o extrato etanólico da parte aérea de *P. maritimum*, indicou que as espécies receptoras apresentaram efeito significativo para as variáveis G, IVG e CRA. O extrato etanólico radicular apresentou significância para as espécies receptoras em todas variáveis analisadas (G, IVG, CPA, CRA e IVG) (Tabela 9). Da interação entre espécie receptora e concentração, em todas as variáveis analisadas, constatou-se efeito significativo, com exceção da matéria seca e comprimento radicular da plântula, quando submetida ao extrato etanólico da parte aérea e parte radicular de *P. maritimum*, respectivamente (Tabela 8).

Tabela 8. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato etanólico da parte aérea e radicular de *P. maritimum* e da interação entre esses fatores (ER*C).

Análise de variância	G	IVG	CPA	CRA	MS
	-----F _{calc} -----				
<i>Paspalum maritimum</i> – Parte aérea					
ER	4,612**	19,512**	0,740 ^{ns}	17,210**	0,761 ^{ns}
C	161,636**	230,867**	115,237**	162,109**	27,938**
ER*C	4,484**	8,487**	2,038*	6,973**	0,481 ^{ns}
C.V.(%)	25,02	19,99	26,56	25,75	62,78
<i>Paspalum maritimum</i> – Parte radicular					
ER	14,927**	19,901**	12,681**	3,583*	4,040*
C	171,057**	134,946**	94,875**	116,186**	37,644**
ER*C	7,413**	6,338**	3,872**	1,348 ^{ns}	3,094**
C.V.(%)	26,14	23,74	29,96	33,52	56,62

Pode-se verificar ainda mais variáveis com significância do extrato etanólico da parte radicular de *P. maritimum* do que a verificada com o extrato aquoso (Tabela 5). Esse fato pode estar associado à maior capacidade do solvente orgânico de retirar da planta maiores quantidades ou substâncias inibidoras específicas. Nesse contexto, Parente et al. (2015) avaliaram a atividade alelopática de extratos aquoso e etanólico obtidos a partir de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Lycopersicon esculentum* Mill, e verificaram que os parâmetros germinativos não foram influenciados pela aplicação do extrato aquoso, no entanto, quando utilizado o extrato etanólico, houve efeitos adversos no processo de germinação das espécies receptoras. O mesmo comportamento foi observado por Oliveira et al. (2002), corroborando os resultados encontrados no presente estudo para a parte radicular de *P. maritimum*.

Na Tabela 9, estão dispostos os dados referentes ao comprimento radicular das espécies receptoras submetidas ao extrato etanólico radicular de *P. maritimum*. Verifica-se que houve redução do comprimento radicular das plântulas de *L. sativa*, *D. insularis* e *P. oleraceae* quando submetidas ao extrato.

Tabela 9. Teste de média do comprimento radicular (CRA) das espécies receptoras submetidas ao extrato etanólico da parte radicular de *P. maritimum*.

Espécies	CRA
<i>L. sativa</i>	32,417b
<i>D. insularis</i>	41,703ab
<i>E. coccínea</i>	44,14a
<i>P. oleraceae</i>	41,701ab

As curvas de dose-resposta representam de forma mais clara os padrões observados nas espécies *L. sativa*, *D. insularis*, *E. coccínea* e *P. oleraceae*. As equações utilizadas para descrever a resposta das diferentes espécies em função das concentrações foram satisfatórias, pois a maioria dessas apresentaram coeficiente de determinação acima de 95% (Tabela 10).

Tabela 10. Estimativas dos parâmetros a, b e c, e do coeficiente de determinação (R^2) do modelo log-logístico, para germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e matéria seca (MS) de sementes das espécies receptoras utilizando extrato etanólico da parte aérea (P.A.) e radicular (R.A.) de *P. maritimum*.

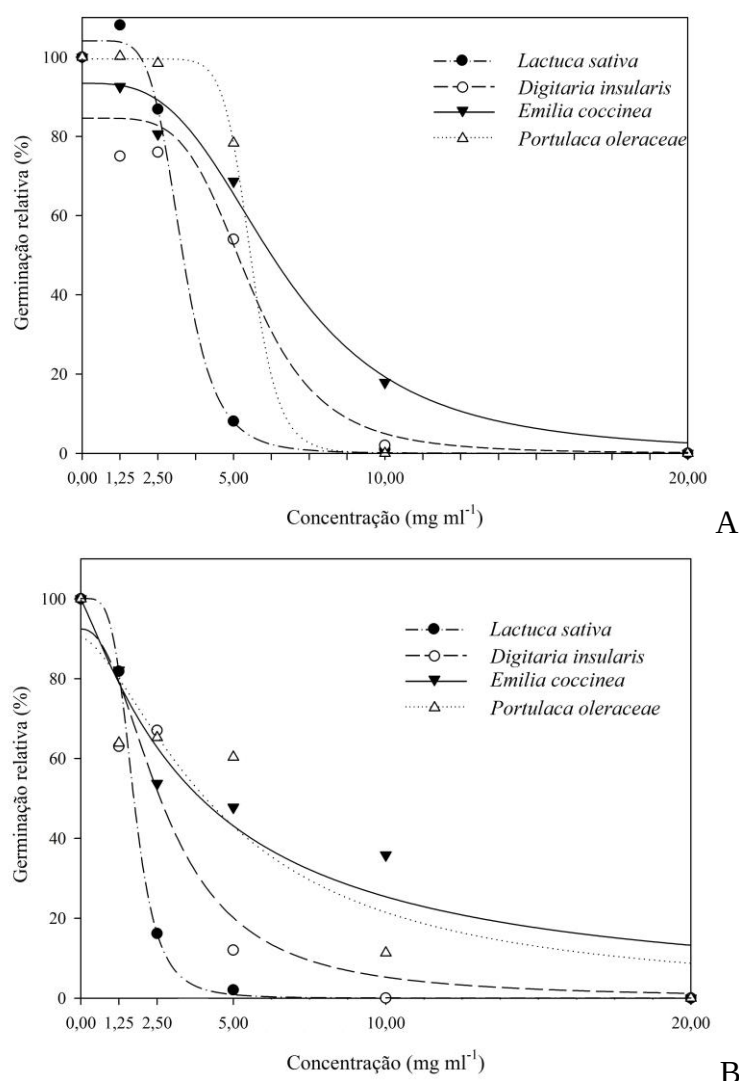
Variável	Parte planta	Espécie receptora	Parâmetros ⁽¹⁾			$R^{(2)}$	F ⁽³⁾
			a	b	C		
G	P.A.	<i>L. sativa</i>	104,12**	3,287**	5,95**	0,99	574,06
		<i>D. insularis</i>	84,59**	5,55**	4,73	0,97	32,18
		<i>E. coccínea</i>	93,37**	6,54**	3,16*	0,99	92,41
		<i>P. oleraceae</i>	99,54**	5,56**	12,14	0,99	9875,42
	R.A.	<i>L. sativa</i>	100,04**	1,74**	4,52**	0,99	10890,47
		<i>D. insularis</i>	92,40**	2,80*	2,21	0,96	19,31
		<i>E. coccínea</i>	99,69**	3,95*	1,15*	0,96	21,83
		<i>P. oleraceae</i>	90,35*	4,70	1,54	0,93	11,15
IVG	P.A.	<i>L. sativa</i>	101,69**	3,89**	2,75**	0,99	1328,74
		<i>D. insularis</i>	84,94**	7,49**	4,82	0,97	32,04
		<i>E. coccínea</i>	100,06**	1,78*	1,14*	0,99	81,30
		<i>P. oleraceae</i>	97,13**	5,77	12,34	0,99	681,86
	R.A.	<i>L. sativa</i>	93,09**	3,86**	7,72	0,99	181,58
		<i>D. insularis</i>	93,72**	2,90*	2,03	0,97	24,90
		<i>E. coccínea</i>	96,94 **	5,62*	1,17*	0,97	23,94
		<i>P. oleraceae</i>	92,13**	9,62**	3,95	0,98	57,21
CPA	P.A.	<i>L. sativa</i>	81,19**	5,5672*	5,89	0,96	21,46
		<i>D. insularis</i>	84,24**	6,56*	2,78	0,96	19,05
		<i>E. coccínea</i>	95,76**	5,025	0,96	0,92	8,44
		<i>P. oleraceae</i>	82,62**	5,91	10,21	0,97	27,27
	R.A.	<i>L. sativa</i>	79,00**	11,42	5,93	0,96	17,88
		<i>D. insularis</i>	81,12**	6,00	15,71	0,97	23,88
		<i>E. coccínea</i>	84,43**	11,61	8,09	0,95	13,96
		<i>P. oleraceae</i>	98,13*	1,99	0,80	0,92	8,72

CRA	P.A.	<i>L. sativa</i>	100,12**	2,86**	2,14**	0,99	164,66
		<i>D. insularis</i>	97,70**	2,67*	1,42*	0,98	53,20
		<i>E. coccínea</i>	99,82**	1,13	0,76	0,98	41,65
		<i>P.oleraceae</i>	96,58**	5,742	13,46	0,99	971,11
	R.A.	MDE ⁽⁴⁾	99,26**	1,81*	1,26*	0,98	41,68
MS	P.A.	MDE	92,79**	4,40**	2,56	0,98	49,09
	R.A.	<i>L. sativa</i>	99,74**	1,90**	3,821**	0,999	2307,36
		<i>D. insularis</i>	118,87**	3,99	61,37	0,979	36,05
		<i>E. coccínea</i>	108,54**	4,67*	2,19*	0,983	44,05
		<i>P.oleraceae</i>	85,78**	6,20**	3,72	0,977	32,623

⁽¹⁾Modelo: $y = y_0 + a/(1+(x/b)^c)$; ⁽²⁾Coefficiente de determinação da curva de regressão; ⁽³⁾Valor de F para regressão não linear; ⁽⁴⁾ Média das espécies.

Os extratos etanólicos, da parte aérea e radicular de *P. maritimum*, apresentaram possível potencial alelopático para as espécies analisadas. Conforme o aumento da concentração do extrato houve uma diminuição na germinação para todas as espécies receptoras. As espécies *L. sativa* e *D.insularis* nos extratos da parte aérea(Figura 13-A) e radicular (Figura 13-B) de *P. maritimum*, obtiveram a menor concentração para a variável germinação, sendo a CL₅₀ de 3,28 e 5,55 mg ml⁻¹ e 1,74 e 2,80 mg ml⁻¹ (Tabela 10), respectivamente. O extrato radicular de *P. maritimum*, comparado ao da parte aérea da mesma espécie, apresentou CL₅₀ menor para a porcentagem de germinação de sementes das espécies utilizadas (Tabela 10).

Figura 13. Porcentagem de germinação das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.



Souza Filho (2006), comparando os efeitos alelopáticos da parte aérea e raiz de *P. maritimum* sobre as espécies *Mimosa pudica*, *Senna obtusifolia*, *Pueraria phaseoloides* e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, verificou que houve maior inibição da germinação dessas espécies com o extrato da parte aérea, e o extrato radicular provocou maior inibição do comprimento radicular das plântulas, diferindo da presente pesquisa pois houve maior inibição da germinação com o extrato da parte radicular de *P. maritimum*.

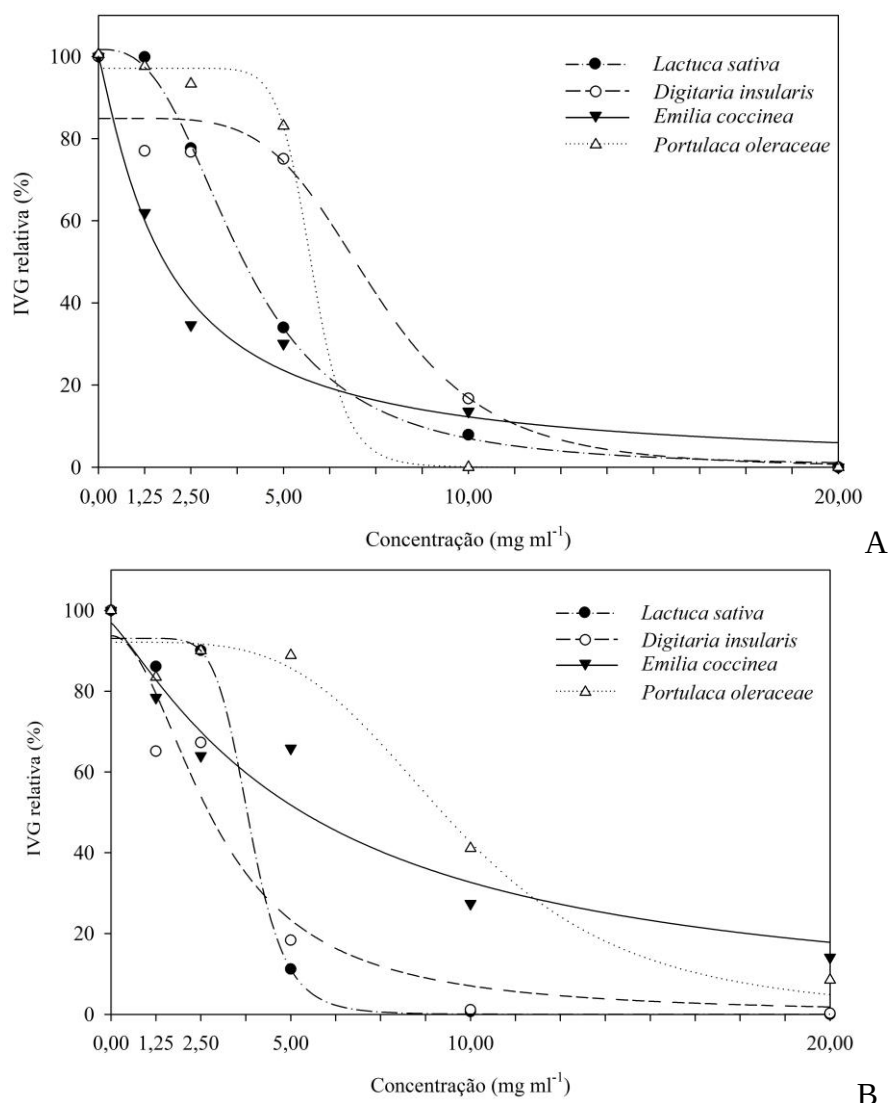
Constatou-se diferenças do efeito alelopático na germinação entre as espécies receptoras, corroborando com Marinov-Serafimov (2010), que relatou diferenças na inibição das espécies receptoras de plantas daninhas quando submetidas ao extrato de leguminosas.

Percebe-se também que a parte aérea e radicular de *P. maritimum* apresentou efeito alelopático, corroborando o trabalho de Borges et al. (1994), que verificaram que todos os órgãos da planta tem potencial para armazenar aleloquímicos, porém a natureza química e a

quantidade podem variar com a idade e o órgão da planta, além de outros fatores. E a quantidade e as rotas pelas quais são liberados diferem de espécie para espécie (TAIZ e ZEIGER, 2013). Por isso, as espécies apresentam diferentes respostas alelopáticas de compostos de diferentes órgãos de uma mesma planta, como já constataram Aires et al. (2005) em *Solanum lycocarpum* (Solanaceae); GATTI et al. (2010) em *Aristolochia esperanzae* (Aristolochiaceae), SOUZA FILHO et al. (2010), em três espécies de *Copaifera* (Leguminosae) e COELHO et al. (2011), em *Ziziphus joazeiro* (Rhamnaceae).

Para o índice velocidade de germinação (IVG), houve interação entre a concentração do extrato etanólico e as espécies receptoras para todos os extratos analisados (Figura 14). Para todas as espécies receptoras, a velocidade de germinação das sementes reduziu com o aumento das concentrações. As espécies *E. coccinea* e *D. insularis* obtiveram a menor CL₅₀ (1,78 mg ml⁻¹ e 2,90 mg ml⁻¹) (Tabela 10) para os extratos da parte aérea e radicular de *P. maritimum*, respectivamente (Figura 14 - A e B). De modo semelhante, Wandscheer e Pastorini (2008) observaram que extratos de raízes e folhas de *Raphanus raphanistrum* L. provocaram alterações no IVG de sementes de *L. sativa* em todas as concentrações de extrato utilizadas.

Figura 14. Índice de velocidade de germinação (IVG) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.

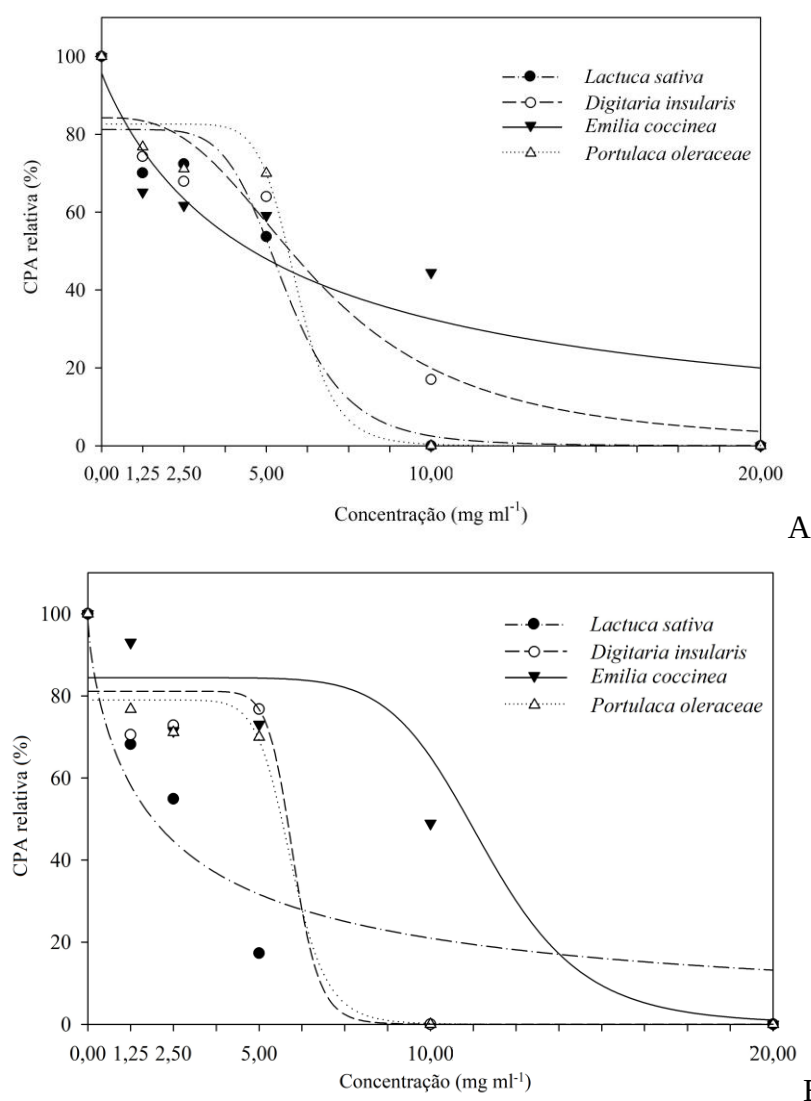


SILVA et al. (2010) ao avaliar o potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Anadenanthera macrocarpa* (Fabaceae) e *Astronium graveolens* (Anacardiaceae) na germinação de *Brassica chinensis* e *Lactuca sativa*, verificou que os extratos apresentaram potencial alelopático, independente da concentração utilizada, mas com resposta dose dependente, sendo assim capaz de interferir diretamente na germinação e no IVG. Diferindo desses resultados, Malheiros et al. (2014) verificou que em relação a germinação e IVG os extratos etanólicos da parte aérea de *L. pacari* (Lythraceae) não afetou as sementes de *L. sativa*, porém, inibiu o crescimento radicular da plântula.

Observa-se que os extratos etanólicos da parte aérea e radicular de *P. maritimum* contribuíram para a diminuição do comprimento da parte aérea, mais intensamente a medida

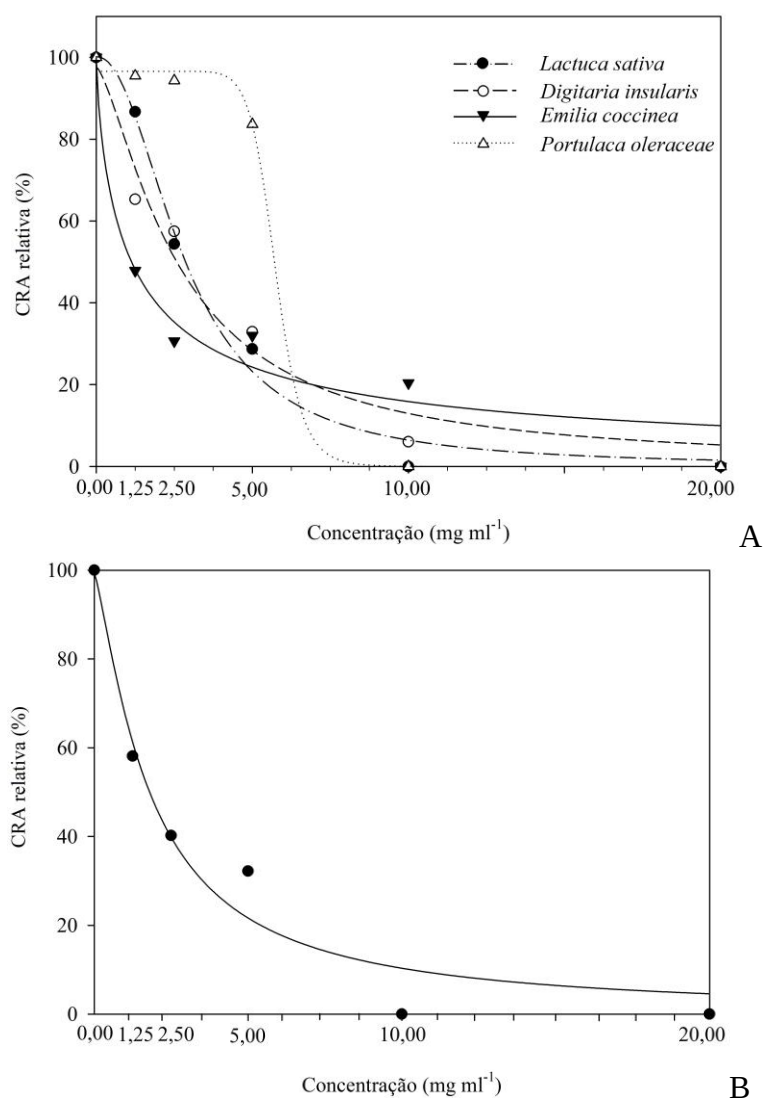
que se aumentava a concentração (Figura 15), indicando que o efeito alelopático do extrato das plantas é dependente das concentrações. Para a parte aérea de *P. maritimum* (Figura 15-A), a espécie *E. coccinea* apresentou CL_{50} inferior às outras espécies receptoras ($CL_{50} = 5,02 \text{ mg ml}^{-1}$) (Tabela 10). De todas as espécies receptoras analisadas, a *L. sativa* apresentou a menor CL_{50} ($2,39 \text{ mg ml}^{-1}$) para o extrato etanólico da parte radicular de *P. maritimum* (Figura 15-B), mostrando ser a espécie mais sensível para o comprimento da parte aérea de plântulas.

Figura 15. Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.



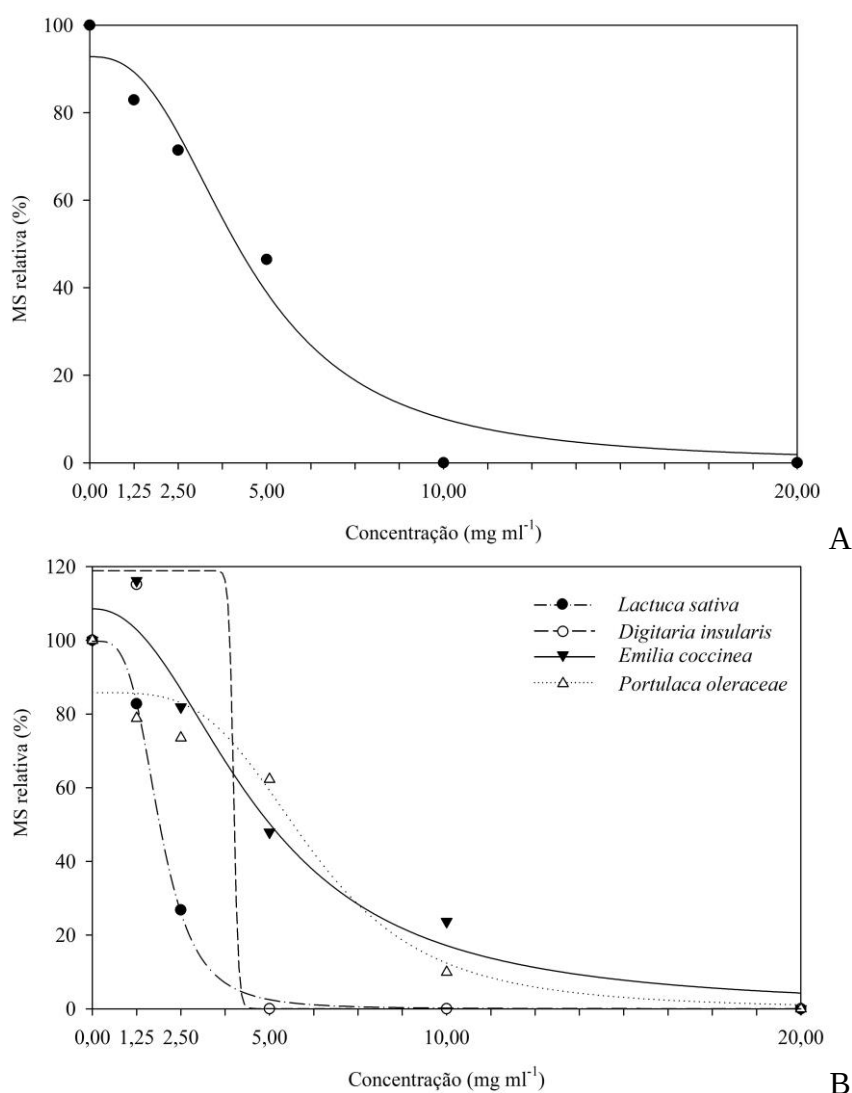
No crescimento das plântulas em extrato etanólico (Figura 16), também houve diminuição no comprimento das raízes sob a influência das concentrações. Com o extrato da parte aérea de *P. maritimum* (Figura 16-A), a espécie *E. coccinea* foi mais sensível ao comprimento radicular da plântula, apresentando uma $CL_{50} = 1,12 \text{ mg ml}^{-1}$, e a *P. oleraceae* necessitou de uma concentração maior para a redução do comprimento de raiz, $CL_{50} = 5,74 \text{ mg ml}^{-1}$ (Tabela 10). Para a parte radicular de *P. maritimum*, apesar de não ter havido diferença entre as concentrações para as espécies receptoras (Tabela 8), o declínio do comprimento radicular foi proporcional ao aumento das concentrações (Figura 16-B). Essa inibição do crescimento de plântula, sob o ponto de vista ecológico, é um mecanismo de seleção mais eficiente do que evitar a germinação da planta daninhas, pois assim a descendência é eliminada (JACOBI e FERREIRA, 1991).

Figura 16. Comprimento radicular (CRA) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.



Os extratos etanólicos da parte aérea e radicular de *P. maritimum* influenciaram a MS das espécies receptoras analisadas. Para o extrato da parte aérea, independente da espécie receptora, houve diminuição da MS conforme o aumento da concentração do extrato (Figura 17-A). Diferindo desse resultado, Moameri et al. (2011), verificou que houve alteração na MS das espécies *Agropyron elongatum* e *Agropyron desertorum*, quando submetidas ao extrato da parte aérea de *Haloxylon apyllum*. As espécies *L. sativa*, *D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae* apresentaram decréscimo na MS conforme o aumento das concentrações do extrato da parte radicular de *P. maritimum* (Figura 17-B), sendo que a *L. sativa* apresentou a menor Cl_{50} (1,90 mg ml⁻¹) (Tabela 10).

Figura 17. Matéria seca de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea (A) e radicular (B) de *P. maritimum*.



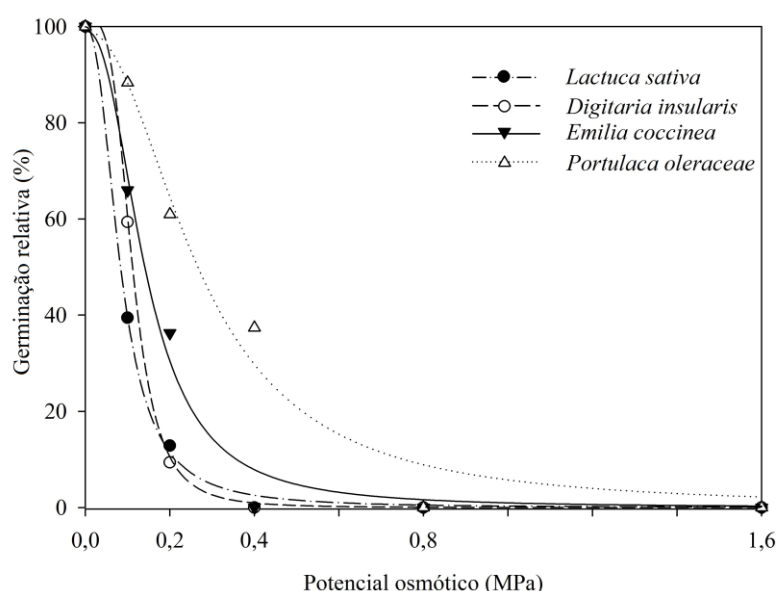
3.3.5 Potencial Osmótico

Acredita-se que o efeito inibitório de extratos vegetais na germinação de sementes ou no crescimento inicial é causado por aleloquímicos, mas existe também a possibilidade de que os extratos exerçam efeitos osmóticos negativos sobre as espécies receptoras, o que poderia se atribuir as diferenças nos parâmetros de germinação.

Os solutos presentes no extrato podem alterar a propriedade da água, resultando numa pressão osmótica diferente de zero na solução (VILLELA et al., 1991). Assim, o controle da concentração de solutos dos extratos é fundamental na realização de ensaios alelopáticos, pois podem haver neles substâncias como açúcares, aminoácidos, entre outros, que podem influenciar na concentração iônica e ser osmoticamente ativos (FERREIRA e BORGHETTI, 2004), mascarando o efeito alelopático (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Nesse sentido, na Figura 18 encontra-se o efeito da germinação das espécies receptoras submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos. A partir da concentração de - 0,1 MPa houve diminuição da germinação para as espécies *L. sativa*, *D. insularis* e *E. coccinea*. Para *P. oleraceae*, essa diminuição na germinação foi a partir da concentração de PEG a - 0,2 MPa. A ordem de susceptibilidade das espécies receptoras em função das concentrações foi: *P. oleraceae* > *E. coccinea* > *D. insularis* > *L. sativa*.

Figura 18. Germinação das espécies receptoras submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos.



Na Tabela 11, é demonstrado o potencial osmótico do extrato aquoso e etanólico da parte aérea e radicular de *P. maritimum*. Associando esses resultados, com o observado na Figura 17, valores maiores que - 0,1 MPa sugerem um possível efeito alelopático para as espécies *L. sativa*, *D. insularis* e *E. coccinea*. No extrato aquoso da parte aérea esses valores são encontrados na concentração de 5,00% (-0,161 MPa), e na parte aérea e radicular do extrato etanólico, a partir da concentração de 2,5 mg ml⁻¹ (-0,105 MPa) e 20mg ml⁻¹ (-0,126 MPa), respectivamente. Porém, verificou-se que não houve interferência do efeito osmótico sobre os parâmetros avaliados, pois a CL₅₀ dessas espécies está abaixo dessas concentrações que causaram efeito osmótico, mostrando que os efeitos são devidos possivelmente aos aleloquímicos contidos no extrato.

Tabela 11. Potencial osmótico do extrato aquoso e etanólico de *Paspalum maritimum*.

Extrato	Aquoso		Etanólico		
	Concentração (%)	Ψs (Mpa)	Concentração (mg ml ⁻¹)	Ψs (Mpa)	
<i>Paspalum maritimum</i>	Parte aérea	0	0,000	0	-0,015
		0,156	-0,042	1,25	-0,089
		0,312	-0,057	2,5	-0,105
		0,625	-0,046	5	-0,104
		0,125	-0,056	10	-0,106
		0,25	-0,076	20	-0,104
		5,00	-0,161	-	-
	Parte radicular	0	0,000	0	-0,015
		0,156	-0,042	1,25	-0,064
		0,312	-0,054	2,5	-0,059
		0,625	-0,055	5	-0,077
		0,125	-0,043	10	-0,076
		0,25	-0,055	20	-0,126
		5,00	-0,066	-	-

3.4 CONCLUSÕES

Na fração mais ativa da parte aérea de *P. maritimum*, acetato de etila, identifica-se a presença de taninos condensados, chalconas e auronas, flavononas, esteróides e saponinas.

O extrato aquoso da parte aérea de *Paspalum maritimum* reduz a porcentagem de germinação de *Portulaca oleraceae*, o comprimento da parte aérea de *Lactuca sativa*, o comprimento de raiz de *Emilia coccinea* e o índice de velocidade de germinação de *Digitaria insularis*.

O extrato aquoso da parte radicular de *Paspalum maritimum* não possui efeito alelopático sobre as espécies testadas.

Dentre as espécies estudadas, *Emilia coccinea* é a mais sensível aos efeitos alelopáticos do extrato etanólico da parte aérea de *P. maritimum*.

O extrato etanólico da parte radicular de *Paspalum maritimum*, reduz a porcentagem de germinação de *Lactuca sativa* e *Digitaria insularis*, o comprimento da parte aérea das plântulas de *L. sativa*, *D. insularis* e *P. oleraceae* e o índice de velocidade de germinação de *Digitaria insularis*.

3.5 REFERENCIAS

ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**, v.26, p. 611-624, 2000.

AGATI, G.; TATTINI, M. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. **New Phytologist**, v. 186, p.786-793, 2010.

AIRES, S.S.; FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamun indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasílica**, v. 19, p. 339-344, 2005.

ALLEM, L. N. **Atividade alelopática de extratos e triturados de folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) sobre o crescimento inicial de espécies alvo e identificação de frações ativas através de fracionamento em coluna cromatográfica.** 2010. 84f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2010.

ALMEIDA, L.F. R.; DELACHIAVE, M.E.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; SANTOS, L.C.; MANCINI, E.; DE FEO, V. de et al. In vitro allelopathic potential of *Leonurus sibiricus* L. leaves. **Journal of Plant Interactions**, v.3, n.1, p. 39-48, 2008.

AL-SHERIF, E.; HEGAZY, A.K.; GOMMA, N.H.; HASSAN, M.O. Allelopathic effect of black mustard tissues and root exudates on some crops and weeds. **Planta Daninha**, v. 31, p. 11-19, 2013.

ARANITI, F.; SORGONÀ, A.; LUPINI, A.; ABENAVOLI, M.R. Screening of Mediterranean wild plant species for allelopathic activity and their use as bio-herbicides. **Allelopathy Journal**, v. 29, p. 107-124, 2012.

AUYEUNG, K.K.; CHO, C.H.; KO, J.K. A novel anticancer effect of Astragalus saponins: Transcriptional activation of NSAID-activated gene. **International Journal of Cancer**, v.125, p. 1082-1091, 2009.

AVATO, P.; BUCCI, R.; TAVA, A.; VITALI, C.; ROSATO, A.; BIALY, Z.; JURZYSTA, M. Antimicrobial activity of saponins from medicago sp: Structure-activity relationship. **Phytother Research**, v. 20, p. 454-457, 2006.

BARBIN, D. **Planejamento e análise de experimentos agronômicos.** Arapongas: Midas, 2003. 208 p.

BARBOSA, E.G.; PIVELLO, V.R.; MEIRELLES, S.T. 2008. Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 825-831, 2008.

BERTOLDI, C.; LEO, M.; BRACA, A.; ERCOLI, A. Bioassay-guided isolation of allelochemicals from *Avena sativa* L.: allelopathic potential of flavone C-glycosides. **Chemoecology**, v. 19, p. 169–176, 2009.

BITENCOURT, H.R., SANTOS, L.S.; SOUZA FILHO, A.P.S. Atividade alelopática de chalcona sintética, de seus precursores e de cetonas e aldeídos relacionados. **Planta Daninha**, v.25, n. 4, p. 747-753, 2007.

BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. Sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 3, p. 260-265, 2009.

BORGES, E. E. L.; SILVA, G. F.; LOPES, E. S. Avaliação de substâncias alelopáticas em vegetação de uma floresta secundária. **Revista Árvore**, Viçosa, v.18, n.3, p.275-286, 1994.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.209-222.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry e Molecular Biology of plants**. American Society of Plant Physiologists, Rockville, 2000, 1367p.

BUER, C.S.; DJORDJEVIC, M.A. Architectural phenotypes in the transparent test a mutants of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 751–763, 2009.

CARMO, F. M. S.; LIMA, E.E. B.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n.3, p. 697-705, 2007.

CATUNDA, M.G.; SOUZA, C.L.M.; MORAIS, V.; CARVALHO, G.J.A.; FREITAS, S.P. Efeitos de extratos aquosos de tiririca sobre a germinação de alface, pimentão e jiló e sobre a divisão celular na radícula de alface. **Revista Ceres**, v. 49, p. 1-11, 2002.

CHIAPUSIO, G.; SÁNCHEZ, A.M.; REIGOSA, M.J.; GONZÁLEZ, L.; PELLISSIER, L. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process. **Journal of Chemical Ecology**, v.11, p.2445-2453, 1997.

CHON, S.U.; KIM, J.D. Biological activity and quantification of suspected allelochemicals from alfalfa plant parts. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.188, n.4, p.281-285, 2002.

CHON, S.U.; NELSON, C.J.; COUTTS, J.H. Physiological assessment and path coefficient analysis to improve evaluation of alfalfa autotoxicity. **Journal of Chemical Ecology**, v.29, n.11, p.2413-2424, 2003.

CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 513-519, 2002.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p. 3-30.

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

COELHO, M.F.B.; MAIA, S.S.S.; OLIVEIRA, A.K.; DIÓGENES, F.E.P. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.108-111, 2011.

CORREA, M. J. C.; MARINHO, P. S. B.; MARINHO, A. M. R.; SANTOS, L. S.; GUILHON, G. M. S. P.; RIBEIRO, W. S.; SOUZA-FILHO, A.P.S. **Efeito alelopático da flavona tricina sobre plantas invasoras de pastagens**. In: REUNIÃO ANUAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 33., 2010, Águas de Lindóia. A química construindo um futuro melhor. [São Paulo]: SBQ, 2010.

CRUZ-ORTEGA, R.; ANAYA, A.L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B.E.; LAGUNA-HERNÁNDEZ, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v.24,p. 2039- 2057, 1998.

DAYAN, F.E.; WATSON, S.B.; GALINDO, J.C.G.; HERNÁNDEZ, A.; DOU, J.; MCCHESENEY, J.D. ; DUKE, O. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and

structural requirements. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.65, p. 15-24, 1999.

DELACHIAVE, M. E. A.P.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Efeitos alelopáticos de losna (*Artemisia absinthium* L.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.265-269, 1999.

EDWARDS, W.R.; HALL, J.A.; ROWLAN, A.R.; SCHNEIDER-BARFIELD, T.; SUN, T.J.; PATIL, M.A.; PIERCE, M.L.; FULCHER, R.G.; BELL, A.A., ESSENBERG, M. Light filtering by epidermal flavonoids during the resistant response of cotton to *Xanthomonas* protects leaf tissue from light-dependent phytoalexin toxicity. **Phytochemistry**, v. 69, p.2320-2328, 2008.

EINHELLIG F.A. Interactions involving allelopathy in cropping systems, **Agronomy Journal**, v. 88, p. 886–893, 1996.

ERCOLI, L.; MASONI, A.; PAMPANA, S.; ARDUINI, I. Allelopathic effects of rye, brown mustard and hairy vetch on redroot pigweed, common lambsquarter and knotweed. **Allelopathy Journal**, v.19, p. 249-256, 2007.

EVERALL, N.; LEES, D. The use of barley-straw to control general and bluegreen algal growth in a derbyshire reservoir. **Water Research**, v. 30, p.269-276, 1996.

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

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

FIORINZA, M.; DOTTO, D.B.; BOLIGNON, A.A.; BOLIGNON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; VESTENA, S. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-anonni). **Iheringia**, Série Botânica, v. 71, p. 193-200, 2016.

FIUZA, T. S. et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, p. 01-11, 2008.

GATTI, A.B.; FERREIRA, A.G.; ARDUIM, M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Allelopathic effects of aqueous extract of *Aristolochia esperanzae* O.kuntze on development of *Sesamum indicum* L. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, n.02, p. 454-461, 2010.

GHOLAMI, B.A.; FARAVANI, M.; KASHKI, M.T.K. Allelopathic effects of aqueous extract from *Artemisia kopetdaghensis* and *Satureja hortensis* on growth and seed germination

of weeds. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences**, v.1, n.9, p. 283-290, 2011.

GOMES, R.V.R.S.; VILELA, V.L.R.; GOMES, E.N.; MAIA, A. J.; ATHAYDE, A.C.R. Análise Fitoquímica de Extratos Botânicos Utilizados no Tratamento de Helmintoses Gastrointestinais de Pequenos Ruminantes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 4, p. 172-177, 2011.

GRISI, P.U.; GUALTIERI, S.C.J.; ANESE, S.; PEREIRA, V.C.; FORIM, M.R. Effect of *Serjania lethalis* ethanolic extract on weed control. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 31, n. 2, p. 239-248, 2013.

GRISI, P.U.; RANAL, M.A.; GUALTIERI, S.C.J.; SANTANA, D.G. Allelopathic potential of *Sapindus saponaria* L. leaves in the control of weeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 34, p.1-9, 2012.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 66, n. 1, p. 87 - 98, 2011.

HAGEMANN, T. R.; BENIN, G.; LEMES, C.; MARCHESE, J.A.; MARTIN, T.N.; PAGLIOSA, E.S.; BECHE, E.. Potencial alelopático de extratos aquosos foliares de aveia sobre azevém e amendoim-bravo. **Bragantia**, v. 69, p. 509-518, 2010.

HEMMERLIN, A.; HOFFFLER, J.F.; MEYER, O.; TRITSCH, D.; KAGAN, I.A.; GROSDEMANGE-BILLIARD, C.; ROHMER, M.; BACH, T.J. Cross talk between the cytosolic mevalonate and the plastidial methylerythritol phosphate pathways in Tobacco Bright Yellow-2 Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n.29, p. 26666-26676, 2003.

HERNÁNDEZ-TERRONES, M.G.; MORAIS, S.A.L.; FERREIRA, S.; SANTOS, D.Q.; NASCIMENTO, E.A.; CHANG, R. ESTUDO FITOQUÍMICO E ALELOPÁTICO DO EXTRATO DE CAULE DE SUCUPIRA-BRANCA (*Pterodon emarginatus*). **Planta Daninha**, v.25, n. 4, p. 755-762, 2007.

HOAGLAND, R.E.; WILLIAMS, R.D. Bioassays useful tool of the study of allelopathy. In: MACIAS, F. et al. (Eds.). **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**. Boca Raton, Florida: CRZ Press, p. 315-341, 2004.

HOFFMANN, C. E. F.; NEVES, L.A.S.; BASTOS, C.F.; WALLAU, G.L. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca Sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.6, n.1, p.11-21, 2007.

IGANCI, J.R.V.; BOBROWSKI, V.L.; HEIDEN, G.; STEIN, V.C.; ROCHA, B.H.G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n.1, p. 79-82, 2006.

INOUE, M.H.; SANTANA, D.C.; SOUZA FILHO, A.P.S.; POSSAMAI, A.C.S.; SILVA, L.E.; PEREIRA, M.J.B.; PEREIRA, K.M. Potencial alelopático de *Annona crassiflora*: efeitos sobre plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 28, p.489-498, 2010.

ITO, M.A.; CONCENCO, G.; MARQUES, R.F.; SANTOS, S.A.; ALVES, M.E.S.; PALHARINI, W.G.; MELO, T.S.; SILVA, L.B.X.; LINHARES, L.T.; CONCENCO, S.E. Allelopathic potential of wheat on sourgrass resistant to glyphosate. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p. 891-898, 2015.

JABRAN, K.; FAROOQ, M. **Implications of potential allelopathic crops in agricultural systems. Allelopathy Current Trends and Future Applications**, Springer-Verlag, p. 349–385, 2013.

JACOBI, U.S.; FERREIRA, A.G. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimicronata* (DC). sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 26, p. 935-943, 1991.

JAVOID, A.; SHAH, M.B.M. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of two *Eucalyptus* ssp. against *Parthenium hysterophorus* L. **Science International (Lahore)**, v. 19, p. 303–306, 2007.

KERBAUY, G. B. **Fisiología Vegetal**. Ed. Guanabara Koogan. 2004. 452 p.

KHANH, T. D.; CHUNG, M.A.; XUAN, T.D.; TAWATA, S. The exploitation of crop allelopathy in sustainable agricultural production. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 191, n. 3, p. 172-184, 2005.

KPOVIÉSSI, D.; GBAGUIDI, F.; GBÉNEOU, J.; ACCROMBESSI, G.; MOUDACHIROU, M. R.; HUBERT, P. Validation of a method for the determination of sterols and triterpenes in the aerial part of *Justicia anselliana* (Ness) T. Anders by capillary gas chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, p. 1127- 1135, 2008.

KUMAR, D.; KUMAR, N.M.; AKAMATSU, K.; KUSAKA, E.; HARADA, H.; ITO, T. Synthesis and biological evaluation of indolyl chalcones as antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 20 p. 3916–3919, 2010.

LI, Z.H.; WANG, Q.; RUAN, X.; PAN, C.D.; JIANG, D.A. Phenolics and plant allelopathy.

Molecules, v. 15, p. 8933–8952, 2010.

MACÍAS, F.A.; CHINCHILA, N.; VARELA, R.; MOLINILLO, J. Bioactive steroids from *Oryza sativa* L. **Steroids**, v. 71, p. 603-608, 2006.

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

MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 98, p. 69-114, 2015.

MALHEIROS, R. S. P.; SANTANA, F.S.; NETO, M.V. L.; MACHADO, L. L.; MAPELI, A.M. Atividade alelopática de extratos de *Lafoensia pacari* A. ST.-HIL. sobre *Lactuca sativa* L. e *Zea mays* L. em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n.1, p. 185-194, 2014.

MARCHAIM, U.; WERKER, E.; THOMAS, W.D.E. 1974. Changes in the anatomy of cotton seed coats caused by Lucerne saponins. **Botanical Gazzete**, v. 135, p. 139–146, 1974.

MARINOV-SERAFIMOV, P. Determination of allelopathic effect of some invasive weed species on germination and initial development of grain legume crops. **Pesticides & Phytomedicine**, v. 25, p. 251-259, 2010.

MATOS, F.J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141p.

MATSUMOTO, R.S.; RIBEIRO, J.P.N.; TAKAO, L.K.; LIMA, M.I.S. Potencial alelopático dp de extrato de *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 631-635, 2010.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. **Plant Physiology**, v. 51, p. 914-916, 1973.

MERI, H.R. Allelopathic potencial of various plant species on *Hordeum spontaneum* L. **Advances in Environmental Biology**, v.5, p.3543-3549, 2011.

MOAMERI, M.; KHALALI, M.A.; TAVILI, A. Effects of *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Lljin extract on seeds germination and seedlings growth of *Agropyron Elongatum* (Host.)

and *Agropyron Desertorum* (Fisch.). **Research Journal of Seed Science**, v.4, p. 40-50, 2011.

MOHARRAM, F.A.; EL-SHENAWY, S.M. Antinociceptive and anti-inflammatory steroidal saponins from *Dracaena ombet*. **Planta Medica**, v. 73, p. 1101-1106, 2007.

NCUBE, N.S.; AFOLAYAN, A.J.; OKOH, A.I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African Journal of Biotechnology**, v.7, p. 1797-1806, 2008.

NERY, M.C.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, F.C.; PIRES, R.M.O. Potencial alelopático de *Raphanus sativus* L. var. *oleiferus*. **Informativo abrates**, vol.23, n. 1, p. 15-20, 2013.

NI, L.; MENG, Q.M.; SIROSKI, J.A. Recent advances in therapeutic chalcones. **Expert Opin Ther Patents**, v. 14, p. 1669-1691, 2004.

OLESZEK, W. J. Allelopathic potentials of alfalfa (*Medicago sativa*) saponins: Their relation to antifungal and hemolytic activities. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, p. 1063-1074, 1993.

OLIVEIRA, N. S.; MERCADANTE, M.O.; LOPES, P. S. N.; GOMES, I. A. C.; GUSMÃO, E.; RIBEIRO, L. M. Efeitos alelopáticos dos extratos aquoso e etanólico de jatobá do cerrado. **Revista Unimontes Científica**. Montes Claros, v.4, n.2, 2002.

OLIVEIRA, S.C.C.; CAMPOS, M.L. Allelopathic effects of *Solanum paniculatum* leaves on germination and seedling growth. **Allelopathy Journal**, v.18, p. 331-338, 2006.

PARENTE, K.M.S.; PARENTE FILHO, E.G.; SILVA, E.V. Alelopatia de *Ziziphus joazeiro* Mart. sobre *Lactuca sativa* L. e *Lycopersicon esculentum* Mill. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 9, n.2, p. 73-159, 2015.

PARVEZ, S.S.; PARVEZ, M.M.; FUJII, Y.; GEMMA, H. Allelopathic competence of *Tamarindus indica* L. root involved in plant growth regulation. **Plant Growth Regulation**, v. 41, p. 139-148, 2003.

PEER, W. A.; MURPHY, A. S. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators?. **Trends in Plant Sciences**, v. 12, p. 556-563, 2007.

PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. **Biologia e Manejo de Plantas daninhas**, p. 95-123, 2011.

PIRES, N.M.; SOUZA, I.R.P.; PRATES, H.T.; FARIA, T.C.L.; PEREIRA FILHO, I.A.; MAGALHÃES, P.C. 2001. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p. 55-65, 2001.

PIRZAD, A.; GHASEMIAN, V.; DARVISHZADEH, R.; SEDGHI, M.; HASSANI, A.; ONOFRI, A. Allelopathy of sage and white wormwood on purslane germination and seedling growth. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 2, n.3, p. 91-95, 2010.

PUNJANI, B.L.; PATEL, K.M. ; PATEL, U.A. Allelopathic influence of *Prosopis cineraria* leaf extracts on germination and seedling growth of rice. **Allelopathy Journal**, v. 18, p. 339-344, 2006.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, p. 68-76, 2001.

RAHMAN, A. Allelopathic potential of *Parthenium hysterophorus* L. on *Cassia* sp. **Allelopathy Journal**, v. 18, p. 345-354, 2006.

RIBEIRO, J. P. N.; MATSUMOTO, R. S.; TAKAO, L. K.; VOLTARELLI, V. M.; LIMA, M. I. S. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 183-188, 2009.

RICE, E.L. **Allelopathy**. Ed. Academic press, New York, 2013, p. 421.

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

RIPARDO FILHO, H.S.; PACHECO, L.C.; SOUZA FILHO, A.P.S.; GUILHON, G.M.S.P.; ARRUDA, M.S.P.; SANTOS, L.S. Bioensaios de atividade alelopática dos esteroides espinasterol, espinasterona e glicopiranosil espinasterol. **Planta Daninha**, v. 30, n. 4, p. 705-712, 2012.

ROMAGNI, J.G.; ALLEN, S.N.; DAYAN, F.E. Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p.303-313, 2000.

SAKIHAMA, Y.; COHEN, M.F.; GRACE, S.C.; YAMASAKI, H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolicsinduced oxidative damage mediated by metals in plants. **Toxicology**, v. 177, p. 67-80, 2002.

SANTOS, S.; MORAES, M.L.L.; REZENDE, M.O.O.; SOUZA FILHO, A.P.S. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Ecletica Química**, v. 36, p. 51-68, 2011.

SANTOS, S.; RESENDE, M.O.O. Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. **Revista Analytica**, v.32, p.72-78, 2008.

SHIMOJI, H.; YAMASAKI, H. Inhibitory effects of flavonoids on alternative respiration of plant mitochondria. **Biology Plantarum.** , v. 49, p. 117-119, 2005.

SILVA, C.B.; CANDIDO, A.C.S.; SIMIONATTO, E.; FACCENDA, O.; SCALON, S.P.Q.; PERES, M.T.L.P. Allelopathic and antioxidant activity and total phenolic contents of *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae). **Acta Scientiarum Technology**, v. 32, p. 413-420, 2010.

SILVA, R.M.G.; SARAIVA, T.S.; SILVA, R.B.; GONÇALVES, L.A.; PEREIRA, L. Potencial alelopático de extrato etanólico de *Anadenanthera macrocarpa* e *Astronium graveolens*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 632-637, 2010.

SINGH, A.; SAHARAN, V.A.; BHANDARI, A. Pharmacognostic standardization with various plant parts of *Desmostachya bipinnata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, p. 298-307, 2014.

SOUZA FILHO, A.P.S.; MOURÃO JR, M. Padrão de resposta de *Mimosa pudica* e *Senna obtusifolia* à atividade potencialmente alelopática de espécies de Poaceae. **Planta daninha**, v. 28, p. 927-938, 2010.

SOUZA FILHO, A.P.S.. Interferência potencialmente alelopática do capim-gengibre (*Paspalum maritimum*) em áreas de pastagens cultivadas. **Planta daninha**, vol.24, p.451-456, 2006.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. **Planta Daninha**, v. 18, n. 3, p. 435-441, 2000.

SOUZA FILHO, A.P.S.; GURGEL, E.S.C; QUEIROZ, M.S.M.; SANTOS, J.U.M. Atividade alelopática de extratos brutos de três espécies de *Copaifera* (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Planta daninha*, v. 28, p. 743-751, 2010.

STREIBIG, J. C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v. 28, p. 497-484, 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TANAKA, F.; ONO, S.; HAYASAKA, T. Identification and evaluation of toxicity of rice root elongation inhibitors in flooded soils whit added wheat straw. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 36, p.97-103, 1990.

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

TURK, M.A.; TAWAHA, A.M. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil. **Journal of Agronomy**., v.1, p.28-30, 2002.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C.A.S.; SILVA, A.C.T.M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântulas na avaliação da qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, p.90-96, 2007.

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

VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.

WANDSCHEER, A.C.D.; PASTORINI, L.H. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersycon* L. **Ciência Rural**, v.38, p.949-953, 2008.

ZENG, R.S. Allelopathy—the solution is indirect. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, p. 515–516, 2014.

4. Potencial alelopático e identificação dos metabólitos secundários em extratos de *Canavalia ensiformis* L.

RESUMO

As espécies que possuem potencial alelopático são promissoras na agricultura, diante da perspectiva da identificação e manipulação dos seus metabólitos secundários, para aplicações práticas e, assim, serem utilizadas no controle de plantas daninhas. Nesse contexto, esse trabalho teve por objetivo verificar o efeito alelopático e identificar os metabólitos secundários de *Canavalia ensiformis* L. Sementes de *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* e *Portulaca oleracea* foram utilizadas como receptoras. Para avaliar o potencial alelopático, foi realizado o extrato aquoso e etanólico da parte aérea da espécie doadora. Os efeitos potencialmente alelopáticos foram avaliados por meio de testes de germinação (porcentagem e índice de velocidade de germinação), crescimento inicial de plântulas e matéria seca. Foi realizada também, através da técnica da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, a identificação dos metabólitos secundários da parte aérea de *C. ensiformis*. *P. oleraceae* é a espécie mais sensível aos efeitos alelopáticos do extrato aquoso de *C. ensiformis*. O extrato etanólico proporciona maior inibição da porcentagem e índice de velocidade de germinação de *Lactuca sativa*. A parte aérea de *C. ensiformis* contém ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido cafeico), flavonóides (kaempferol, naringina e rutina) e ácidos carboxílicos (ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico), podendo ser os responsáveis pela atividade alelopática dessa espécie.

Palavras-chave: alelopatia, feijão-de-porco, fitoquímica.

**Allelopathic potential and identification of secondary metabolites in extracts of
Canavalia ensiformis L.**

ABSTRACT

The species that have allelopathic potential are promising in agriculture, with the perspective of identifying their secondary metabolites and manipulating them, for practical applications and thus be used to control weeds. In this context, this work aimed to verify the allelopathic effect and to identify the secondary metabolites in the *Canavalia ensiformis* species. The *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* and *Portulaca oleracea* species were used as recipient species. To evaluate the allelopathic potential, the aqueous and ethanolic extract of the aerial part of the donor specie was carried out. Potential allelopathic effects were evaluated by germination tests (percentage and rate of germination rate), initial seedling growth and dry matter. The identification of the secondary metabolites of the aerial part of *C. ensiformis* was also performed using the High Performance Liquid Chromatography technique. The *P. oleraceae* species is the most sensitive to the allelopathic effects of the aqueous extract of *C. ensiformis*. The ethanolic extract provides greater inhibition of germination and germination speed index of *Lactuca sativa*. The aerial part of *C. ensiformis* contains the compounds belonging to phenolic acids (chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid), flavonoids (kaempferol, naringin and rutin) and carboxylic acids (citric acid, malonic acid and aspartic acid) they can be responsible for the allelopathic activity of this species.

Keywords: allelopathy, jack bean, phytochemical.

4.1 INTRODUÇÃO

As plantas daninhas causam impacto direto na agricultura, devido aos custos de controle com mão de obra, equipamentos, herbicidas, entre outros. Afetam indiretamente por serem hospedeiras de pragas e doenças, competem com a cultura de interesse econômico pelos recursos do meio, reduzindo a produtividade e elevando os custos de produção (ZIMDAHL, 2007). Assim, é necessário o manejo adequado dessas plantas para diminuir os prejuízos causados. Apesar da contribuição significativa dos métodos convencionais de controle de plantas daninhas na melhoria da produtividade das culturas, certos desafios também estão associados a eles, tornando cada vez mais necessário o uso de opções de manejo diversificadas. A pesquisa com espécies que possuem potencial alelopático está cada vez mais em evidência na perspectiva da sua manipulação, para aplicações práticas na agricultura e, assim, ser utilizadas no controle de plantas daninhas (MÉRI, 2011; JABRAN e FAROOQ, 2013; ZENG, 2014).

O feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) pertencente a família Fabaceae, é uma espécie muito cultivada como adubação verde e suas raízes possuem associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio (BLUM, 1995; CAVALCANTI, 2011). É bastante cultivada em regiões quentes, com clima tropical e subtropical, sendo encontrada em sua forma silvestre nas Antilhas e zonas tropicais africanas e asiáticas (CALEGARI, 1995). Há relatos de que a espécie exerce efeitos alelopáticos através da inibição da germinação e crescimento de plântulas (SOUZA FILHO, 2002; FONTANÉTTI et al., 2004; SANTOS et al., 2005; MENDES e REZENDE, 2014).

Os responsáveis por causar algum efeito prejudicial na planta são os aleloquímicos. Eles estão presentes em várias partes da planta, são resultantes do metabolismo secundário e capazes de causar os efeitos alelopáticos sobre o metabolismo de espécies receptoras (TAIZ e ZEIGER, 2013). Estes metabólitos estão divididos em três principais grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides (FERREIRA e AQUILA, 2000; RICE, 2013). Os compostos fenólicos são as substâncias químicas mais comumente associadas com o efeito alelopático (TAIZ e ZEIGER, 2013). Classificam-se em ácidos fenólicos, flavonóides, fenóis simples, cumarinas, taninos e ligninas (SHAHIDI; NACZK, 1995; LARCHER, 2000). Os ácidos fenólicos atuam induzindo o aumento da atividade de enzimas oxidativas, causando assim a modificação na permeabilidade da membrana e a formação de lignina, contribuindo para a redução do crescimento radicular da planta (BAZIRAMAKENGA; LEROUX; SIMARD, 1995; FERRARESE et al., 2000; BUBNA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Os

flavonóides são os compostos naturais mais presentes nas plantas e possuem efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir a germinação e o crescimento de plantas (MACIAS et al., 1997; HOAGLAND e WILLIAMS, 2004; BAIS et al., 2006; BUER e DJORDEVIC, 2009; FRANCO et al., 2016).

Uma das técnicas utilizadas para identificar esses compostos é através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Essa técnica é utilizada para realizar separações e análises quantitativas de vários metabólitos secundários em tempo reduzido, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (COLLINS; BRAGA; BONATTO, 2006).

Relatos na literatura apontam a atividade alelopática de *C. ensiformis*, porém são necessários mais estudos para identificar os metabólitos secundários presentes em sua composição que são os responsáveis por causar a atividade alelopática. Nesse contexto, esse trabalho teve por objetivo verificar o efeito alelopático e identificar os metabólitos secundários presentes na parte aérea de *Canavalia ensiformis*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA), pertencente a Universidade Federal de Alagoas (UFAL), situado em Rio Largo/Alagoas (latitude 9° 27' S, longitude de 35° 27' W e a 127 m de altitude). Foi utilizada *C. ensiformis* como espécie doadora para se avaliar o possível potencial alelopático. Como espécies receptoras foi utilizada uma considerada sensível aos testes de alelopatia (*Lactuca sativa* - alface) (FERREIRA e AQUILA, 2000), e as espécies daninhas *Digitaria insularis* (Capim amargoso), *Emilia coccinea* (Falsa-serralha) e *Portulaca oleracea* (Beldroega).

4. 2.1 Coleta do material e obtenção dos extratos

Foi realizado o plantio de *Canavalia ensiformis* na área experimental do CECA. As sementes foram distribuídas uniformemente a uma profundidade de 3 a 4 cm, sendo obedecido o espaçamento entre fileiras de 0,70 m, conservando-se 10 plantas por metro após o desbaste, que ocorreu de 10 a 15 dias após a emergência. Após três meses da semeadura, quando as plantas atingiram a fase de floração, foi realizada a coleta da parte aérea das plantas.

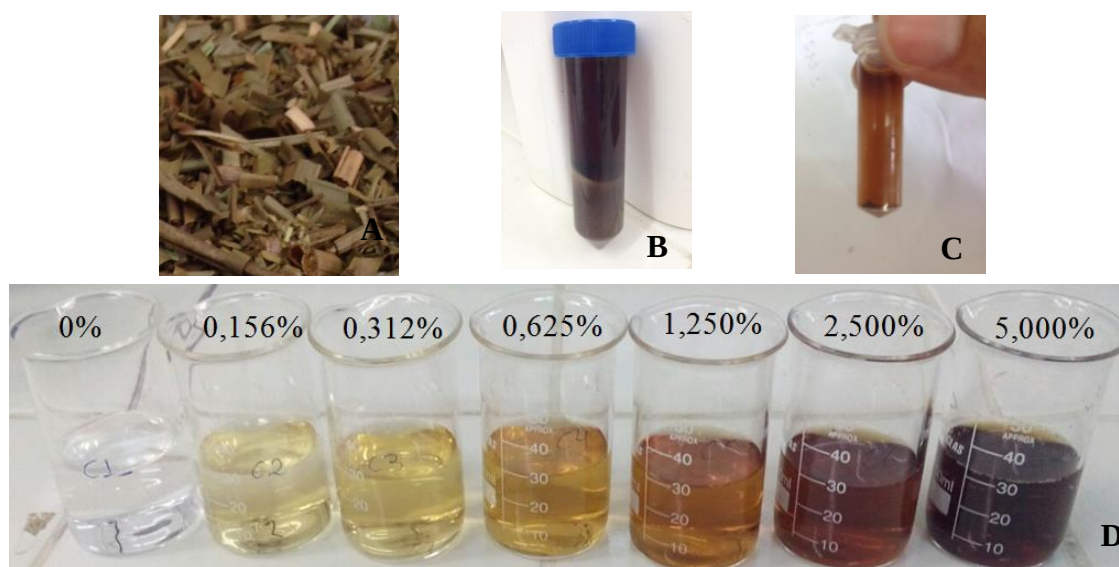
Após a coleta, foi realizada uma lavagem do material com água corrente para retirada das impurezas, retirada a parte aérea da planta e levada a estufa de circulação de ar forçada a 60 °C até atingir peso constante. Após este processo, o material desidratado foi triturado em

moinho de facas “tipo willey” com peneira 30 Mash até a obtenção de fragmentos menores. O pó obtido foi armazenado em recipientes vedados e levados a temperatura de -20 °C até o momento de seu uso (adaptado de HAGEMANN et al., 2010).

4.2.1.1 Extrato aquoso

Para a obtenção do extrato aquoso de *C. ensiformis*, foram utilizados o pó da parte aérea e preparada uma solução estoque na concentração de 1g 10 mL⁻¹ (10%)(peso/volume). Esta solução permaneceu em repouso por 24 horas no refrigerador (5 ± 1 °C). Após esse período, a solução foi transferida para tubos falcons, os quais foram centrifugados durante dez minutos a 3000 rpm para separação das partículas maiores. O sobrenadante coletado foi colocado em eppendorfs e submetido novamente à centrifugação por 15 minutos a 15.000 rpm. A parte utilizada foi o sobrenadante límpido obtido após a centrifugação. A partir desse sobrenadante, foram realizadas as diluições para as concentrações de 0,156%; 0,312%; 0,625%; 0,125%; 0,25% e 5,000% (adaptado de HAGEMANN et al., 2010) (Figura 19).

Figura 19. Etapas da preparação do extrato aquoso: A- Material da espécie doadora desidratado; B – Primeira centrifugação em tubos falcons; C- Segunda centrifugação em eppendorfs (extrato bruto); D- Extrato aquoso em diferentes concentrações.



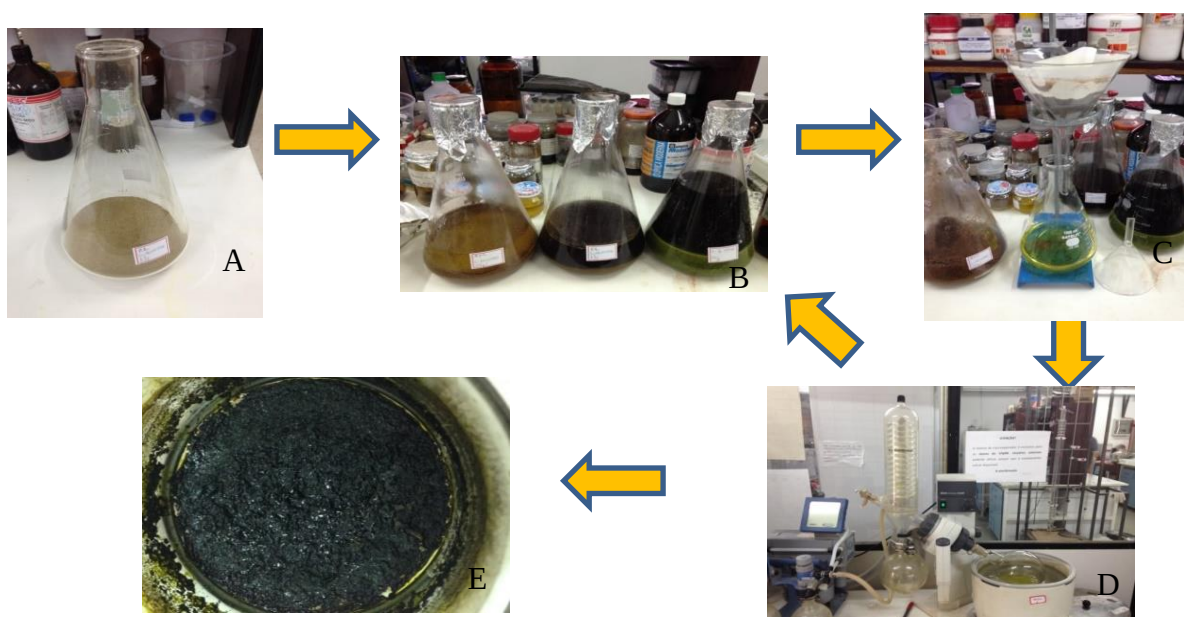
Fonte: Autoria própria (2017).

4.2.1.2 Extrato etanólico

Para o extrato etanólico, o material referente a parte aérea da planta foi submerso em álcool etílico 95% na proporção de 1:5 (p/v), agitado e mantido em temperatura ambiente por

72 horas. Após este período, o extrato obtido foi filtrado e o resíduo do material foi novamente extraído com o mesmo solvente por mais 72 horas. Este processo foi repetido várias vezes até a obtenção de uma extração límpida. O extrato filtrado resultante e todas as extrações foram reunidos e concentrados com o auxílio de um rotaevaporador de pressão reduzida em uma temperatura média de 50 °C (adaptado de AL-SHERIF et al., 2013). O extrato bruto seco resultante foi armazenado em recipiente de vidro (Figura 20).

Figura 207. Etapas da preparação do extrato etanólico: A – Material desidratado da espécie doadora. B – Adição do solvente ao material. C – Filtragem do solvente. D – Evaporação do solvente no rotaevaporador. E- Extrato bruto.



Fonte: Autoria própria (2017).

Para a obtenção das concentrações de 1,25mg ml⁻¹; 2,50mg ml⁻¹; 5,00mg ml⁻¹; 10,00mg ml⁻¹ e 20,00mg ml⁻¹, o extrato bruto foi solubilizado adicionando 0,1% de DMSO (dimetilssulfóxido) e água destilada, utilizando ultrassom até a sua completa solubilização. Para evitar possível interferência do solubilizante, foi utilizada a testemunha com água mais DMSO (adaptado de AL-SHERIF et al., 2013).

Foi realizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada extrato obtido foi considerado um experimento individual, em concentrações crescentes, visando observar o efeito alelopático em diferentes espécies receptoras, obtendo assim um experimento para o extrato aquoso, e um experimento para o extrato etanólico.

4.2.2 Curvas do potencial osmótico

Visando verificar o potencial osmótico crítico para a germinação das sementes das espécies receptoras e a relação com o potencial osmótico dos extratos da espécie doadora, foram obtidas as curvas de potencial osmótico. Foram utilizadas soluções de polietileno glicol 6000 (PEG-6000), por ser quimicamente inerte e não apresentar toxicidade sobre as sementes, e preparadas segundo especificações de Michel e Kaufmann (1973), conforme a fórmula abaixo:

$$\psi_s = - (1,18 \times 10^{-2}) C - (1,18 \times 10^{-4}) C^2 + (2,67 \times 10^{-4}) CT + (8,39 \times 10^{-7}) C^2T$$

Onde: ψ_s = potencial osmótico (bar), C = quantidade de PEG 6.000/kg de água (g), T = temperatura (°C), 1 MPa = 9,87 atm = 10 bar.

As soluções de PEG-6000 aplicadas foram as seguintes: 0; -0,1Mpa; -0,2Mpa; -0,4Mpa; -0,8Mpa; -1,6Mpa e -3,2Mpa e realizou-se o teste de germinação com as espécies receptoras, utilizando a mesma metodologia descrita abaixo no bioensaio de germinação.

O potencial osmótico de cada extrato foi aferido por meio de osmômetro Wescor.

4.2.3 Partição líquido-líquido

A partição líquido-líquido foi realizada com o extrato bruto etanólico da parte aérea de *C. ensiformis* com solventes de polaridades crescentes (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol). Inicialmente, 12,5 g do extrato bruto foi suspenso com 250 mL de Metanol em um funil de separação e adicionado o solvente n-Hexano para a extração (3 x 250 mL). Após esse processo, foi retirada a fração hexânica, sendo a fração metanólica suspensa em água (250 mL), e submetida a partição com Clorofórmio (3 x 250 mL). Foi retirada a fração clorofórmica, e na fração metanólica + água, foi adicionado Acetato de Etila (3 x 250 mL). As quatro frações resultantes desse processo foram submetidas a secagem do solvente no rotaevaporador.

Para a determinação da fração mais ativa, foi selecionada a concentração mais próxima que inibiu 50% da germinação da espécie *L. sativa* (1,25 mg mL⁻¹), e realizados testes de germinação e medidos os comprimentos de parte aérea e radicular das plântulas. O critério utilizado para definir essa fração foi através da média das variáveis.

4.2.4 Variáveis avaliadas

Os efeitos potencialmente alelopáticos dos extratos aquoso e etanólico de *C. ensiformis* foram avaliados por meio de testes de germinação, índice de velocidade de germinação, crescimento inicial de plântulas e matéria seca.

Germinação

Os testes de germinação foram conduzidos em caixas plásticas transparentes tipo gerbox com tampa (11x11x4cm), previamente desinfetadas com álcool, e forradas com duas folhas de papel germitest previamente autoclavadas à temperatura de 120°C. O papel foi umedecido com 6 mL de cada extrato e sobre ele 30, 30, 50 e 200 sementes de *L. sativa* (cultivar "Baba de Verão") e *D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae*, respectivamente. As caixas foram mantidas em câmara climatizada tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas para a espécie *L. sativa*, e sob temperatura alternada de 20 - 30°C, com fotoperíodo de 12 horas, para as espécies de plantas daninhas (*D. insularis*, *E. coccinea* e *P. oleraceae*).

A cada 24 horas, as sementes foram avaliadas para verificar a protrusão radicular, conforme Borghetti e Ferreira (2004). Ao final do tempo experimental, sete dias da semeadura para as espécies *L. sativa* e *D. insularis*, e 14 dias para *E. coccinea* e *P. oleraceae*, as plântulas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento da parte aérea e da raiz e classificadas em normais ou anormais (BRASIL, 2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG)

Os dados verificados nas contagens diárias realizadas no teste de germinação foram utilizados para cálculo do IVG. Os dados foram tabulados e calculados segundo a equação de Maguire (1962):

$$IVG = (N1/E1) + (N2/E2) + \dots + (Nn/En)$$

Onde: IVG = índice de velocidade de germinação E1, E2, En = número de plântulas na primeira contagem, na segunda e na última. N1, N2, Nn = número de dias da semeadura à primeira, à segunda e à última contagem.

Comprimento de Plântulas

O comprimento de plântulas foi avaliado em conjunto com o teste de germinação utilizando as plântulas normais, avaliando o comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz primária (CRA) por meio de régua milimetrada. O comprimento da raiz foi obtido tomando-se

a medida do ápice meristemático da raiz principal até a região do coleto. Esse mesmo procedimento foi empregado para a medição do hipocótilo das plântulas, tomando-se a medida da região do coleto até o ponto de inserção dos cotilédones (VIEIRA; CARVALHO, 1994). O comprimento médio da parte aérea e da raiz primária das plântulas foi calculado pelo quociente entre a soma das medidas em cada repetição e o número de plântulas (VANZOLINI et al., 2007).

Matéria seca

Após a última contagem de germinação, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel tipo kraft e expostas a secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 60°C durante 72 horas. A massa obtida foi dividida pelo número de plântulas normais, e os resultados expressos em g plântula⁻¹.

4.2.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Para verificar a existência de alguns compostos no extrato da parte aérea de *C. ensiformis*, foram selecionados alguns padrões já identificados em estudos anteriores com a mesma espécie e comparados com os presentes na amostra: flavonóides (kaempferol, quercetina, rutina e naringina), ácidos fenólicos (ácido ferúlico, ácido clorogênico e ácido cafeico) e ácidos carboxílicos (ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico) (SANTOS; MORAES; REZENDE, 2007; MENDONÇA, 2008).

Parâmetros do HPLC

Foi utilizado um cromatógrafo líquido da marca Shimadzu® (Kyoto, Japan) equipado com um degaseificador (DGU-20A3), auto-injetor (SIL-20A HT), duas bombas LC-10AD e detector de arranjos de diodos (SPD-M20A). As amostras foram analisadas em uma coluna cromatográfica C18(5 µm, 4.6 × 250 mm). Os dados resultantes foram adquiridos e analisados pelo software Lab Solution versão 1.25 SP5 (Shimadzu). A temperatura da coluna foi mantida em 25 °C e o eluente foi verificado a comprimentos de onda na gama de 190-540 nm. Foram utilizadas duas metodologias para a fase móvel. Na primeira, para detectar a presença dos padrões pertencentes aos flavonóides (kaempferol, quercetina, rutina e naringina) e ácidos fenólicos (ácido ferúlico, ácido clorogênico e ácido cafeico), foi utilizada uma fase móvel isocrática com 0,1% H₃PO₄:CH₃OH (80:20), taxa de fluxo: 1 mg mL⁻¹, volume de injeção: 20µL e tempo de corrida: 12 min (adaptado de HAJIMEHDIPOOR et al., 2012). Na segunda metodologia, para os padrões pertencentes aos ácidos carboxílicos (ácido

cítrico, ácido malônico e ácido aspártico), foi utilizada na fase móvel isocrática uma solução de 10mM $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{:CH}_3\text{OH}$ (95:5, pH 2,7), taxa de fluxo: 0,8 ml/min, volume de injeção: 10 μL e tempo de corrida: 15 min (adaptado de DINJ et al., 2006). A identificação dos compostos presentes na amostra se deu através da comparação com o tempo de retenção dos cromatogramas da amostra de *C. ensiformis* com os padrões, para isso, todos foram preparados nas mesmas condições.

O comprimento de onda foi definido para cada padrão de acordo com a melhor visualização do pico. A partir dessa verificação, para os padrões ácido cafeico, kaempferol, ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico, a melhor visualização do pico foi verificada a 220 nm. A naringina, a 270 nm. Ácido clorogênico e ácido ferúlico, foram identificados no comprimento de onda de 330 nm. E a rutina, a 360 nm.

Preparo das amostras e padrões

Para o preparo da amostra de *C. ensiformis*, foi utilizada a fração da partição líquido-líquido que apresentou maior atividade inibitória na espécie receptora (*L. sativa*). Para isso, foi pesado 1 mg do extrato, solubilizado em 1 ml de metanol, e levado ao ultrassom para completa solubilização. Após, a solução obtida foi filtrada em uma membrana de 0,45 μm e transferida para tubos “vial” para posterior injeção na coluna cromatográfica.

O mesmo procedimento foi realizado para os padrões, porém com concentrações diferentes: ácido clorogênico, ácido ferúlico e rutina: 0,1 mg mL^{-1} ; ácido caféico e quercetina: 0,05 mg mL^{-1} ; kaempferol e naringina: 0,2 mg mL^{-1} ; ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico: 1 mg mL^{-1} .

4.2.6 Análise estatística

Para análise estatística dos dados, os dados originais foram submetidos à análise de variância a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o programa estatístico Sisvar. Os dados referentes à partição líquido-líquido foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ (BARBIN, 2003). As médias apresentadas referem-se aos dados originais.

Os dados obtidos, referente às concentrações, para as variáveis analisadas, foram averiguados através da aplicação do teste F sobre a análise da variância. Sendo significativo o efeito do extrato, para determinar a CL_{50} (concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha), os dados foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo logístico com três parâmetros (STREIBIG, 1988), utilizando-se o programa Sigmaplot:

$$y = \frac{a}{\left[1 + \left(\frac{x}{b} \right)^c \right]}$$

Onde: y = controle percentual; x = concentração do extrato; a , b , e c , parâmetros estimados da equação, de forma que a = amplitude existente entre o ponto máximo e o ponto mínimo da variável, b = concentração que proporciona 50% de resposta da variável e c = declividade da curva ao redor de b .

O modelo logístico apresenta vantagens, uma vez que um dos termos integrantes da equação (b) é uma estimativa do valor de CL_{50} (CHRISTOFFOLETI, 2002). Por ser um bom parâmetro utilizado para determinar a dose que controla 50% em herbicidas, foi adaptado para determinar essa concentração em alelopatia. O CL_{50} é a concentração do extrato, em % (aquoso) e $mg\ ml^{-1}$ (etanólico), que proporciona o valor de 50% de controle ou de redução de crescimento da espécie receptora (adaptado de CHRISTOFFOLETI, 2002; CHRISTOFFOLETI e LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Os valores da testemunha foram considerados 100%, sendo os resultados de cada variável dos demais tratamentos calculados em relação a testemunha, utilizando a seguinte fórmula:

$$VR (\%) = 100 \cdot V / Tm$$

Onde: VR = variável em relação a testemunha (%); V = variável analisada (G, IVG, CPA, CRA ou MS); Tm = média da testemunha (%).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Extrato Aquoso

O resultado da análise de variância indicou que as espécies receptoras (ER), do extrato aquoso da parte aérea de *C. ensiformis* não apresentou efeito significativo para a germinação (G). Para as concentrações (C) as variáveis germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) apresentaram significância, indicando interferência das concentrações sobre as espécies receptoras. Houve significância a 5% para o IVG, CPA e CRA para a fonte de variação concentração e sua interação com as espécies receptoras (Tabela 12).

Tabela 12. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato aquoso de *C. ensiformis* e da interação entre esses fatores (ER*C).

Análise de variância	G	IVG	CPA	CRA	MS
	-----Fcalc-----				
	<i>Canavalia ensiformis</i>				
ER	1,878 ^{ns}	19,041**	53,834**	14,280**	3,056*
C	107,522**	123,685**	38,286**	108,753**	22,046**
ER*C	1,155 ^{ns}	4,826**	5,929**	2,781**	0,973 ^{ns}
C.V.(%)	23,25	17,15	33,91	26,43	54,01

Pelas curvas de dose-resposta, pode-se observar com mais clareza uma maior sensibilidade das espécies receptoras *L.sativa*, *D. insularis*, *E.coccinea* e *P. oleraceae* aos aleloquímicos presentes no extrato, definindo a concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha (CL₅₀) (Tabela 13).

Tabela 13. Estimativas do parâmetro a, b e c do coeficiente de determinação (R²) do modelo log-logístico, para germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR) e matéria seca (MS) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato aquoso de *C. ensiformis*.

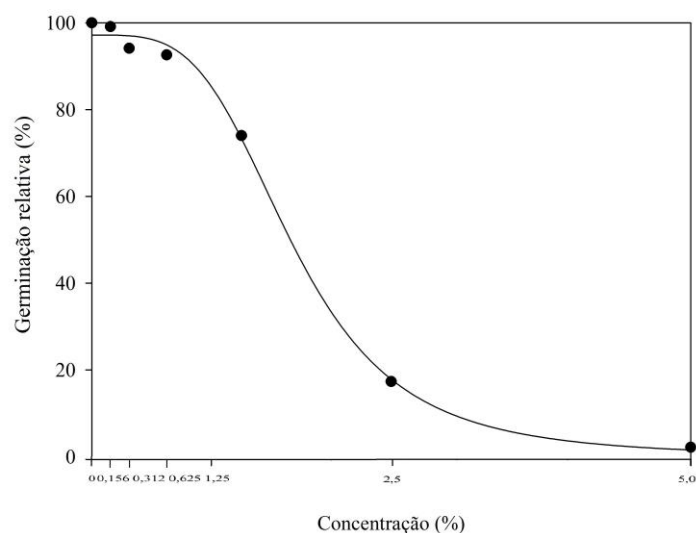
Variável	Espécie receptora	Parâmetros ⁽¹⁾			R ⁽²⁾	F ⁽³⁾
		a	b	c		
G	MDE ⁽⁴⁾	97,19**	1,682**	3,76**	0,99	764,93
IVG	<i>L. sativa</i>	99,79**	2,329**	4,28**	0,99	528,88
	<i>D. insularis</i>	98,68**	3,019**	2,58**	0,99	742,98
	<i>E. coccínea</i>	99,50**	1,693**	3,07**	0,99	116,31
	<i>P.oleraceae</i>	101,39**	3,369**	2,41*	0,98	52,48
CPA	<i>L. sativa</i>	93,01**	2,003	61,05	0,97	38,27
	<i>D. insularis</i>	94,11**	1,411*	10,26	0,99	458,27
	<i>E. coccínea</i>	145,86**	1,992	60,10	0,92	12,48
	<i>P.oleraceae</i>	99,71**	0,111	0,74*	0,98	54,43
CRA	<i>L. sativa</i>	90,06**	1,438**	4,95	0,97	35,76
	<i>D. insularis</i>	95,43**	1,479**	2,01**	0,99	157,94
	<i>E. coccínea</i>	101,24**	0,651**	1,95**	0,99	198,28
	<i>P.oleraceae</i>	98,98**	0,281	0,77	0,93	14,54

MS	MDE	95,99**	1,399**	2,383**	0,991	110,66
----	-----	---------	---------	---------	-------	--------

⁽¹⁾Modelo: $y = y_0 + a/(1+(x/b)^c)$; ⁽²⁾Coefficiente de determinação da curva de regressão; ⁽³⁾Valor de F para regressão não linear; ⁽⁴⁾ Média das espécies.

Na Figura 21, observa-se a média da percentagem de germinação de sementes receptoras em função das concentrações do extrato aquoso de *C. ensiformis*. Houve redução expressiva na percentagem de germinação conforme o aumento das concentrações. Carvalho et al. (2014), ao avaliar a influência do extrato aquoso de *C. ensiformis* em sementes de *Lactuca sativa*, verificaram que não houve interferência na germinação até a concentração de 5%. Gomes et al (2013) ao avaliar o efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de *Lupinus angustifolius* L. (Fabaceae) sobre *Lactuca sativa*, *Bidens pilosa* e *Zea mays*, verificou que houve interferência na germinação de *L. sativa* a partir da concentração de 40%, para *Bidens pilosa* à concentração de 100% e , *Zea mays* não foi afetada em nenhuma concentração. Mauli et al. (2009), identificaram que sementes de *L. sativa*, *Bidens pilosa* e *Sida rhombifolia*, tiveram sua porcentagem de germinação significativamente reduzida pelos extratos de *Leucaena leucocephala* (Fabaceae).

Figura 21. Porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de *C. ensiformis*.

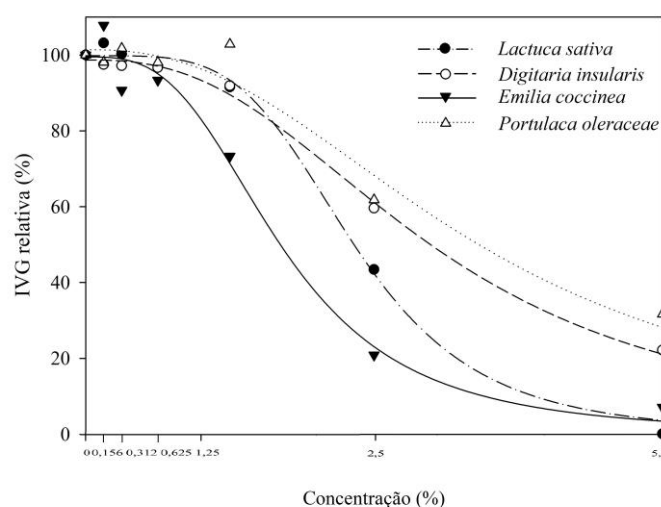


Oliveira et al. (2005), ao analisar o efeito do extrato aquoso das folhas de seis espécies da família Fabaceae sobre a germinação de *L. sativa*, constataram diferentes efeitos, sendo que duas espécies inibiram completamente a germinação (*Chloroleucon tortum* e *Albizia blanchetii*), uma promoveu efeito significativo (*Machaerium scleroxylon*) e as demais não apresentaram efeitos (*Copaifera langsdorffii*, *Anadenanthera colubrina* e *Acacia bahiensis*).

Esses resultados corroboram com os obtidos no presente trabalho, indicando que os extratos aquosos de várias espécies da família Fabaceae interferem na germinação das sementes. Esse fato pode ocorrer devido às alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, na respiração, pelo sequestro do oxigênio, na conformação de enzimas e receptores, ou ainda, pela combinação destes fatores (FERREIRA e ÁQUILA, 2000).

Observou-se que conforme ocorreu aumento da concentração do extrato aquoso de *C. ensiformis* houve diminuição no IVG para todas espécies receptoras (Figura 22). A espécie *E. coccinea* apresentou a menor CL₅₀ (1,693%), e a *P. oleraceae* a maior CL₅₀ (3,369%) (Tabela 13). Similar a esses resultados, Maraschim-Silva e Aquila (2006) relataram que o tempo de germinação de *Lactuca sativa* foi afetado pela aplicação do extrato aquoso de *Peltophorum dubium* (Fabaceae).

Figura 22. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de *C. ensiformis*.

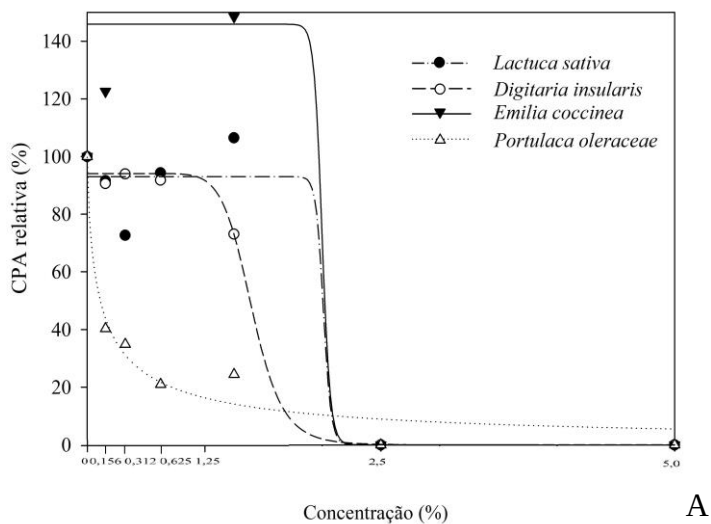


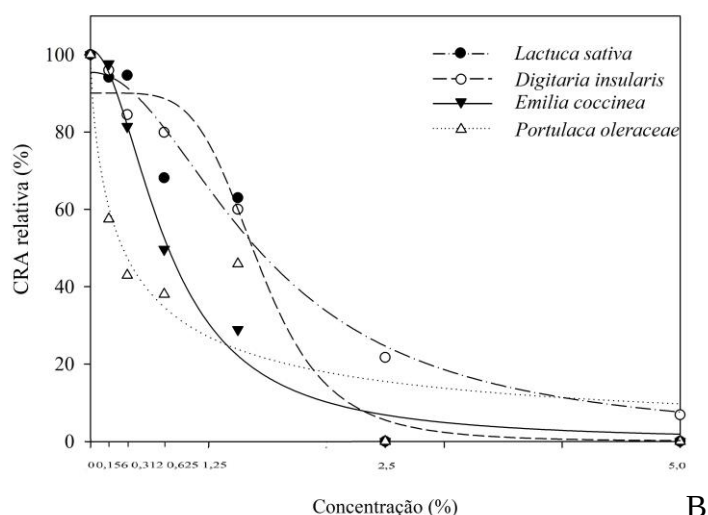
O atraso na velocidade de germinação é um indicador do efeito alelopático sobre o alongamento e divisão celular. Quanto menor o IVG, maior o tempo necessário para ocorrer a germinação. Hoagland e Williams (2004) observaram que isto pode ocorrer através da ativação de mecanismos de desintoxicação celular. Os mesmos autores também observaram que o tempo para a ativação deste mecanismo retarda a germinação. Carvalho, Fontanetti e Cançado (2002), avaliando o efeito alelopático do extrato aquoso de *Stilozobium aterrimum* (Fabaceae), verificaram que houve redução do IVG de sementes de *Cyperus rotundus*.

O efeito alelopático pode ser visualizado em outras variáveis, e não apenas na porcentagem de germinação. Ferreira e Aquila (2000) também evidenciaram o fato de que a germinação é menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas.

Houve redução do comprimento da parte aérea e radicular das plântulas, conforme o aumento das concentrações do extrato aquoso de *C. ensiformis* (Figura 23-AB). A espécie mais sensível foi a *P. oleraceae*, com CL_{50} de 0,111% e 0,281%, para o comprimento da parte aérea e radicular, respectivamente (Tabela 13). Corroborando o presente estudo, Borella et al. (2009) ao analisar os efeitos de extrato aquoso da parte aérea de *Persea americana* (Lauraceae) sobre sementes de *L. sativa* observaram inibição da germinação e crescimento inicial das plântulas. Corsato et al. (2008) encontraram que o extrato aquoso de folhas frescas de *Lupinus albus* (Fabaceae) interferiu negativamente na porcentagem de germinação e comprimento de plântulas de *L. sativa* a partir da concentração do extrato a 20%.

Figura 23. A - Comprimento da parte aérea (CPA) e B - Comprimento radicular (CRA) da plântula das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso de *C. ensiformis*.



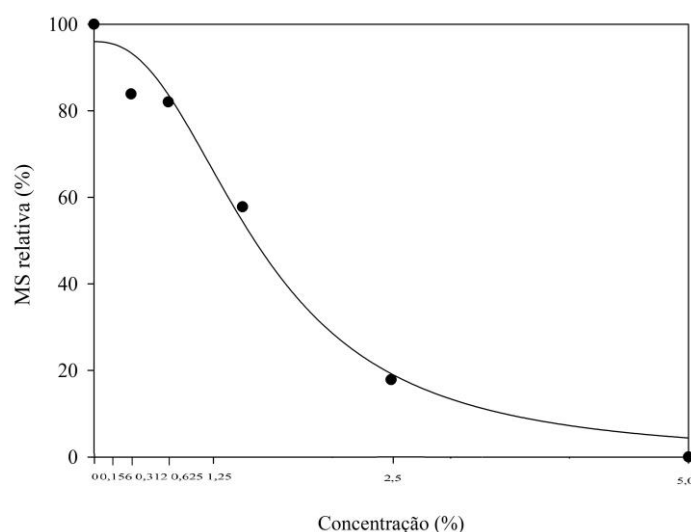


Alguns autores sugerem que o efeito mais acentuado sobre as raízes é devido ao contato mais íntimo destas com os aleloquímicos (CHUNG et al. 2001), fato este que foi observado apenas para *L. sativa* e *E. coccinea*, que apresentaram para o comprimento radicular $CL_{50}=1,438\%$ e $CL_{50}=0,651\%$ (Tabela 13), respectivamente, enquanto que para o comprimento da parte aérea, $CL_{50}=2,003\%$ e $CL_{50}=1,992\%$ (Tabela 13), respectivamente. Maraschim-Silva e Aquila (2006) demonstraram que o comprimento radicular foi mais afetado, do que a parte aérea da plântula de *Lactuca sativa*, pela aplicação dos extratos aquosos de *Cecropia pachystachya* (Urticaceae) e *Sapium glandulatum* (Euphorbiaceae). Soares et al. (2002) também observaram que extratos aquosos de espécies de leguminosas mostram forte efeito inibidor do desenvolvimento radicular de plântulas de *L. sativa*.

Gomes et al. (2013) constataram que o extrato de *Lupinus angustifolius* L. (Fabaceae) afetou o crescimento da parte aérea e radicular de *L. sativa*, sendo que as espécies *Bidens pilosa* e *Zea mays* apresentaram efeito menos acentuado sobre essas duas variáveis. MANOEL et al. (2009) avaliando a ação alelopática de *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae), e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (Fabaceae) em sementes de *Lycopersicum esculentum* Mill (Solanaceae) verificou que a germinação não foi afetada, porém inibiu o comprimento de plântulas e o índice de velocidade de germinação, indicando efeito alelopático.

Em relação à matéria seca das plântulas (Figura 24), observa-se decréscimo na MS com o aumento das concentrações, independente das espécies receptoras. Corroborando esse resultado, Carvalho, Fontanetti e Cançado (2002) verificaram que o extrato aquoso de *Stilozobium aterrimum* (Fabaceae) reduziu a matéria seca de *Cyperus rotundus*.

Figura 24. Matéria seca (MS) da média das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato aquoso da parte aérea de *C. ensiformis*.



4.3.2 Extrato etanólico

A análise de variância dos dados obtidos, para o extrato etanólico da parte aérea de *C. ensiformis*, indicou que as espécies receptoras apresentaram efeito significativo para as variáveis G, IVG e CRA, demonstrando assim que houve influência dos extratos sobre as espécies receptoras. Constata-se também que todas as variáveis apresentaram significância para as concentrações (C) e para interação espécie receptora x concentração, indicando assim um extrato com potencial para causar efeito alelopático nas espécies receptoras (Tabela 14).

Tabela 14. Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento radicular (CRA) e matéria seca (MS) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do extrato etanólico de *C. ensiformis* e da interação entre esses fatores (ER*C).

Análise de variância	G	IVG	CPA	CRA	MS
	-----Fcalc-----				
	Canavalia ensiformis – Parte aérea				
ER	22,475**	29,305**	1,852 ^{ns}	6,666**	2,692 ^{ns}
C	158,604**	180,271**	86,388**	125,341**	73,521**
ER*C	3,577**	5,985**	2,612**	1,866*	2,311**
C.V.(%)	26,42	22,84	34,24	33,52	43,09

As curvas de dose-resposta representam de forma mais clara os padrões observados nas espécies *Lactuca sativa*, *Digitaria insularis*, *Emilia coccinea* e *Portulaca oleraceae*. As equações utilizadas para descrever a resposta das diferentes espécies em função das concentrações foram satisfatórias, pois a maioria dessas obtiveram coeficiente de determinação acima de 95% (Tabela 15).

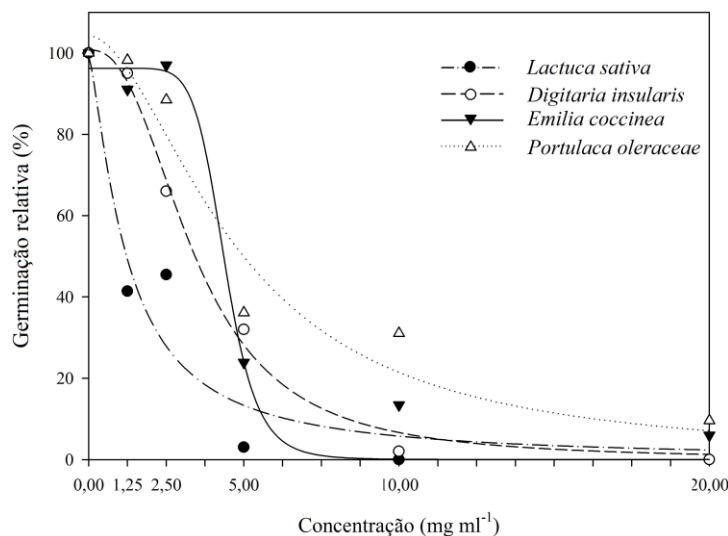
Tabela 15. Estimativas do parâmetro a, b e c do coeficiente de determinação (R^2) do modelo log-logístico, para as espécies receptoras, na variável germinação (G), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato etanólico de *C. ensiformis*.

Variável	Espécie receptora	Parâmetros ⁽¹⁾			$R^{(2)}$	F ⁽³⁾
		a	b	c		
G	<i>L. sativa</i>	99,22**	1,24*	1,33	0,96	21,15
	<i>D. insularis</i>	100,71**	3,41**	2,46**	0,99	296,77
	<i>E. coccinea</i>	96,27**	4,39*	8,51	0,98	57,90
	<i>P.oleraceae</i>	104,24**	1,82*	4,77*	0,97	28,77
IVG	<i>L. sativa</i>	98,74**	1,59*	1,32	0,97	25,83
	<i>D. insularis</i>	99,98**	3,57**	2,32**	0,99	732,35
	<i>E. coccinea</i>	99,46**	2,48	0,89*	0,97	24,33
	<i>P.oleraceae</i>	100,64**	6,56**	3,78**	0,99	281,84
CPA	<i>L. sativa</i>	103,32**	5,99	18,53	0,99	138,07
	<i>D. insularis</i>	88,19**	5,90	14,48	0,98	71,33
	<i>E. coccinea</i>	91,80**	4,59**	5,68	0,99	113,97
	<i>P.oleraceae</i>	102,69**	2,79*	1,59*	0,98	36,93
CRA	<i>L. sativa</i>	97,28**	2,29*	1,61	0,97	33,26
	<i>D. insularis</i>	101,69**	2,67**	2,52**	0,99	242,22
	<i>E. coccinea</i>	99,52**	1,33*	1,31*	0,99	97,75
	<i>P.oleraceae</i>	99,13**	3,65*	1,61*	0,97	35,80
MS	<i>L. sativa</i>	107,55**	3,91	61,29	0,99	223,41
	<i>D. insularis</i>	113,17**	5,00	29,19	0,98	71,09
	<i>E. coccinea</i>	102,86**	2,61	28,13	0,99	1270,87
	<i>P.oleraceae</i>	100,46**	2,96*	1,69*	0,987	57,856

⁽¹⁾Modelo: $y = y_0 + a/(1+(x/b)^c)$; ⁽²⁾Coefficiente de determinação da curva de regressão; ⁽³⁾Valor de F para regressão não linear.

Os efeitos do extrato etanólico de *C. ensiformis* sobre a porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras, podem ser verificados na Figura 25. Conforme houve o incremento das concentrações, ocorreu a inibição da germinação em todas as espécies, indicando possível efeito alelopático do extrato. A sensibilidade da germinação ao extrato obedece a ordem seguinte: *L. sativa* > *P. oleraceae* > *D. insularis* > *E. coccinea*, com CL_{50} de $1,24 \text{ mg ml}^{-1} > 1,82 \text{ mg ml}^{-1} > 3,41 \text{ mg ml}^{-1} > 4,39 \text{ mg ml}^{-1}$, respectivamente (Tabela 15).

Figura 25. Porcentagem de germinação de sementes das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea de *C. ensiformis*.

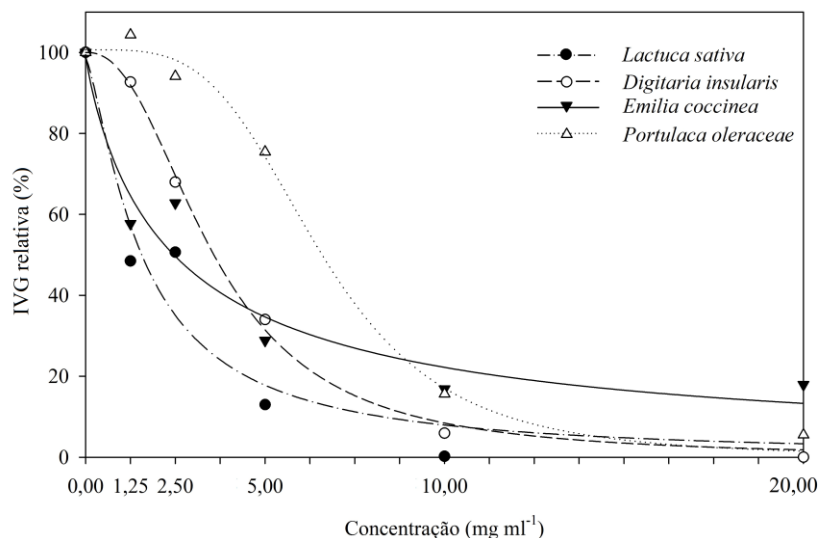


Entre as espécies receptoras, constatou-se diferenças do efeito alelopático sobre a germinação, corroborando com Marinov-Serafimov (2010), que relatou diferenças na inibição das espécies receptoras de plantas daninhas quando submetidas ao extrato de leguminosas. As diferenças na sensibilidade das espécies receptoras ocorrem devido aos diferentes mecanismos de absorção, translocação e sítio ativo dos compostos alelopáticos, podendo essa sensibilidade ser alterada de acordo com a concentração do extrato, condições ambientais e estágio de desenvolvimento da planta. (WEIR; PARK; VIVANCO, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013). A variação do local de ação dos aleloquímicos nas espécies receptoras pode explicar as diferenças de seletividade entre as espécies analisadas no presente experimento.

Similar a esses resultados, Taveira, Silva e Loiola (2013) observaram que os extratos etanólicos das folhas de várias espécies do gênero *Erythroxylum* promoveram reduções significativas na germinação de *Lycopersicum esculentum* e *Allium cepa*.

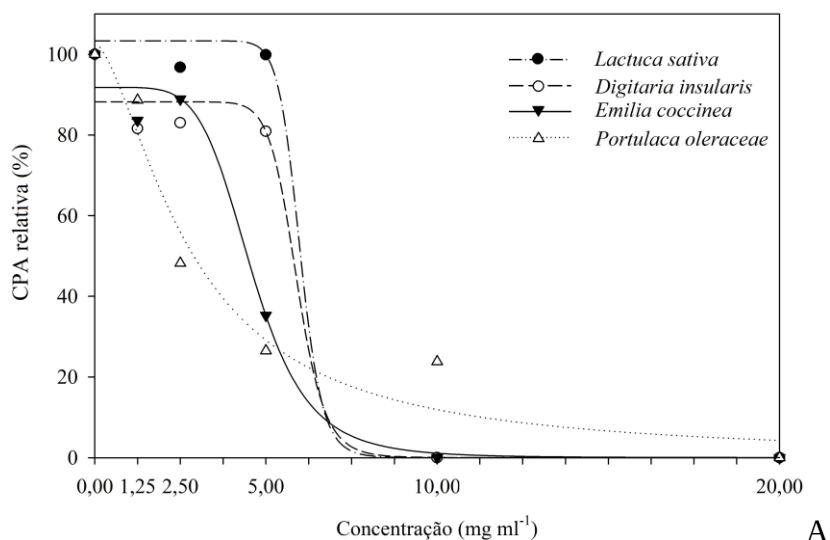
Para o índice de velocidade de germinação (IVG) (Figura 26), todas as espécies receptoras também apresentaram redução com o incremento da concentração, sendo a *L. sativa* mais sensível ($CL_{50} = 1,59 \text{ mg ml}^{-1}$), e a *P. oleraceae*, mais tolerante ($CL_{50} = 6,56 \text{ mg ml}^{-1}$) (Tabela 15). Corroborando esses resultados, Silva et al. (2010) ao avaliar o potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Anadenanthera macrocarpa* (Fabaceae) e *Astronium graveolens* Jacq (Anacardiaceae) na germinação de *Brassica chinensis* e *L. sativa*, verificaram que os extratos apresentaram potencial alelopático, independente da concentração utilizada, mas com resposta dose dependente, sendo assim capaz de interferir diretamente na germinação e no índice de velocidade de germinação.

Figura 26. Índice de velocidade de germinação (IVG) de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico de *C. ensiformis*.

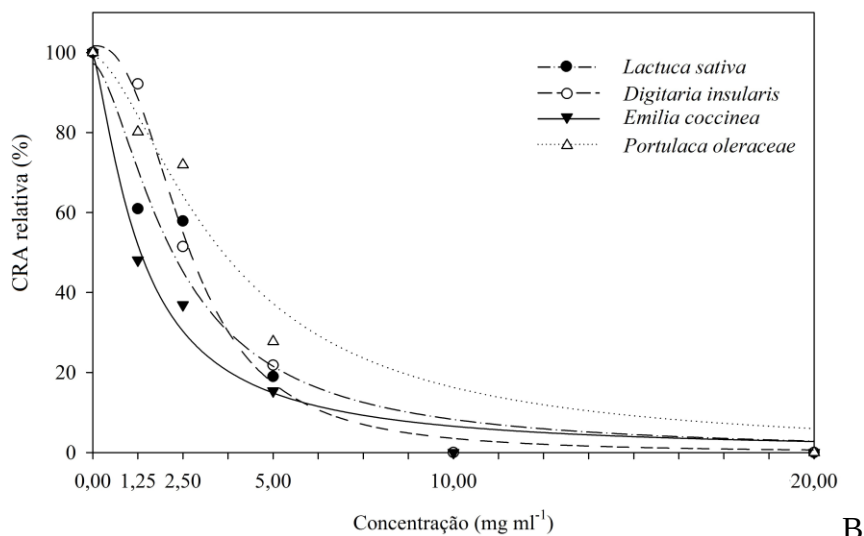


O extrato etanólico de *C. ensiformis* contribuiu para a diminuição do comprimento da parte aérea (Figura 27-A) e radicular (Figura 27-B), mais intensamente a medida que se aumentava a concentração, a partir da concentração de 5,00% indicando que o efeito alelopático do extrato das plantas é dependente das concentrações. *P. oleraceae* apresenta CL_{50} menor que as outras espécies receptoras ($CL_{50} = 2,79 \text{ mg ml}^{-1}$) para inibir o comprimento da parte aérea, enquanto que para a parte radicular da plântula, ela se mostrou mais tolerante que as outras espécies com $CL_{50} = 3,65 \text{ mg ml}^{-1}$ (Tabela 15).

Figura 27. A - Comprimento da parte aérea (CPA) e B - Comprimento radicular (CRA) da plântula das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico de *C. ensiformis*.



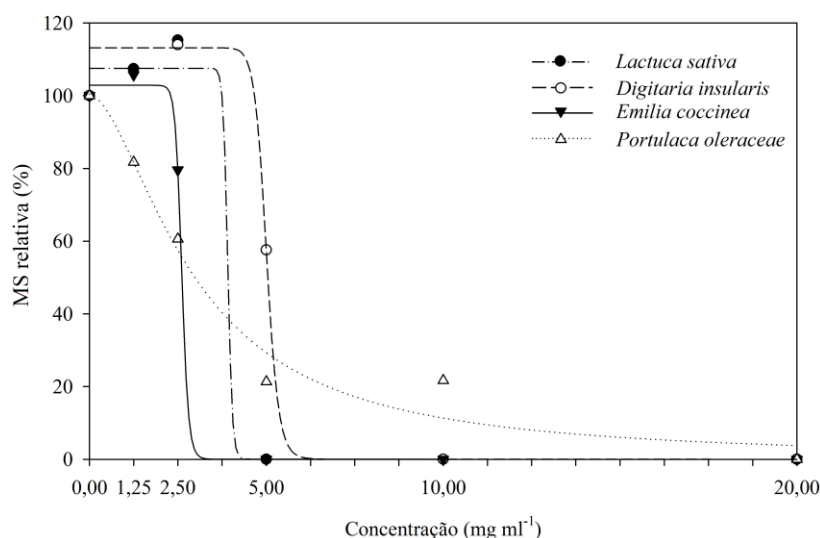
A



Diferindo os resultados observados para a espécie *P. oleraceae*, há trabalhos que relatam que a parte radicular da plântula geralmente são mais sensíveis às substâncias presentes nos extratos, quando comparada com outras estruturas da plântula, devido ao contato direto e prolongado das raízes com o extrato (aleloquímico) e / ou a uma resposta fisiológica distinta entre estruturas (FERREIRA e AQUILA, 2000; CHON et al., 2003). Souza Filho (2002) comprovou que extratos hidroalcoólicos da parte aérea, raízes e sementes de *Canavalia ensiformis* exerceram efeitos alelopáticos sobre a germinação de sementes e sobre o alongamento da raiz primária das plantas daninhas *Mimosa pudica*, *Urena lobata*, *Senna obtusifolia*, *Senna occidentalis*. Oliveira et al. (2005) ao avaliar o efeito de extratos das espécies *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae) e *Acacia bahiensis* (Fabaceae), verificaram redução no comprimento radicular das plântulas de *L. sativa*, evidenciando ser esta a parte da plântula mais sensível à presença dos inibidores.

Na Figura 28, estão dispostos os gráficos referentes à matéria seca do extrato etanólico de *C. ensiformis*. A redução da matéria seca foi inversamente relacionada ao aumento da concentração do extrato. A ordem de susceptibilidade ao extrato para a matéria seca foi: *E. coccinea* > *P. oleraceae* > *L. sativa* > *D. insularis*.

Figura 28. Matéria seca de plântulas das espécies receptoras em função das concentrações crescentes do extrato etanólico da parte aérea de *C. ensiformis*.



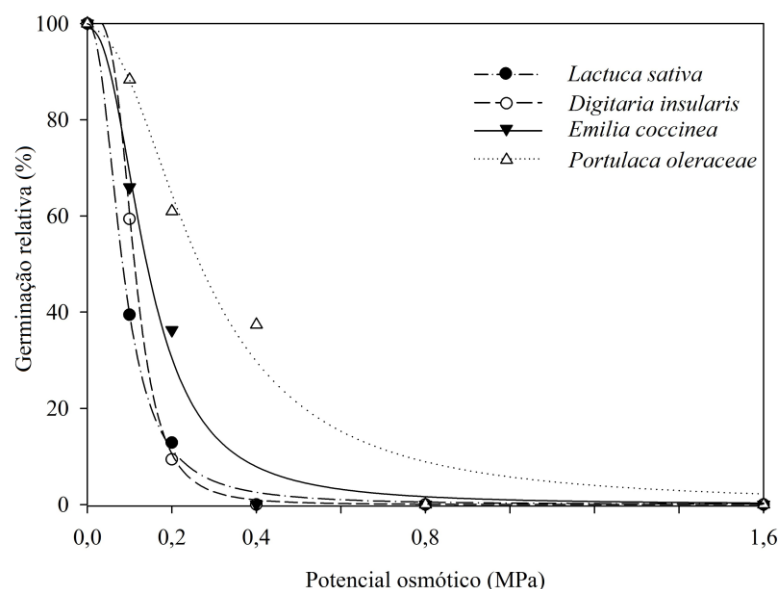
4.3.3 Potencial Osmótico

Acredita-se que o efeito inibitório de extratos vegetais na germinação de sementes ou no crescimento inicial é causado por aleloquímicos, mas existe também a possibilidade de que os extratos exerçam efeitos osmóticos negativos sobre as espécies receptoras, o que poderia se atribuir as diferenças nos parâmetros de germinação.

Os solutos presentes no extrato podem alterar a propriedade da água, resultando numa pressão osmótica diferente de zero na solução (VILLELA et al., 1991). Assim, o controle da concentração de solutos dos extratos é fundamental na realização de ensaios alelopáticos, pois podem haver neles substâncias como açúcares, aminoácidos, entre outros, que podem influenciar na concentração iônica e ser osmoticamente ativos (FERREIRA e BORGHETTI, 2004), mascarando o efeito alelopático (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Nesse sentido, na Figura 29 encontra-se a porcentagem de germinação das espécies receptoras submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos. A partir da concentração de - 0,1 MPa houve diminuição da germinação para as espécies *L. sativa*, *D. insularis* e *E. coccinea*. Para *P. oleraceae*, essa diminuição na germinação foi a partir da concentração de PEG a -0,2 MPa. A ordem de susceptibilidade das espécies receptoras em função das concentrações foi: *P. oleraceae* < *E. coccinea* < *D. insularis* < *L. sativa*.

Figura 29. Germinação das espécies doadoras submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos.



Na Tabela 16, é demonstrado o potencial osmótico do extrato aquoso e etanólico de *C. ensiformis*. Associando esses resultados, com o observado na Figura 29, os valores maiores que - 0,1 MPa sugerem um possível efeito alelopático para as espécies *L. sativa*, *D. insularis* e *E. coccinea*. E para a espécie *P. oleraceae*, a partir de - 0,2 MPa. No extrato aquoso esses valores são encontrados a partir da concentração de 0,25% (-0,115 MPa), e para o extrato etanólico, a partir de 20 mg ml⁻¹ (-0,117 MPa). Porém, verificou-se que não houve interferência do efeito osmótico sobre os parâmetros avaliados, pois as CL₅₀ dessas espécies estão abaixo dessas concentrações que causaram efeito osmótico, mostrando que os efeitos são devidos, possivelmente, aos aleloquímicos contidos no extrato.

Tabela 16. Potencial osmótico do extrato aquoso e etanólico de *Canavalia ensiformis*.

Extrato	Aquoso		Etanólico	
	Concentração (%)	Ψs (Mpa)	Concentração (mg ml ⁻¹)	Ψs (Mpa)
<i>Canavalia ensiformis</i>	0	0,000	0	-0,015
	0,156	-0,062	1,25	-0,018
	0,312	-0,051	2,5	-0,039
	0,625	-0,062	5	-0,044
	0,125	-0,073	10	-0,064
	0,25	-0,115	20	-0,117
	5,00	-0,213	-	-

4.3.4 Partição líquido-líquido

Na Tabela 17, estão dispostos os dados referentes à porcentagem de germinação (G), redução do comprimento da parte aérea (CPA) e radicular (CRA) de *L. sativa*, submetidas ao Extrato bruto, Hexânico, Clorofórmico, Acetato de etila, Metanólico e testemunha. Verificando a média das três variáveis (G, CPA e CRA), as partições que apresentaram maior percentual de inibição da germinação e redução do comprimento de plântulas foram as extraídas com os solventes Hexano, Clorofórmio e Acetato de etila.

Tabela 17. Porcentagem de germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e radicular (CRA) da espécie *L. sativa*, submetidas ao Extrato bruto, Hexânico, Clorofórmico, Acetato de etila, Metanólico e Testemunha de *C. ensiformis*.

TIPO DE EXTRATO	G	CPA	CRA	Média
TESTEMUNHA	100,00a	100,00a	100,00a	100,000a
ETANÓLICO	41,41b	91,62a	94,14a	75,723b
HEXANICO	77,31a	61,57bc	58,22b	65,7cd
CLOROFÓRMIO	90,75a	55,88c	43,27bc	63,3cd
AC. ETILA	76,19a	82,54ab	17,13d	58,62d
METANOL	90,75a	97,59a	39,17c	75,83b
C.V.	7,58	7,31	7,41	4,74

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Santos et al. (2011), ao avaliarem o efeito alelopático de diferentes frações do extrato da parte aérea de *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae), notaram que a fração Acetato de etila foi mais efetiva na inibição da germinação das espécies de plantas daninhas analisadas, e as frações obtidas com Hexano e Metanol apresentaram as menores taxas de inibição, não sendo consideradas suficiente para extrair os compostos com potencial alelopático. Em outro estudo, Santos et al. (2005), verificaram que a fração Acetato de etila e Metanólica da parte aérea de *C. ensiformis* extraem o maior número de compostos, porém a fração de Acetato de etila foi a mais eficiente na inibição da germinação de sementes de *Mimosa pudica*, *Cassia tora* e *Cassia occidentalis*.

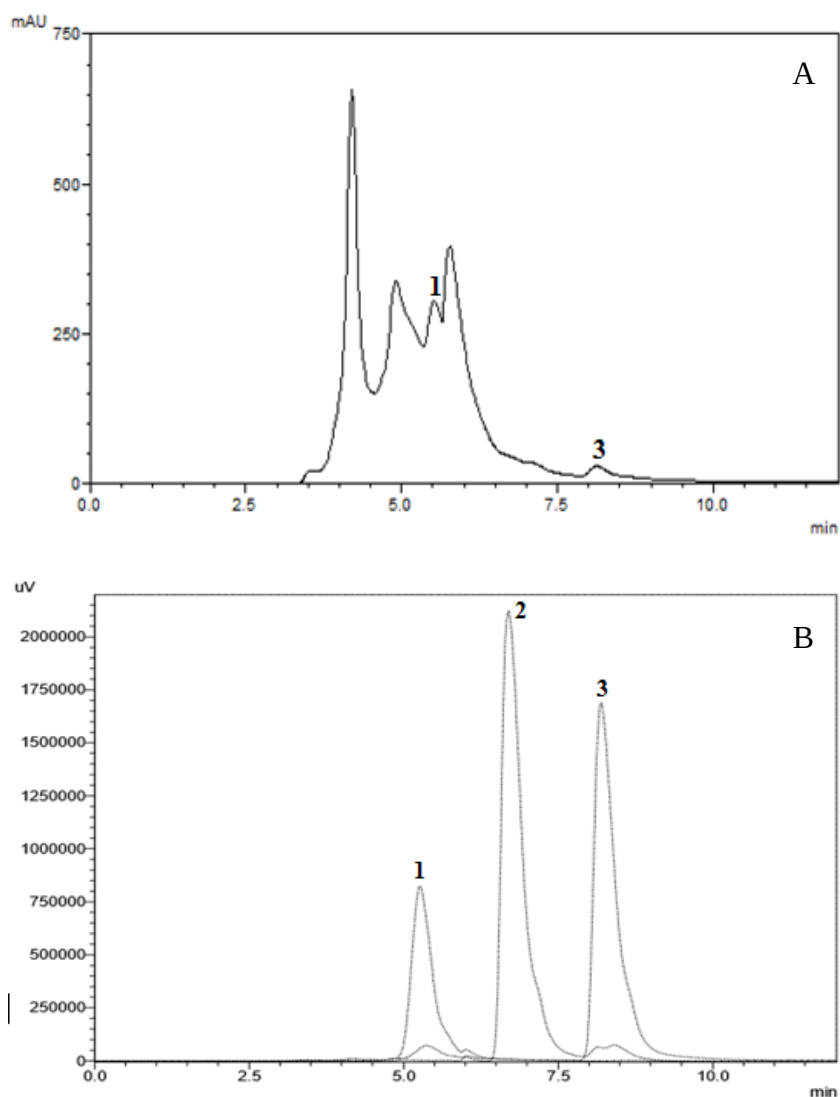
Os resultados obtidos estão de acordo com as informações da literatura, em que se observa que a fração Acetato de etila da parte aérea de *C. ensiformis* têm metabólitos secundários que afetam algum processo fisiológico durante a germinação de *L. sativa*, comprometendo o desenvolvimento da espécie. Silva et al. (2010), verificaram, que a fração Acetato de etila de *Hydrocotyle bonarienses* (Araliaceae) inibiu a germinação e o crescimento da parte aérea e radicular das espécies *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum*, *Allium cepa* e *Triticum aestivum*.

4.3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Para se identificar um metabólito secundário, o método mais comum é a comparação do seu tempo de retenção na amostra a ser analisada com o padrão desse mesmo composto. Segundo Ball (2006), cada composto é identificado através do seu tempo de retenção, que depende do modo de interação do mesmo com a fase estacionária. Assim, se verificarmos que o tempo de retenção (TR) obtido da amostra coincide com o tempo de retenção do padrão podemos identificar o composto.

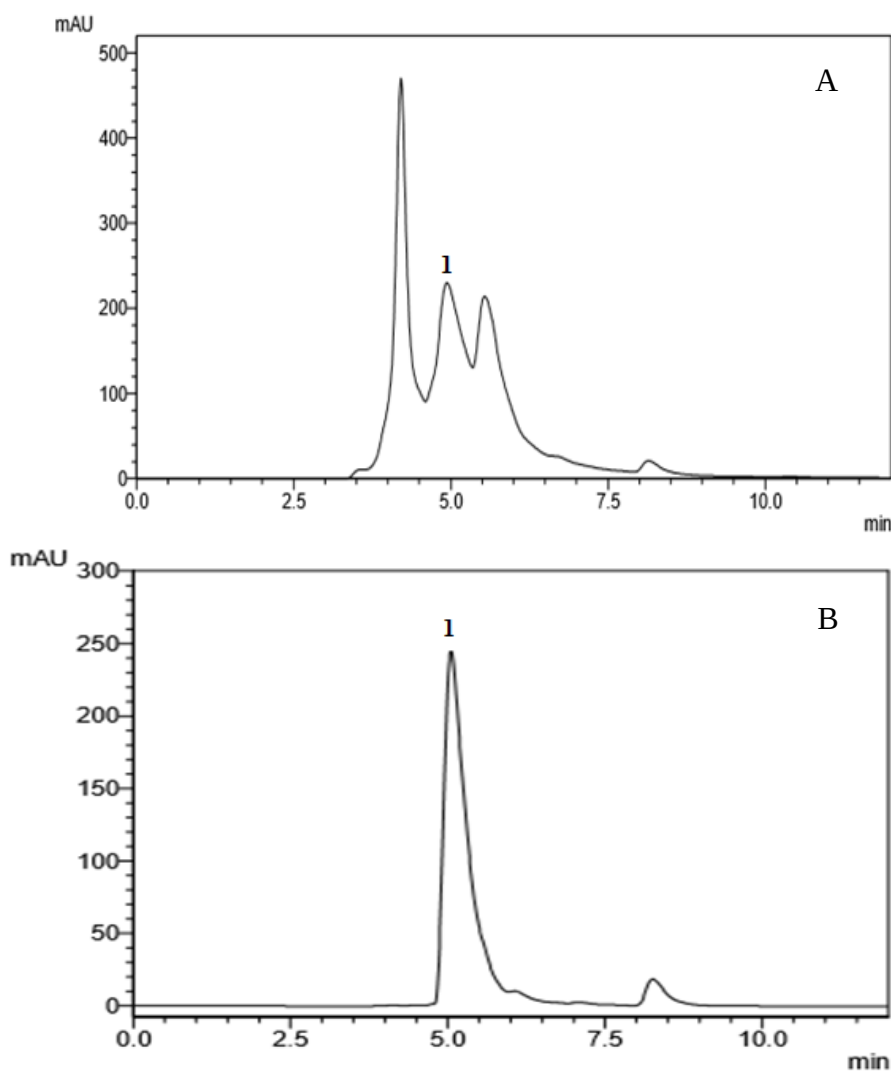
Nesse sentido, o cromatograma relativo à determinação dos compostos na amostra de *C. ensiformis*, no comprimento de onda a 220 nm, está representado na Figura 30-A. O pico 1 apresentou TR = 5,52 min, e o pico 2, TR = 8,12 min. Na figura 30-B estão identificados os picos dos padrões puros ácido caféico (1), quercetina (2) e kaempferol (3), neste mesmo comprimento de onda, com TR = $5,259 \pm 0,26$ min, TR = $6,691 \pm 0,33$ min e TR = $8,189 \pm 0,40$ min, respectivamente. Analisando comparativamente o tempo de retenção da amostra de *C. ensiformis*, (Figura 30-A) com os picos dos padrões (Figura 30-B), pode-se verificar que o ácido cafeico e kaempferol são os picos 1 e 3, respectivamente. Não foi possível identificar o pico da quercetina (pico 2) na amostra de *C. ensiformis*.

Figura 30. Cromatograma obtido da amostra de *C. ensiformis* (A) e dos padrões puros ácido cafeico e kaempferol (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 220 nm, com fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação dos picos: (1) ácido cafeico, (2) quercetina e (3) kaempferol.



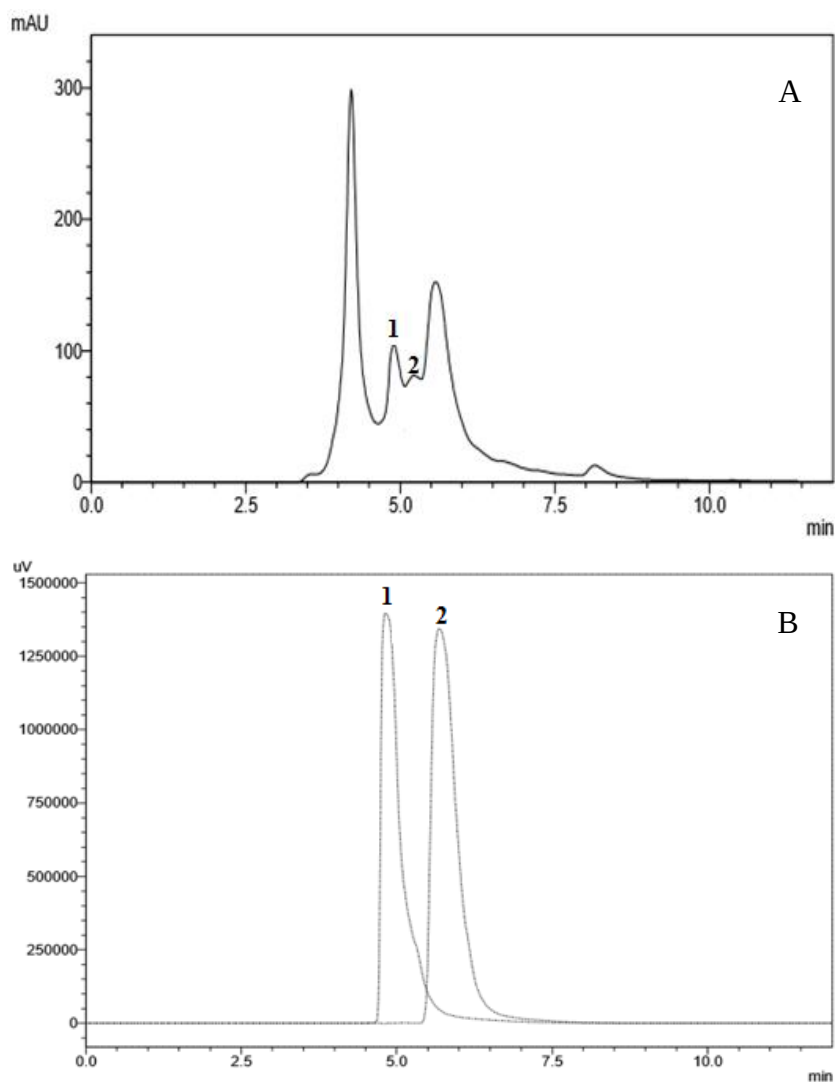
O cromatograma da Figura 31 refere-se à amostra de *C. ensiformis* (A) e ao padrão puro naringina (B) no comprimento de onda a 270 nm. O tempo de retenção do pico 1 da amostra de *C. ensiformis* é 4,93 min (Figura 31-A). Já para o padrão naringina, $TR = 5,048 \pm 0,25$ min (Figura 31-B). Pela comparação do tempo de retenção da amostra com o do padrão, pode-se confirmar que o pico 1 da amostra é a naringina.

Figura 31. Cromatograma obtido da amostra de *C. ensiformis* (A) e do padrão puro naringina (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 270 nm, com fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação do pico: (1) naringina.



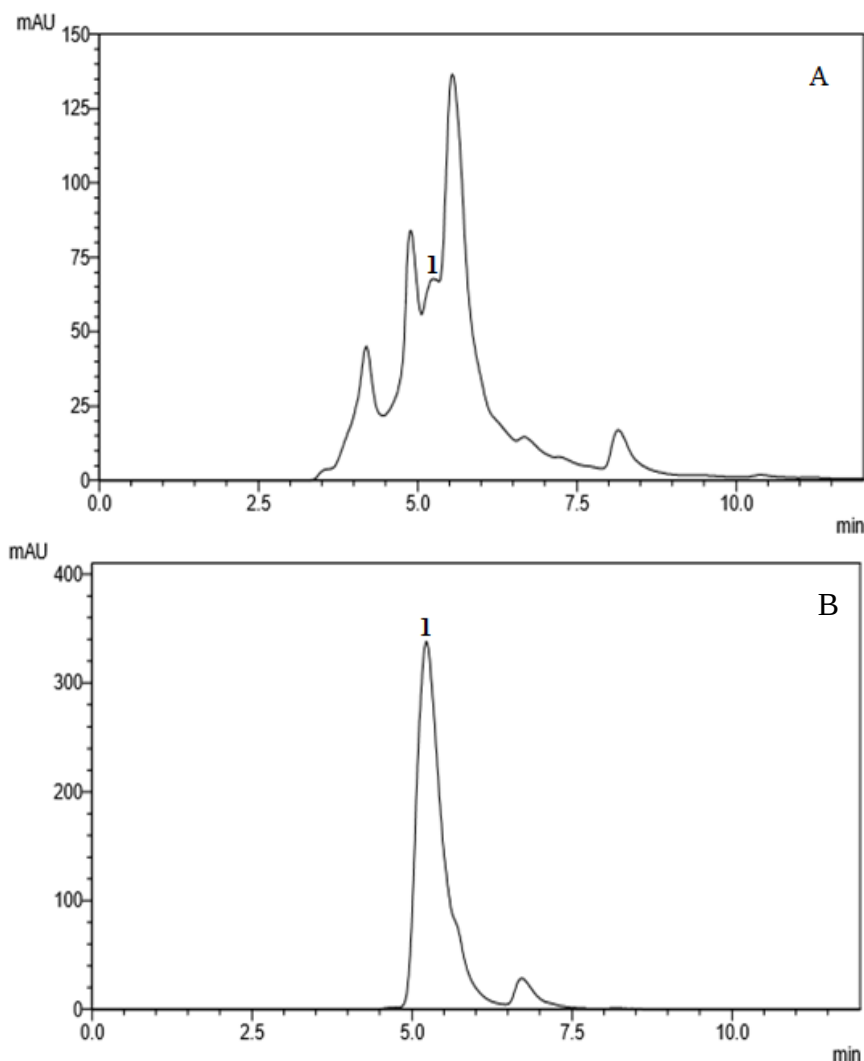
Na figura 32- A, encontra-se o cromatograma da amostra de *C. ensiformis*, e na figura 32-B o cromatograma dos padrões ácido clorogênico e ácido ferúlico. O comprimento de onda, de ambos os cromatogramas, é 330nm. Os picos 1 e 2 da amostra de *C. ensiformis* (Figura 32-A) apresentaram TR = 4,891 min e TR = 5,570 min, respectivamente. Os padrões puros de ácido clorogênico e ácido ferúlico demonstraram TR = 4,811±0,24 min e TR = 5,681±0,28 min, respectivamente (Figura 32-B). Sendo assim, os picos da amostra de *C. ensiformis* (Figura 32-A) foram confirmados como sendo dos compostos ácido clorogênico (pico 1) e ácido ferúlico (pico 2), através da comparação do tempo de retenção semelhante com os padrões (Figura 32-B).

Figura 32. Cromatograma obtido da amostra de *C. ensiformis* (A) e dos padrões puros ácido clorogênico e ácido ferúlico (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 330 nm, com fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação dos picos: (1) ácido clorogênico e (2) ácido ferúlico.



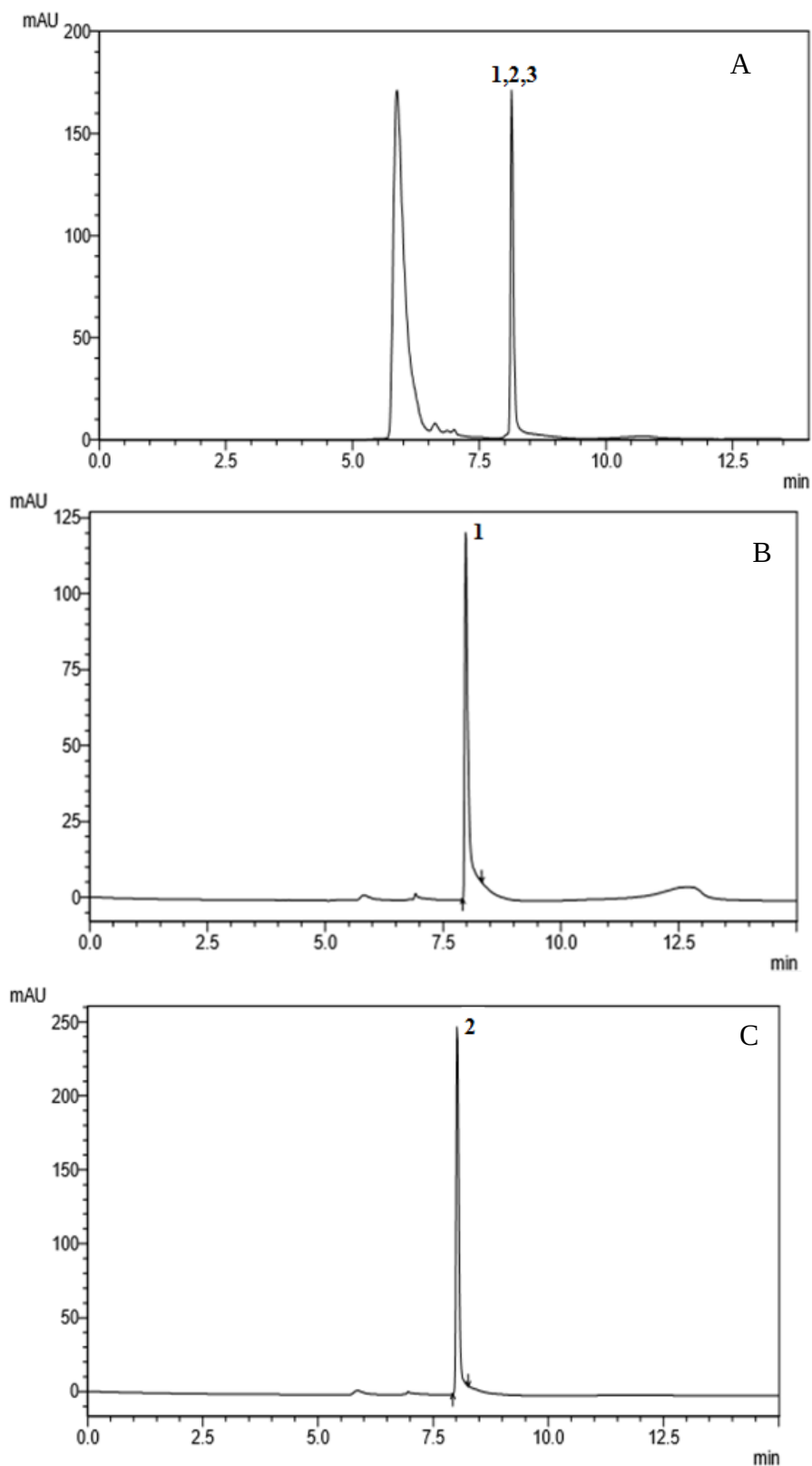
O cromatograma da Figura 33 refere-se à amostra de *C. ensiformis* (A) e ao padrão puro rutina (B) no comprimento de onda a 360 nm. O tempo de retenção do pico 1 da amostra de *C. ensiformis* é 5,237 min (Figura 33-A). Já para o padrão rutina é 5,220±0,26 min (Figura 33-B). Pela comparação do tempo de retenção da amostra com o do padrão, podemos confirmar que o pico 1 da amostra é a rutina.

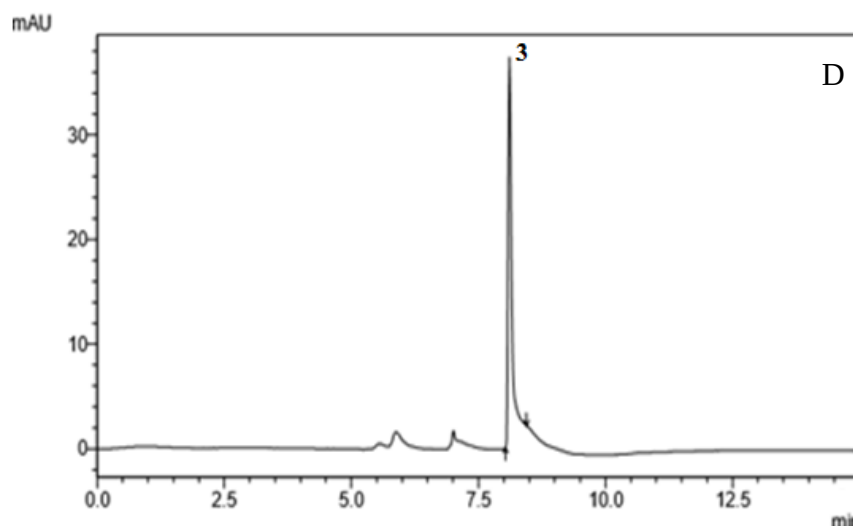
Figura 33. Cromatograma obtido da amostra de *C. ensiformis* (A) e do padrão puro rutina (B), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 360 nm, com fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e fase móvel composta por ácido fosfórico 0,1% e metanol (80:20). Identificação do pico: (1) rutina.



Na figura 34 estão dispostos os cromatogramas referente à amostra de *C. ensiformis* (Figura 34-A), e aos padrões puros ácido cítrico (Figura 34-B), ácido malônico (Figura 34-C) e ácido aspártico (Figura 34-D), analisados a 220 nm. O pico da amostra de *C. ensiformis* apresentou TR = 8,136 min. E os padrões ácido cítrico (pico 1), ácido malônico (pico 2) e ácido aspártico (pico 3), TR = 7,978±0,4 min, TR = 8,019±0,4 min e TR = 8,012±0,4 min, respectivamente. Através da comparação do tempo de retenção do pico da amostra de *C. ensiformis*, com os padrões, pode-se verificar que o ácido cítrico, malônico e aspártico estão presentes no mesmo pico da amostra, sendo necessário novos estudos para uma melhor visualização desses compostos na amostra de *C. ensiformis* de forma isolada.

Figura 34. Cromatograma obtido da amostra de *C. ensiformis* (A) e do padrão puro ácido cítrico (B), ácido malônico (C) e ácido aspártico (D), utilizando uma coluna de fase reversa (C18) e detector UV em 220 nm, com fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e fase móvel composta por 10mM KH₂PO₄: CH₃OH (95:5). Identificação do pico: (1) ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico.





Os compostos ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido caféico, kaempferol, naringina, rutina, ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico, identificados pela técnica da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), foram confirmados pela técnica da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (dados não apresentados).

Santos, Moraes e Rezende (2007), ao verificarem os metabólitos secundários presentes na raiz de *C. ensiformis* através da técnica da eletroforese capilar, identificaram os ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido caféico, ácido p-anísico), flavonóides (genisteína, rutina, naringina, kaempferol, quercetina) e ácidos carboxílicos (ácido oxálico, ácido maleico, ácido malônico, ácido tartárico, ácido málico, ácido aspártico, ácido cítrico e ácido succínico). E destes compostos, verificaram que o ácido clorogênico, ácido ferúlico, genisteína, rutina, naringina, kaempferol, atropina e ácido caféico apresentaram maior inibição de germinação de plantas daninhas. Todos os metabólitos secundários identificados corroboram a presente pesquisa para os compostos que foram analisados na parte aérea de *C. ensiformis*, com exceção da quercetina que não foi identificada. Assim, confirmou-se a presença dos ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido caféico), flavonóides (kaempferol, naringina e rutina) e ácidos carboxílicos (ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico) encontrados na literatura.

Mendonça (2008), ao avaliar os metabólitos secundários presentes nas sementes de *C. ensiformis*, através da técnica da cromatografia líquida de alta eficiência, identificaram o ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido p-anísico e genisteína, causando efeito alelopático no desenvolvimento das plântulas de *Commelina benghalensis* e *Ipomea grandpholia*. Mendes e Rezende (2014) também identificaram os compostos ácido clorogênico, ácido p-anísico, naringina e rutina em folhas de *C. ensiformis*. Corroborando o presente estudo, pois também foi identificado a presença de ácido clorogênico, naringina e rutina.

Os flavonóides possuem uma grande variedade de funções fisiológicas nas plantas (PEER et al., 2001). Possuem funções de pigmentos, atrativos ou repelentes de herbívoros, ações antimicrobianas, afetam a germinação do tubo polínico, atuam na proteção contra radiação UV, influenciam no transporte de auxinas, modulam os níveis das espécies reativas de oxigênio (EROS) e apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir a germinação e o crescimento das plantas (MACIAS et al., 1997; YANG; LAMPRECHT; LIU, 2000; SHIMOJI e YAMASAKI, 2005; HOAGLAND e WILLIAMS, 2004; BAIS et al., 2006; PEER e MURPHY, 2007).

Franco et al. (2016) identificaram a presença dos flavonóides (kaempferol e quercetina) no extrato de *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae), e relataram a redução da germinação e crescimento de plântulas de *Sorghum bicolor* quando submetidas ao extrato contendo esses compostos. Flavonóides (rutina, quercetina, catequina, epicatequina) e ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido caféico e ácido gálico) foram encontrados por Golisy et al. (2007) na espécie *Fagopyrum esculentum* (Polygonaceae) causando efeito alelopático em *L. sativa*, sendo a rutina a principal responsável pela inibição de crescimento das plântulas.

Fiorenza et al. (2016), observaram que o extrato de *Eragrostis plana* Nees (Poaceae) inibiu a germinação de sementes, o índice de velocidade de germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas em todas as espécies testadas, e identificaram a presença de compostos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogênico) e flavonóides (rutina), sendo possivelmente o efeito alelopático causado por esses metabólitos secundários. Esses resultados corroboram os dados de inibição das espécies receptoras quando submetidas ao extrato de *C. ensiformis* e os compostos identificados nesse presente estudo, comprovando que o efeito alelopático pode ser devido a presença desses metabólitos secundários.

Os ácidos fenólicos atuam induzindo o aumento da atividade de enzimas oxidativas, causando assim a modificação na permeabilidade da membrana e a formação de lignina, contribuindo para a redução do crescimento radicular (BAZIRAMAKENGA; LEROUX; SIMARD, 1995; FERRARESE et al., 2000). Oliveira et al. (2011) relataram que o ácido clorogênico inibiu a germinação e o crescimento das plântulas de *Bidens pilosa* e *Brachiaria brizantha*, confirmando seu efeito alelopático. Blum (1996) relatou que alguns ácidos fenólicos (ácido p-hidroxibenzóico, ácido P-cumárico e ácido ferúlico) inibem a condutividade hidráulica e a absorção de nutrientes pelo sistema radicular das plantas, inibindo o desenvolvimento. Chon e Kim (2002), observaram que o extrato foliar de *Medicago sativa* L. (Fabaceae) apresentou maior inibição do crescimento radicular, e dentre os compostos identificados, estão o ácido ferúlico e ácido caféico. Loffredo, Monaci e Senesi

(2005) relataram que ácido caféico e ácido ferúlico possuem efeito alelopático e inibem a germinação e o crescimento de plântulas de *L. sativa* e *Lycopersicon esculentum*. Bubna et al. (2011), verificaram que o ácido caféico aumentou a formação dos monômeros de ligninas, que solidificou a célula da parede celular, e assim, inibiu o crescimento radicular de *Glycine max*. Devido a esses relatos, pode-se inferir que os ácidos fenólicos encontrados na parte aérea de *C. ensiformis*, contribuíram para a redução da germinação e do comprimento de plântulas nas espécies receptoras analisadas.

Em relação aos ácidos carboxílicos, Santos et al. (2011), utilizando a técnica de eletroforese capilar, identificaram os compostos ácido oxálico, ácido maleico, ácido malônico, ácido tartárico, ácido málico, ácido aspártico, ácido cítrico e ácido succínico em plantas de *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae). Ao observarem a inibição da germinação de plantas submetidas a esses compostos, verificaram que o ácido maleico e aspártico não causaram nenhum efeito, e os ácidos tartárico, málico e cítrico causaram maior inibição da germinação de *Mimosa pudica*. De acordo com esse resultado, o ácido cítrico encontrado nesse experimento pode ter causado algum efeito alelopático.

Associando os dados da literatura da ação de cada metabólito secundário na planta, com os compostos encontrados nesse estudo, é possível inferir que a inibição da germinação, a redução no crescimento de plântulas das espécies receptoras, pode ser devido a interferência dos compostos pertencentes ao grupo dos flavonóides, ácidos fenólicos e ácidos carboxílicos encontrados na parte aérea de *C. ensiformis*, sendo necessários mais estudos para avaliar se eles atuam de forma isolada ou sinergicamente.

4.4 CONCLUSÕES

Dentre as espécies estudadas, *P. oleraceae* é a mais sensível aos efeitos alelopáticos do extrato aquoso de *C. ensiformis*.

O extrato etanólico de *C. ensiformis* proporciona maior inibição da germinação e índice de velocidade de germinação de *Lactuca sativa*.

A parte aérea de *C. ensiformis* contém ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido caféico), flavonóides (kaempferol, naringina e rutina) e ácidos carboxílicos (ácido cítrico, ácido malônico e ácido aspártico), podendo ser os responsáveis pela atividade alelopática dessa espécie.

4.5 REFERÊNCIAS

AL-SHERIF, E.; HEGAZY, A.K.; GOMMA, N.H.; HASSAN, M.O. Allelopathic effect of black mustard tissues and root exudates on some crops and weeds. **Planta Daninha**, v. 31, p. 11-19, 2013.

BAIS, H.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S.; VIVANCO, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 233–266, 2006.

BALL, G. F. M. (2006). **Vitamins in foods: Analysis, bioavailability, and stability**, CRC Press, Boca Raton, 2006, 785p.

BARBIN, D. **Planejamento e análise de experimentos agronômicos**. Arapongas: Midas, 2003. 208 p.

BAZIRAMAKENGA, R.; LEROUX, G.D.; SIMARD, R.R. Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 271-285, 1995.

BLUM, U. Allelopathic interactions involving phenolic acids. **Journal of Nematology**, v. 28, p. 259-267, 1996.

BLUM, U. The value of model plant-microbe-soil systems for understanding processes associated with allelopathic interaction: one example. In: Inderjit, Dakshini KMM, Einhellig FA (eds) Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications. **American Chemical Society**, p. 127–131, 1995.

BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. Sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 3, p. 260-265, 2009.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.209-222.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

BUBNA, G.A.; LIMA, R.B.; ZANARDO, D.Y.L.; SANTOS, W.D.; FERRARESE, M.D.L.L.; FERRARESE-FILHO, O. Exogenous caffeic acid inhibits the growth and enhances the lignification of the roots of soybean (*Glycine max*). **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p.1627–1633, 2011.

BUER, C.S.; DJORDJEVIC, M.A. Architectural phenotypes in the transparent test a mutants of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 751–763, 2009.

CALEGARI, A. **Leguminosas para adubação verde no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1995. (IAPAR. Circular, 80).

CARVALHO, G.; FONTANÉTTI, A.; CANÇADO, C.T. Potencial alelopático do feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) e da mucuna preta (*Stilozobium aterrimum*) no controle da tiririca (*Cyperus rotandus*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, p.647-651, 2002.

CARVALHO, W. P.; CARVALHO, G.J. ; ABBADE NETO, D. O. ; TEIXEIRA, L. G. V. . Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal** (Online), v. 30, p. 1-11, 2014.

CAVALCANTI, N.B. Influência de diferentes substratos na emergência e crescimento de plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L.). **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 8, n. 3, p. 51-70, 2011.

CHON, S.U.; KIM, J.D. Biological activity and quantification of suspected allelochemicals from alfalfa plant parts. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 188, p. 281-285, 2002.

CHON, S.U.; NELSON, C.J.; COUTTS, J.H. Physiological assessment and path coefficient analysis to improve evaluation of alfalfa autotoxicity. **Journal of Chemical Ecology**, v.29, n.11, p.2413-2424, 2003.

CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 513-519, 2002.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p. 3-30.

CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass

(*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, Guildford, v.20, p.921-928, 2001.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Fundamentos de Cromatografia**, Editora da UNICAMP: Campinas, 2006.

CORSATO, J.M.; SANTORUM, M.; LESZCZYNSKI, R.; FORTES, A.M.T. Efeito alelopático do tremoço branco (*Lupinus albus* L.) sobre a germinação e crescimento inicial de alface, soja e picão-preto. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, p. 14-15, 2008.

DING, J.; WANG, X.; ZHANG, X.W.; LI, Q.; LUO, M. Optimization of ; LI, Q.; LUO, M. Optimization of RP-HPLC analysis of low molecular weight organic acids in soil. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 29, p. 99-112, 2006.

FERRARESE, M.L.L.; SOUZA, N.E.; RODRIGUES, J.D.; FERRARESE FILHO, O. Carbohydrate and lipid status in soybean roots influenced by ferulic acid uptake. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 23, p. 421-427, 2000.

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

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

FIORENZA, M.; DOTTO, D.B.; BOLIGNON, A.A.; BOLIGNON, A.A.; ATAHYDE, M.L., VESTENA, S. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni). **Iheringia**, v. 71, p. 193-200, 2016.

FONTANETTI, A.; CARVALHO, G.J.; MORAIS, A.R.; ALMEIDA, K.; DUARTE, W.F. Adubação verde no controle de plantas invasoras nas culturas de alface americana e de repolho. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 967-973, 2004.

FRANCO, D.M.; SALDANHA, L.L.; NETO, J.S.L.; SANTOS, L.C.; DOKKEDAL, A.L.; ALMEIDA, L.F.R. Seasonal variation in allelopathic potential of the leaves of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p.157-165, 2016.

GOLISY, A.; LATA, B.; GAWRONSKI, S.; FUJII, Y. Specific and total activities of the allelochemicals identified in buckwheat. **Weed Biology and Management**, v. 7, p. 164–171, 2007.

GOMES, F.M.; FORTES, A.M.T.; SILVA, J.; BONAMIGO, T.; PINTO, T.T. Efeito alelopático da fitomassa de *Lupinus angustifolius* (L.) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *Zea mays* (L.) e *Bidens pilosa* (L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.8, p. 48-53, 2013.

HAGEMANN, T. R.; BENIN, G.; LEMES, C.; MARCHESE, J.A.; MARTIN, T.N.; PAGLIOSA, E.S.; BECHE, E.. Potencial alelopático de extratos aquosos foliares de aveia sobre azevém e amendoim-bravo. **Bragantia**, v. 69, p. 509-518, 2010.

HAJIMEHDIPOOR, H.; kondori, B.M.; AMIN, G.R.; ADIB, N.; RASTEGAR, H.; SHEKARCH, M. Development of a validated HPLC method for the simultaneous determination of flavonoids in *Cuscuta chinensis* Lam. by ultra-violet detection. **DARU Journal of Pharmaceutical Science**, v. 20, p.1-6, 2012.

HOAGLAND, R.E.; WILLIAMS, R.D. Bioassays-useful tolls of the study of allelopathy. In: MACIAS, F.A. et al. (Eds.) **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2004, p.315-41.

KHAN, M.Z.; NAWAB, K.; KHAN, M.A. Weeds related professional competency of agricultural extension agentes in NWPF, Pakistan. **African Crop Science Conference Proceedings**, v.8, p. 1439-1442, 2007.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos., 2000. 531p.

LOFFREDO, E., MONACI, L.; SENESI, N. Humic Substances Can Modulate the Allelopathic Potential of Caffeic, Ferulic, and Salicylic Acids for Seedlings of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9424-9430, 2005.

MACIAS, F.A.; MOLINILLO, J.M.G.; TORRES, A.; VARELA, R.M.; CASTELLANO, D. Bioactive flavonoids from *Helianthus annuus* cultivars. **Phytochemistry**, v.45, p.683-687, 1997.

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

MANOEL, D.D.; DOICHE, C.F.R.; FERRARI, T.B.; FERREIRA, G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e pata-devaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 63-70, 2009.

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

MARINOV-SERAFIMOV, P. Determination of allelopathic effect of some invasive weed species on germination and initial development of grain legume crops. **Pesticides & Phytomedicine**, v. 25, p. 251-259, 2010.

MAULI, M. M.; FORTES, A. M. T.; ROSA, D. M.; PICCOLO, G.; MARQUES, D. S.; CORSATO, J. M.; LESZCZYNSKI, R. Alelopatia de Leucena sobre soja e plantas invasoras. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 55-62, 2009.

MENDES, I.D.S.; REZENDE, M.A.O. Assessment of the allelopathic effect of leaf and seed extracts of *Canavalia ensiformis* as postemergent bioherbicides: A green alternative for sustainable agriculture. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 49, p. 374-380, 2014.

MENDONÇA, R. **Determinação de aleloquímicos por HPLC/UV-Vis em extratos aquosos de sementes de *Canavalia ensiformis* e estudo da atividade alelopática**. 2008. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. **Plant Physiology**, v. 51, p. 914-916, 1973.

OLIVEIRA, M.N.S.; SIMOES, M.O.M.; RIBEIRO, L.M.; LOPES, P.S.N.; GUSMÃO, E.; DIAS, B.A.S. Efeitos alelopáticos de seis espécies arbóreas da família Fabaceae. **Unimontes Científica**, v.7, p. 121-128, 2005.

OLIVEIRA, P.V.A.; FRANÇA, S.C.; BREGAGNOLI, M.; PEREIRA, P.S. Avaliação alelopática de *Tithonia diversifolia* na germinação e no crescimento inicial de *Bidens pilosa* e *Brachiaria brizantha*. **Revista Agroambiental**, v.3, p.23-30, 2011.

PEER, D.E.; BROWN, B.W.; TAGUE, G.K.; MUDAY, L.; MURPHY, T.A.S. Flavonoid accumulation patterns of transparent testa mutants of *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 126, p. 536–548, 2001.

PEER, W.A.; MURPHY, A.S. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? **Trends Plant Sci.**, v. 12, p. 556–563, 2007.

RICE, E.L. **Allelopathy**. Ed. Academic press, New York, 2013, p. 421.

SANTOS, S. **Potencial alelopático e avaliação sistemática de compostos secundários em extratos provenientes de *Canavalia ensiformis* utilizando eletroforese capilar**. 2004. 185 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2004.

SANTOS, S.; MORAES, M.L.L.; REZENDE, M.O.O. Allelopathic potential and systematic evaluation of secondary compounds in extracts from roots of *Canavalia ensiformis* by capillary electrophoresis. **Eclética Química**, v. 32, p. 13-18, 2007.

SANTOS, S.; MORAES, M.L.L.; REZENDE, M.O.O.; SOUZA FILHO, A.P.S. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Eclética Química**, v. 36, p. 51-68, 2011.

SANTOS, S.; MORAES, M.L.L.; SOUZA FILHO, A.P.S.; REZENDE, M.O.O. Allelopathic Potential and Systematic Evaluation of Organic Extracts from *Canavalia ensiformis* Leaves (Jack Beans). **Journal of Environmental Science and Health**, v. 40, p. 77-84, 2005.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

SHIMOJI, H.; YAMASAKI, H. Inhibitory effects of flavonoids on alternative respiration of plant mitochondria. **Biologia Plantarum**, v. 49, p. 117-119, 2005.

SILVA, R.M.G.; SARAIVA, T.S.; SILVA, R.B.; GONÇALVES, L.A.; PEREIRA, L. Potencial alelopático de extrato etanólico de *Anadenanthera macrocarpa* e *Astronium graveolens*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 632-637, 2010.

SOARES, G.L.G.; PEREIRA, T.O.; SCALON, V.R.; VIEIRA, D.A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, v. 9, p. 119-126, 2002.

SOUZA FILHO, A.P.S. Atividade potencialmente alelopática de extratos brutos e hidroalcoólicos de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 20, n. 3, p. 357-364, 2002.

STREIBIG, J. C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v. 28, p. 497-484, 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TAVEIRA, L.K.P.D.; SILVA, M.A.P.; LOIOLA, M.I.B. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. **Acta Scientiarum**, v. 35, p. 325-331, 2013.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C.A.S.; SILVA, A.C.T.M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântulas na avaliação da qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, p.90-96, 2007.

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

VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.

WEIR, T. L.; PARK, S. W.; VIVANCO, J. M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p.472 - 479, 2004.

YANG, K.; LAMPRECHT, S.A.; LIU, Y. Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. **Carcinogenesis**, v.21, p.1655-1660, 2000.

ZENG, R.S. Allelopathy—the solution is indirect. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, p. 515–516, 2014.

ZIMDAHL, R.L. **Fundamentals of Weed Science**, Third edition. Academic Press, 2007, 666p.