



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

ERIVANIA VIRTUOSO RODRIGUES FERREIRA

ATIVIDADE ALELOPÁTICA E COMPOSTOS FENÓLICOS DE PLANTAS
DANINHAS PELO MÉTODO SANDUICHE

Rio Largo – AL

2019

ERIVANIA VIRTUOSO RODRIGUES FERREIRA

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA E COMPOSTOS FENÓLICOS DE PLANTAS
DANINHAS PELO MÉTODO SANDUICHE**

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

Orientador: Renan Cantalice de Souza
Co-orientador: Aldenir Feitosa dos Santos

Rio Largo - AL
2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

F383a	<p>Ferreira, Erivania Virtuoso Rodrigues Atividade alelopática e compostos fenólicos de plantas daninhas pelo método sanduíche / Erivania Virtuoso Rodrigues Ferreira – 2019. 106 f.; il.</p> <p>Dissertação (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2019. Orientação: Dr. Renan Cantalice de Souza Co-orientação: Dr^a. Aldenir Feitosa dos Santos</p> <p>Inclui bibliografia</p> <p>1. Interação planta. 2. Bioensaios. 3. Metabólitos secundários.</p> <p>I. Título</p> <p style="text-align: right;">CDU: 632.5</p>
-------	---

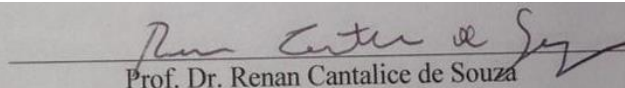
ERIVANIA VIRTUOSO RODRIGUES FERREIRA

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA E COMPOSTOS FENÓLICOS DE PLANTAS
DANINHAS PELO MÉTODO SANDUICHE**

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

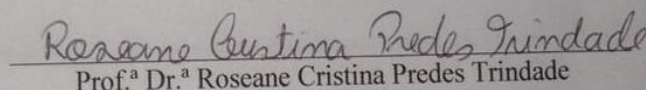
Data da Aprovação: 22/02/2019

Banca Examinadora



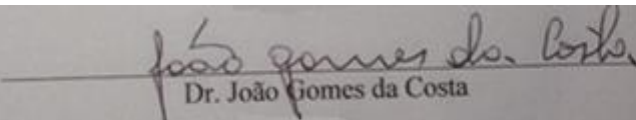
Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza

Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus CECA
Orientador



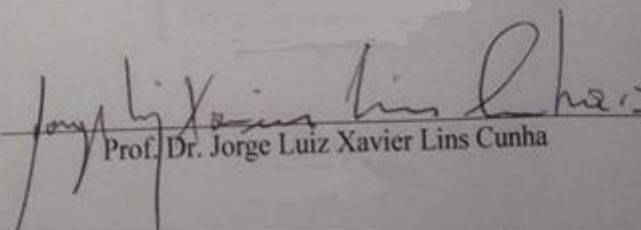
Prof.ª Dr.ª Roseane Cristina Predes Trindade

Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus CECA
Examinadora



Dr. João Gomes da Costa

Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Embrapa Tabuleiros Costeiros – Campus CECA
Examinador



Prof. Dr. Jorge Luiz Xavier Lins Cunha

Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus CECA
Examinador

À minha mãe (in memoriam)!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Este espaço de agradecimento é uma forma reduzida de ser grata às possibilidades institucionais que me foram disponibilizadas e uma breve menção aos apoios profissionais, acadêmicos e afetivos com os quais contei durante esse tempo de estudos e pesquisa.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas (PGPP – UFAL/CECA) que me ofereceu as condições necessárias para o desenvolvimento deste processo de formação.

Agradeço, em especial, ao meu orientador Prof. Dr. Renan Cantalice de Souza por seu apoio e compreensão em meus altos e baixos desse processo, sempre incentivando o caminhar.

À professora Aldenir Feitosa dos Santos, pela valiosa contribuição neste processo.

Agradeço aos professores do PGPP que ampliaram minha visão sobre a área em suas disciplinas e aos professores que fizeram parte de minha qualificação e banca de defesa. A leitura atenta, a recomendação bibliográfica, a ponderação da dúvida, a cobrança de posicionamento e produção são atividades importantes que a academia me ofereceu por intermédio dessas pessoas.

Aos funcionários da secretaria do PGPP, Maxwel e Gustavo, sempre atenciosos nas mais diversas demandas e necessidades deste processo.

Sou muito grata a todos que puderam dispor de seu tempo, seu olhar e palavras para participar de alguma forma do meu processo de doutoramento. Um pesquisador não se sustenta sozinho e desligado de seus laços. E uma pesquisa sempre agita nossa subjetividade. Sendo assim, tenho a despreziosa clareza de admitir que fui muito afortunada por receber assistência abundante e generosa da família, dos amigos, colegas, professores, funcionários das instituições da qual fiz parte ou acionei para cumprir este meu objetivo.

Não tenho dúvidas da minha transformação no período entre a seleção do doutorado até o final dessa tese. Esse período contém os melhores e os piores momentos da minha vida – sim, isso é possível. Muitas pessoas cruzaram meu caminho e contribuíram nessa transformação, pois em momentos de vazio e descrença nunca me senti tão amada e amparada.

E quando “perdi tudo” percebi o quanto eu tinha. Quando perdi a pessoa mais importante, tantas outras me acolheram e me permitiram seguir este caminho. Sou muito grata a minha família que é fonte de coragem, amor e inspiração.

Sim, sempre sonhei que nestes agradecimentos eu agradeceria tua cura. Mas não deu. Então, **mãe**, te agradeço por você ter existido (e continuar existindo) na minha vida, por tanto me ensinar, por tanto me amar, por tanto lutar. Por me incentivar a tentar a seleção e continuar

o doutorado, mesmo em meio a todos os percalços. Uma apoiando a outra, incondicionalmente. Com você descobri que sou muito mais forte do que imaginava, que posso amar para além das minhas crenças. Que amor a gente demonstra mesmo quando nossa boca não fala, nossas pernas não andam, mas um olhar e um aperto de mão conseguem provar o quanto o outro importa. Nossa parceria e nosso amor não são dessa vida e nem nela acaba.

Gratidão eterna a todos que estiveram comigo nessa caminhada.

Só é útil o conhecimento que nos torna melhores.

(Sócrates)

RESUMO

A alelopatia é um mecanismo de interação bioquímica entre vegetais, considerada uma forma de adaptação química defensiva das plantas. Neste fenômeno, metabólitos secundários produzidos por uma planta são liberados para o meio ambiente e influenciam no crescimento e desenvolvimento de plantas vizinhas. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial alelopático de *Alternanthera tenella*, *Paspalum maritimum*, *Priva bahiensis*, *Richardia grandiflora*, *Scoparia dulcis* e *Solanum paniculatum* (espécies doadoras) através de bioensaios de germinação e desenvolvimento inicial, bem como identificar e quantificar os compostos fenólicos produzidos por estas plantas. O experimento foi organizado em Delineamento inteiramente casualizado com 4 plantas receptoras e 5 concentrações (0,00; 0,01; 0,02; 0,04; e 0,08 g), com 6 repetições de 15 sementes cada. As sementes de *Lactuca sativa*, *Emilia fosbergii*, *Portulaca oleracea* e *Digitaria insularis* (espécies receptoras) foram colocadas para germinar em camadas de agar, em placas multipoços e mantidas em sala de crescimento com temperatura constante (25 °C) e fotoperíodo de 12 horas, por um período de 7 a 14 dias. Ao final deste período foram realizadas as avaliações do percentual de germinação (PG), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da parte radicular (CPR). Os compostos fenólicos foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e de acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos foi possível verificar que todas as espécies de plantas daninhas testadas possuem um efeito alelopático nas plantas receptoras deste estudo, mas *Paspalum maritimum* e *Scoparia dulcis* foram as espécies que mais se destacaram alelopaticamente nas plantas testadas e os polifenóis (ácido cafeico, cumarina, ácido salicílico, quercetina e kaempferol), lixiviados das folhas e raízes para as camadas de agar, nos tratamentos de maior concentração, podem estar relacionados com este potencial alelopático interferindo no percentual de germinação, no crescimento primário da raiz e no alongamento do hipocótilo das plântulas das espécies receptoras.

Palavras-chave: Interação planta - planta; Bioensaios; Metabólitos secundários.

ABSTRACT

Allelopathy is a mechanism of biochemical interaction between plants, considered as a form of chemical defensive adaptation of plants. In this phenomenon, secondary metabolites produced by a plant are released into the environment and influence the growth and development of neighboring plants. The objective of this work was to investigate the allelopathic potential of *Alternanthera tenella*, *Paspalum maritimum*, *Priva bahiensis*, *Richardia grandiflora*, *Scoparia dulcis* and *Solanum paniculatum* (donor species) through germination and initial development bioassays, as well as to identify and quantify phenolic compounds produced by these plants. The experiment was arranged in a completely randomized design with 4 receptor plants and 5 concentrations (0.00, 0.01, 0.02, 0.04 and 0.08 g), with 6 replicates of 15 seeds each. The seeds of *Lactuca sativa*, *Emilia fosbergii*, *Portulaca oleracea* and *Digitaria insularis* (recipient species) were planted to germinate in agar layers, in multiwell plates and kept in a growth room with constant temperature (25 °C) and 12-hour photoperiod, for a period of 7 to 14 days. At the end of this period, germination percentage (PG), shoot length (CPA) and root length (CPR) were evaluated. The phenolic compounds were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) and according to the methodology adopted and the results obtained it was possible to verify that all weed species tested have an allelopathic effect in the recipient plants of this study, but *Paspalum maritimum* e *Scoparia dulcis* were the most prominent allelopathic species in the tested plants and the polyphenols (caffeic acid, coumarin, salicylic acid, quercetin and kaempferol), leachate from the leaves and roots to the agar layers, in the higher concentration treatments, may be related with this allelopathic potential interfering in the percentage of germination, in the primary root growth and in the hypocotyl elongation of the seedlings of the host species.

Keywords: Plant-plant interaction; Bioassays; Secondary metabolites.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Vias dos metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides....	22
Figura 2: Estrutura dos principais compostos fenólicos.....	23
Figura 3: Vias de liberação dos agentes alelopáticos	27
Figura 4: Porcentagem de germinação de sementes das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos da parte aérea das plantas doadoras.....	55
Figura 5: Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos da parte aérea das plantas doadoras	59
Figura 6: Comprimento primário da raiz (CPR) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos da parte aérea das plantas doadoras	62
Figura 7: Porcentagem de germinação de sementes das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos das raízes das plantas doadoras	84
Figura 8: Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos das raízes das plantas doadoras.....	88
Figura 9: Comprimento primário da raiz (CPR) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos das raízes das plantas doadoras.....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Espécies de plantas daninhas com potencial alelopático	19
Tabela 2: Registros das plantas depositadas no Herbário Mac (VOUCHER)	49
Tabela 3: Gradiente de eluições de amostras e padrões em uma corrida de 80 minutos.....	52
Tabela 4: Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial para germinação (G) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes da parte aérea das plantas doadoras	54
Tabela 5: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros a e b do modelo Decaimento exponencial para germinação (G) de sementes das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes da parte aérea das plantas doadoras	57
Tabela 6: Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial para comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes da parte aérea das plantas doadoras	58
Tabela 7: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros a e b do modelo Decaimento exponencial para Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes da parte aérea das plantas doadoras	60
Tabela 8: Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial para comprimento primário de raiz (CPR) de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes da parte aérea das plantas doadoras	61
Tabela 9: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros a e b do modelo Decaimento exponencial para Comprimento primário da raiz (CPR) de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes da parte aérea das plantas doadoras	64
Tabela 10: Quantificação dos polifenóis presentes nos extratos da parte aérea das plantas daninhas doadoras deste estudo	65
Tabela 11: Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo decaimento exponencial com dois parâmetros, para germinação (G) de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes das raízes das plantas doadoras	82
Tabela 12: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros a e b do modelo Decaimento exponencial para germinação (G) de sementes das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes de raízes das plantas doadoras	86
Tabela 13: Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo decaimento exponencial com dois parâmetros, para comprimento de parte aérea (CPA) de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes das raízes das plantas doadoras	86

Tabela 14: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **Comprimento da parte aérea (CPA)** de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes de raízes das plantas doadoras..... 89

Tabela 15: Estimativas do parâmetro **a** e **b** do coeficiente de determinação (R^2) do modelo decaimento exponencial com dois parâmetros para **comprimento primário de raiz (CPR)** de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes das raízes das plantas doadoras 89

Tabela 16. Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **Comprimento primário da raiz (CPR)** de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes de raízes das plantas doadoras..... 93

Tabela 17: Quantificação dos Polifenóis presentes nos extratos das raízes das plantas daninhas doadoras deste estudo 93

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Plantas daninhas	16
2.2 Métodos de controle de plantas daninhas	16
2.3 Alelopatia no manejo de plantas daninhas	18
2.4 Conceitos e aspectos históricos da Alelopatia	20
2.5 Biossíntese de aleloquímicos e função alelopática	21
2.5.1 Compostos Fenólicos	23
2.5.2 Terpenos	25
2.5.3 Alcaloides	26
2.6 Liberação e mecanismos de ação dos aleloquímicos	26
2.7 Identificação dos metabólitos secundários	28
2.8 Bioensaios utilizados na avaliação da atividade alelopática	30
2.9 Utilização do método sanduíche na Alelopatia	32
2.10 Descrição das espécies utilizadas neste estudo	33
2.10.1 Espécies doadoras	33
2.10.2 Espécies receptoras	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO I: Efeito alelopático de folhas de plantas daninhas pelo método sanduíche	45
RESUMO	45
ABSTRACT	46
INTRODUÇÃO	47
MATERIAIS E MÉTODOS	48
Coleta de material	49
Avaliação do efeito alelopático	50
Perfil Fitoquímico do Meio e obtenção do extrato bruto	51
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), padrões e amostras	51
TRATAMENTO ESTATÍSTICO	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
<i>Germinação</i>	53
<i>Comprimento da parte aérea</i>	58
<i>Comprimento primário da raiz</i>	61
<i>Análises fitoquímicas</i>	64
CONCLUSÃO	67
AGRADECIMENTOS	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
CAPÍTULO II: Atividade alelopática de raízes de plantas daninhas pelo método sanduíche	75
RESUMO	75
ABSTRACT	76
INTRODUÇÃO	77
MATERIAIS E MÉTODOS	78
Coleta de material	79

Bioensaios e delineamento estatístico	79
Perfil Fitoquímico do Meio e obtenção do extrato bruto.....	80
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), padrões e amostras	80
TRATAMENTO ESTATÍSTICO	81
RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
<i>Germinação</i>	82
<i>Comprimento da parte aérea</i>	86
<i>Comprimento primário da raiz</i>	89
<i>Análises fitoquímicas</i>	93
CONCLUSÃO	95
AGRADECIMENTOS	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
APÊNDICES	100

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil, com condições favoráveis de realização de plantio de lavouras e o clima adequado a essa atividade, tem suprido as necessidades internas e externas de produtos da dieta humana e animal (BAZOTTI, 2016). No entanto, a utilização de amplas áreas de cultivo trazem problemas fitossanitários que precisam ser contornados. A exemplo disto, tem-se a utilização de herbicidas, que mesmo havendo legislação que regulamente o seu uso, é comum a ocorrência de contaminação ao homem do campo, ao consumidor desses produtos e ainda a contaminação ambiental em decorrência do seu uso incorreto.

Para o controle de plantas daninhas é conhecido que além da utilização de herbicidas, práticas preventivas, culturais, mecânicas, físicas e o controle biológico podem ser usadas como estratégias de manejo disponíveis. No que diz respeito ao manejo de plantas daninhas e ao controle biológico, a utilização da alelopatia constitui uma alternativa ao controle químico (SILVA; SILVA, 2007).

O termo alelopatia foi criado pelo pesquisador alemão Hans Molisch em 1937, pela junção de duas palavras gregas, allelon (de um para outro) e pathós (sofrer) (VAILATTI et al., 2014). A alelopatia refere-se à interação de compostos químicos de uma espécie com a outra, podendo causar tanto efeitos que estimulam a germinação e o crescimento de plantas como, também, que inibem esses fatores. Também pode ser definida como a capacidade das plantas inibirem ou beneficiarem, de forma direta ou indireta, outra planta, via produção de compostos químicos que são liberados no ambiente (CREMONEZ et al., 2013; FERRAZ et al., 2014).

Tais compostos são oriundos do metabolismo secundário e são liberados no ambiente via exsudados radiculares no solo, lixiviados da parte aérea das plantas, decomposição de resíduos vegetais ou por substâncias voláteis no ar, tendo como exemplos dos principais grupos de aleloquímicos os fenóis, terpenos, alcaloides, poliacetilenos, ácidos graxos e peptídeos (SOUZA FILHO, 2006a). A tolerância ou resistência a estes compostos pode ser específica, havendo espécies mais sensíveis que outras, como por exemplo, a alface (*Lactuca sativa* L.) e o tomate (*Solanum lycopersicum* L.), que são usadas em bioensaios de alelopatia como espécies bioindicadoras (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Sendo reconhecida como um processo ecológico importante em ecossistemas naturais e manejados, a alelopatia influencia a sucessão vegetal primária e secundária, a estrutura, composição e dinâmica de comunidades vegetais nativas ou cultivadas (ALBUQUERQUE et al., 2011). Neste último caso, os aleloquímicos são vistos como alternativas a agroquímicos sintéticos, objetivando o manejo sustentável e ecológico na produção agrícola. Muitas

substâncias alelopáticas apresentam grande potencial para uso no controle biológico de plantas daninhas, sendo parcial ou totalmente solúveis em água e ativas em baixas concentrações e, em contrapartida ao poder fitotóxico, os efeitos de promoção da germinação e do crescimento vegetal causados por aleloquímicos também são de interesse para o manejo agrícola (VYVYAN, 2002).

O conhecimento das propriedades alelopáticas, em especial das plantas daninhas, permite o entendimento dos mecanismos de interferência que essas plantas exercem sobre aquelas de interesse agrônômico e econômico, indicando, ainda, a importância do desenvolvimento de estratégia eficiente e constante para controlar as espécies de plantas daninhas com tais características (SOUZA FILHO, 2006b). Dentro deste contexto, a alelopatia pode ser uma alternativa para o manejo de diversas espécies de plantas invasoras e pragas agrícola. Algumas substâncias químicas naturais têm servido como modelo para obtenção de novos herbicidas e, além disso, substâncias químicas com atividade alelopática comprovada podem ser concentradas e ter seu efeito alelopático potencializado em laboratório (SOUZA FILHO; PEREIRA; BAYMA, 2006).

A liberação de aleloquímicos pode ser aumentada ou reduzida pela idade da planta, tipo de órgão vegetal, cultivar e diversos fatores ambientais. Nesse sentido, é importante a escolha de uma metodologia adequada para a identificação de plantas alelopáticas e/ou dos aleloquímicos liberados (ALBUQUERQUE et al., 2011). Fujii et al. (2003) desenvolveram um método para identificação de atividade alelopática, denominado método sanduíche. Esse método consiste em adicionar matéria seca da planta em estudo entre duas camadas de agar, e apresenta rapidez e baixo custo, tornando-se um método alternativo para prospecção em larga escala de genótipos com potencial alelopático (FUJII et al., 2003; ALBUQUERQUE et al. 2011).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial alelopático e identificar os polifenóis de *Alternanthera tenella* (apaga-fogo), *Paspalum maritimum* (capim gengibre), *Priva bahiensis* (pega-pega), *Richardia grandiflora* (poaia), *Scoparia dulcis* (vassourinha) e *Solanum paniculatum* (jurubeba) na germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* (alface), *Emilia fosbergii* (falsa-serralha), *Portulaca oleracea* (beldroega) e *Digitaria insularis* (capim amargoso), por meio de bioensaios laboratoriais, utilizando o método sanduíche.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas daninhas

Planta daninha é qualquer planta que cresça espontaneamente em um local de atividade humana e cause prejuízos (CARVALHO, 2013). Estas plantas constituem-se em um problema sério para a agricultura, pois desenvolvem-se em condições semelhantes às das plantas cultivadas. Se as condições edafoclimáticas são propícias à lavoura, são também para as espécies daninhas. Todavia, se as condições ambientais são antagônicas às espécies cultivadas, as daninhas, por apresentarem elevado grau de adaptação, podem aí sobreviver e perpetuar com maior facilidade. Elas podem germinar, crescer, desenvolver e reproduzir em condições ambientais pouco favoráveis, como em condições de estresse hídrico, umidade excessiva, temperaturas pouco propícias, fertilidade desfavorável, elevada salinidade, acidez ou alcalinidade (EMBRAPA - Milho e Sorgo, 2006).

As interferências das plantas daninhas nas culturas agrícolas podem ocorrer por competição por recursos necessários ao seu crescimento, como água, luz e nutrientes, e também pela alelopatia (PITELLI, 2014). As plantas cultivadas passaram por vários processos de melhoramento, visando quase sempre à maior produtividade, dessa forma, acabam sofrendo mais com os efeitos da competição.

Além das influências já relatadas, as plantas daninhas podem ainda serem parasitas de espécies de importância agrônômica, assim como hospedeiras alternativas de organismos prejudiciais as espécies cultivadas. Podem também prejudicar algumas práticas culturais, tais como a colheita da cultura, dificultando a operação das máquinas, reduzindo a eficiência da colheita e elevando as perdas. Estas perdas reduzem a produção agrícola em 30 a 40%, em média, dependendo da espécie infestante, do tipo de cultivar e a amplitude de interferência sofrida pela cultura (VOLL et al., 2002).

Devido a esses aspectos citados, as plantas daninhas são consideradas um dos grandes problemas na agricultura, sendo indicadas como responsáveis por significativos prejuízos nas grandes culturas (GAZZIERO; VOLL; ADEGAS, 2011).

2.2 Métodos de controle das plantas daninhas

A escolha do método de controle das diversas espécies de plantas daninhas presentes na área de interesse deve levar em conta as condições locais de mão-de-obra e de equipamentos, sem se esquecer dos aspectos ambientais e econômicos. Os métodos de controle abrangem

desde o arranquio das plantas manualmente até o uso de sofisticados equipamentos de micro-ondas para exterminar as sementes no solo (AGOSTINETTO et al., 2008). A redução da interferência das plantas daninhas, considerando uma cultura econômica, deve ser feita até um nível no qual as perdas pela interferência sejam iguais ao incremento no custo do controle, ou seja, que não interfiram na produção econômica da cultura.

As possibilidades de controle de plantas daninhas incluem os métodos preventivos, culturais, mecânicos, biológicos e químicos (BALBINOT; FLECK, 2005). No entanto, para sustentabilidade dos sistemas agrícolas, é importante a integração das medidas de controle observando-se as características do solo, do clima e aspectos socioeconômicos do produtor.

A realização da integração compatível, ambiental e economicamente, demanda profundo conhecimento das estratégias disponíveis, promovendo equilíbrio com as medidas de manejo do solo e da água, além do controle de pragas e doenças. Para adoção de qualquer medida de controle, o meio no qual as plantas daninhas se encontram, deve ser tratado como um ecossistema capaz de responder a qualquer mudança imposta, dessa forma, não se limitando à aplicação de herbicidas ou uso de qualquer outro método isoladamente (BORGES NETO; GORGATI; PITELLI, 2005).

A aplicação de produtos químicos naturais ou sintéticos como agrotóxicos é uma técnica utilizada desde os tempos remotos da prática da agricultura. Existem registros do uso de enxofre no controle de pragas em 1000 a.C., do uso de resíduos da extração e do refinamento do azeite de oliva para o controle de plantas daninhas em 470 a.C., e de que os romanos aplicavam sal de cozinha nos campos agrícolas de seus inimigos como forma de punição, pois assim nenhum tipo de planta cresceria. Em 1865, surgiu na França a calda bordalesa (sulfato de cobre, NaCl e água), sendo extensivamente utilizada até os dias de hoje pelos agricultores no controle de doenças vegetais. O primeiro composto orgânico destinado ao controle de plantas daninhas foi introduzido em 1932, o 2-metil-4,6-dinitrofenol. No entanto, o uso extensivo de herbicidas sintéticos orgânicos iniciou-se efetivamente durante a década de 40 quando foi descoberta a atividade herbicida do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Este composto e seus análogos foram os mais utilizados e dominaram o mercado até o final dos anos 60 do século XX (GIANESSI, 2013).

As primeiras observações de resistência em plantas daninhas foram realizadas no final da década de 50, em uma forma selvagem de cenoura (*Daucus carota* L.), não sendo mais controlada pelo 2,4-D. Em 1964, observou-se que exemplares de *Senecio vulgaris* L., *Chenopodium album* L. e *Amaranthus retroflexus* L. não eram mais controladas por triazinas, mesmo ao se usar doses elevadas, após 7 ou 8 anos de boa eficiência, nas mesmas áreas. O fato

alertou especialistas, sendo estabelecido o conceito de resistência, fenômeno que também passou a ser observado em outras plantas, com outros tipos de produtos (ANNETT; HABIBI; HONTELA, 2014).

Os aspectos acima destacados vêm impulsionando a pesquisa de tecnologias alternativas para o controle de plantas daninhas baseadas em produtos naturais. Métodos alternativos de manejo de plantas daninhas são geralmente utilizados em conjunto com os herbicidas sintéticos para que, de uma forma sustentável, estas plantas sejam controladas na agricultura. Dentre os métodos alternativos destacam-se métodos supressivos da infestação, tais como culturas que apresentam alta habilidade competitiva, rotação de culturas, culturas intercalares, culturas de cobertura, cobertura vegetal morta, entre outras (SOUZA FILHO, 2008).

A busca de produtos naturais para o manejo de plantas daninhas tem grande potencial para o desenvolvimento da agricultura sustentável, e principalmente para a implementação de novas estratégias de controle. As pesquisas com produtos naturais podem resultar na descoberta de novos produtos químicos para aplicação direta como agentes de controle ou para a sua utilização indireta como aleloquímicos (DUKE, 2015).

É conhecido que existem plantas daninhas que podem suprimir o desenvolvimento de plantas cultivadas no campo, bem como existem plantas cultivadas que apresentam efeito alelopático negativo sobre daninhas (VIECELLI; CRUZ- SILVA, 2009; SILVA et al., 2015). Essa prática poderia ser uma alternativa para o manejo de plantas daninhas na agricultura sustentável, implementando uma nova estratégia de controle (DUKE, 2015), sendo ela mais específica e menos nociva ao meio ambiente.

2.3 Alelopatia no manejo de plantas daninhas

A necessidade da preservação do ecossistema e a própria tendência do homem de voltar a ser parte integrante do meio ambiente e não de ter os recursos naturais em seu poder, gera a discussão sobre formas menos agressivas da utilização dos recursos naturais (AYRES, 2008). E sob esta ótica, a alelopatia tem sido considerada como uma ferramenta importante para o cultivo de plantas.

No México, por exemplo, restos de plantas de cultivos florestais (*Alnus firmifolia* e *Betula erecta*) e de plantas que vegetavam em valões de drenagem como *Juncus* sp., foram incorporados ao solo para aumentar a quantidade de matéria orgânica. Isto resultou em inibição aleloquímica ao milho e ao feijão, além do efeito contra as invasoras *Chenopodium murale*, *Tradescantia crassifolia*, *Melilotus indicus* e *Amaranthus hybridus* (ANAYA et al., 1987). Foi

verificado na Espanha que restos de *Quercus robur* L., *Pinus radiata* D. Don, *Eucalyptus globulus* Labill e *Acacia melanoxylon* R.Br. geravam inibição de crescimento e desenvolvimento de alface (SOUTO; GONZALEZ; REIGOSA, 1994).

Resultados semelhantes foram encontrados na África do Sul, quando foram usados restos de *Pinus patula*, *Eucalyptus grandis* e *Acacia mearnsii*, neste caso contra a instalação de uma série de invasoras como *Conyza sumatrensis*, *Trifolium* spp. e *Echinochloa utilis* (SCHUMANN; LITTLE; ECCLES, 1995). Foi verificado também que extratos aquosos obtidos durante o inverno da Pteridofita *Gleichenia pectinata*, muito comum na borda de mata no sul do Brasil, retardaram a germinação de *Clidemia hirta*, embora em extratos obtidos no verão ou outono pudessem aumentar a germinabilidade final (PERES et al., 1998). Outrossim, a incorporação de folhas e raízes, em decomposição, de *Piper* sp. e *Olyra micrantha* (taquara) ao solo, inibiu o crescimento de plântulas de alface, mostrando claramente que a serrapilheira pode ter efeito alelopático (BRASS, 2009).

Na **Tabela** (1) constam exemplos de espécies de plantas daninhas que apresentam efeito alelopáticos.

Tabela 1 - Espécies de plantas daninhas com potencial alelopático (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

PLANTA DANINHA DOADORA	PLANTA RECEPTORA	EFEITO CAUSADO
<i>Amaranthus palmeri</i> (caruru)	<i>Allium cepa</i> (cebola), <i>Daucus carota</i> (cenoura)	Resíduo da planta reduz o peso fresco e o crescimento das plântulas
<i>Eupatorium odoratum</i> (cambará, mata-pasto)	<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-caupi)	Resíduos de caule, folha e raízes retardam a germinação e reduzem a área foliar e a produção de matéria seca
<i>Parthenium hysterophorus</i> (losna-branca)	<i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão-comum), <i>Vigna sinensis</i> (feijão-caupi)	Folhas secas misturadas com o solo reduzem o crescimento e a nodulação da planta
<i>Datura stramonium</i> (trombeteira)	<i>Hordeum vulgare</i> (cevada), <i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Alcaloide que lixivia das sementes retarda o crescimento das plântulas
<i>Lantana camara</i> (cambará)	<i>Glycine max</i> (soja), <i>Zea mays</i> (milho)	Resíduo da parte aérea afeta o crescimento da parte aérea e das raízes das plantas teste
<i>Agropyron repens</i> (trigo silvestre)	<i>Avena sativa</i> (aveia), <i>Zea mays</i> (milho), <i>Glycine max</i> (soja), <i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão-comum)	Extrato aquoso de rizomas ou da parte aérea retarda a germinação e reduz o crescimento da raiz
<i>Cyperus esculentus</i> (tiriricão)	<i>Glycine max</i> (soja), <i>Zea mays</i> (milho)	Resíduo das plantas e estrato reduzem o peso seco das plantas teste

<i>Setaria glauca</i> (capim-rabode-raposa)	<i>Glycine max</i> (soja), <i>Zea mays</i> (milho)	Resíduo da planta reduz a altura, o crescimento e o peso fresco da parte aérea das plantas testes
---	--	---

De acordo com os exemplos citados pode-se observar que a alelopatia pode causar efeitos negativos sobre plantas e isso pode ser empregado no manejo de plantas daninhas. Souza Filho (2014) considera a alelopatia uma alternativa viável no manejo de plantas daninhas, devido a seu excelente potencial de interação e importância ecológica, assim como a possibilidade de fornecer novas estruturas químicas para produção de bioativos que combatam as pragas e sejam menos danosos ao ambiente.

2.4 Conceitos e aspectos históricos da Alelopatia

Registros da capacidade de influência de algumas espécies vegetais na fisiologia de outras espécies foram realizados por Demócrito em 500 a.C., Teofrasto em 300 a.C., Plínio em 1 d.C., Culpeper, em 1633, Browne em 1658, Young em 1804, De Candolle em 1832, Beobachter em 1845 e Stickney e Hoy em 1881, demonstrando que a observação desta influência não é recente (DIAS; SOUZA FILHO, 2005).

O termo alelopatia foi criado pelo pesquisador alemão Hans Molisch em 1937 e segundo ele, “alelopatia é a capacidade de as plantas superiores ou inferiores produzirem substâncias químicas que liberadas no ambiente de outras, influenciam de forma favorável ou desfavorável ao seu desenvolvimento”. Whittaker; Feeny (1971) afirmaram que os efeitos alelopáticos de uma planta são aceitos desde que sejam comprovados, que um inibidor químico efetivo esteja sendo produzido e ocorra numa concentração potencialmente efetiva no solo e a inibição não seja por luz, água e nutrientes nem por uma atividade animal. Os compostos alelopáticos liberados por uma planta poderão afetar o crescimento, prejudicar o desenvolvimento normal e até mesmo inibir a germinação das sementes de outras espécies vegetais (TAVEIRA; SILVA; LOIOLA, 2013).

Rice (1984) definiu alelopatia como, “qualquer efeito direto ou indireto danoso ou benéfico que uma planta (incluindo microrganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente”. O conceito de alelopatia mais respeitado e aceito, é o determinado pela Sociedade Internacional de Alelopatia (IAS, 2011), que diz que a alelopatia pode ser compreendida por meio de estudos que mencionem quaisquer processos envolvidos com o metabolismo secundário, sendo estes aleloquímicos produzidos pelas plantas,

algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento e o desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos, incluindo efeitos positivos e negativos” (GOMES et al., 2013).

2.5 Biossíntese de aleloquímicos e função alelopática

Todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar compostos alelopáticos, embora as cultivadas e suas variedades comerciais tenham perdido muito essa capacidade. Essa característica era mais comum nos precursores silvestres das atuais plantas cultivadas, que se adaptaram para competir com outras plantas, garantindo não só a formação de estandes puros, como também a defesa contra insetos (MALHEIROS et al., 2014).

As substâncias químicas liberadas pelos organismos no ambiente e que promovem efeitos deletérios ou benéficos sobre outros organismos (plantas e microrganismos) são denominadas de substâncias alelopáticas, aleloquímicos ou simplesmente produtos secundários (ARANITI et al., 2012). O composto liberado também pode ser chamado de fitotoxina, caso ocasione apenas efeitos prejudiciais.

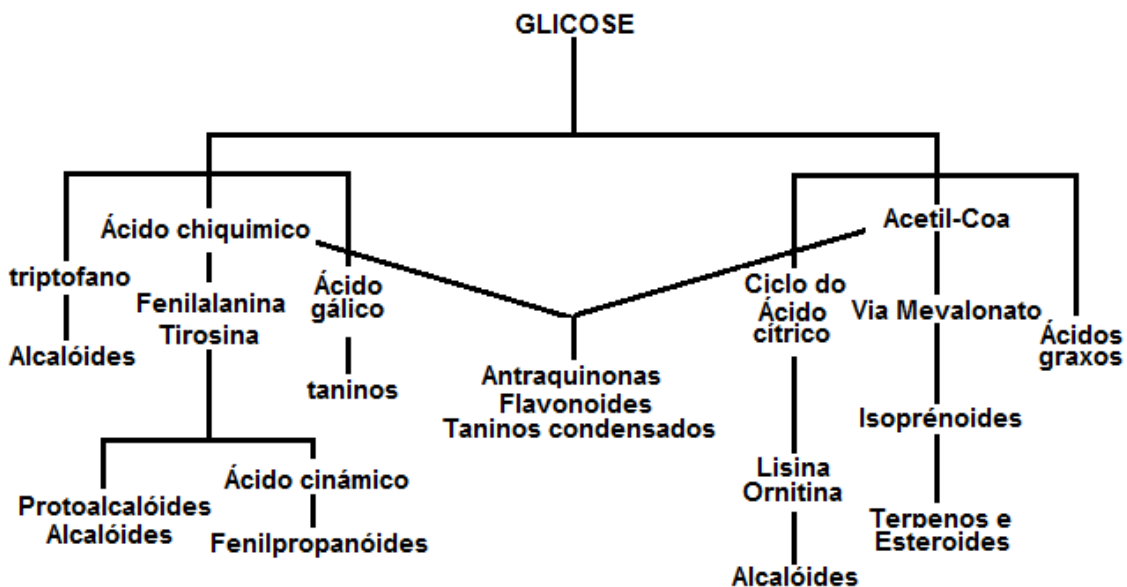
Os metabólitos secundários são sintetizados pela planta como um mecanismo de defesa quando sofre algum tipo de estresse. Os aleloquímicos são resultantes do metabolismo secundário e responsáveis por produzir os efeitos alelopáticos sobre o metabolismo de espécies receptoras (TAIZ; ZEIGER, 2013). Eles 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 (REIGOSA et al., 2013). Essas estruturas estão geralmente localizadas em áreas onde poderiam, provavelmente, ser efetivas na defesa dos vários órgãos das plantas (SIMÕES et al., 2017).

A produção de aleloquímicos pode variar em qualidade e quantidade de espécie para espécie, na quantidade do metabólito de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles têm suas sínteses desencadeadas por eventuais vicissitudes a que as plantas estão expostas (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Vários autores mostram através de experimentos que todas as partes das plantas podem conter compostos secundários com potencial alelopático. Através de bioensaios estes compostos foram encontrados nas folhas, caules aéreos, rizomas, raízes, flores, frutos, sementes de diversas espécies, mas as folhas e as raízes são as fontes mais importantes de aleloquímicos (KROYMANN, 2011).

Vários tipos de compostos orgânicos (**Figura 1**) foram identificados como aleloquímicos produzidos por plantas superiores ou microrganismos, sendo eles: terpenos,

esteroides, ácidos orgânicos solúveis em água, aldeídos alifáticos, cetonas, ácidos graxos de cadeia longa, poliacetilenos, naftoquinonas, antraquinonas, quinonas complexas, que provêm da rota metabólica do acetato mevalonato. Já os fenóis simples, ácidos benzoicos e derivados, ácidos cinâmicos e derivados, cumarinas, aminoácidos, e polipeptídeos sulfetos e glicosídeos, alcaloides, cianidrina, flavonoides, purinas e nucleosídeos, derivados de quinonas e taninos hidrolizáveis e condensados provêm da rota metabólica do ácido chiquímico (REZENDE et al., 2003).

Figura 1. Vias dos metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides. (Adaptado de Santos, 2004).



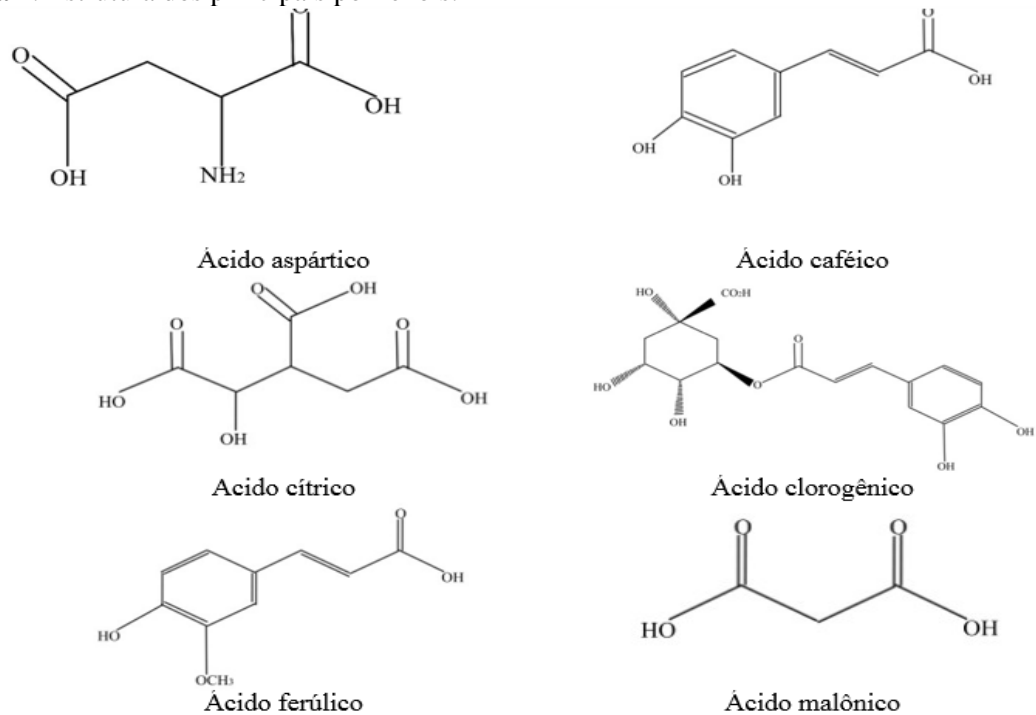
2.5.1 Compostos fenólicos

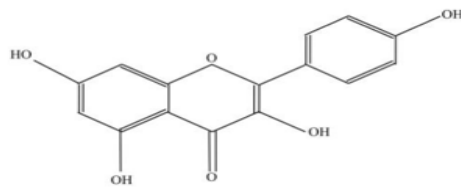
Os compostos fenólicos são uma classe de compostos químicos que consistem em um grupo hidroxilo ligado diretamente a um grupo hidrocarboneto aromático. O mais simples é a classe de fenol, que também é chamado ácido carbólico. Os compostos fenólicos são classificados como fenóis simples ou polifenóis, com base no número de unidades de fenol na molécula. Estes compostos podem atuar como inibidores em vários processos de desenvolvimento. Em nível celular, influenciam o metabolismo de lipídios e o mecanismo bioquímico da respiração, inibindo o transporte de glicose e a síntese de celulose (ANGELO; JORGE, 2007).

Sabe-se que, o fenômeno da alelopatia está envolvido em várias interações bioquímicas entre as plantas. Estas interações das plantas com seu ambiente são em grande parte influenciadas pelos compostos fenólicos, os quais são os principais compostos alelopáticos que inibem a germinação de sementes, o crescimento de plantas e outros processos fisiológicos (FUJII; HIRADATE, 2007).

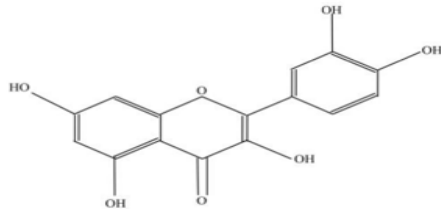
Polifenóis como taninos, flavonoides e ácidos fenólicos são os compostos com atividade alelopática mais encontrados em extratos de espécies vegetais (SEKOWSKI et al., 2014). Eles possuem em comum um anel aromático rodeado por um ou mais grupos hidroxila associados diretamente à estrutura cíclica (**Figura 2**).

Figura 2: Estrutura dos principais polifenóis.

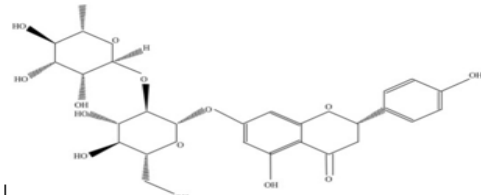




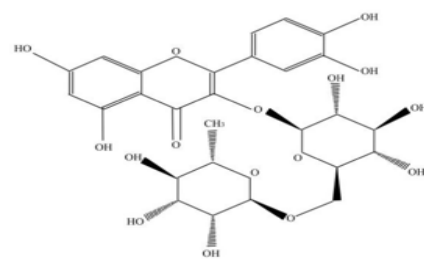
Kaempferol



Quercetina



Naringina



Rutina

Os taninos formam complexos irreversíveis com proteínas, podendo inibir processos enzimáticos. Estudos demonstram que estas substâncias interagem com sistemas biológicos como vírus e bactérias e participam de reações enzimáticas, além de ser um antioxidante, podendo estar relacionadas com o processo de inibição de germinação e crescimento de plantas (DANTAS et al., 2008).

Os flavonoides 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 (SIMÕES et al., 2004). Ainda, são compostos derivados do núcleo flavona, sendo que as várias classes se diferenciam entre si pelo grau de insaturação e de oxidação no segmento dos três carbonos intermediários.

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 e modulam os níveis das espécies reativas de oxigênio (PEER; MURPHY, 2007; FRANCO et al., 2016).

Ainda, são comumente extraídos de material vegetal com metanol, etanol ou combinação destes com água (WACH; PYRZYŃSKA; BIESAGA, 2007). Vários flavonoides encontrados, por exemplo, nas espécies de *Hypericum*, como quercetina, isoquercitrina, rutina, entre outros, são relatados pelo seu efeito sobre o crescimento de plantas (BUER; IMIN; DJORDJEVIC, 2010).

Já os ácidos fenólicos estão reunidos em dois grupos, a saber: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzoico. Os derivados do ácido

hidroxicinâmico são compostos fenólicos de ocorrência natural que possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por três carbonos ligada ao anel. Os ácidos p-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais comuns na natureza. Estes ácidos existem nas plantas, usualmente na forma de ésteres, a exemplo do ácido clorogênico, éster do ácido quínico, cuja molécula é constituída pelo ácido quínico esterificado ao ácido caféico (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

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 (BUBNA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Santos; Rezende (2008) relataram que alguns ácidos fenólicos inibem a condutividade hidráulica e a absorção de nutrientes pelo sistema radicular das plantas, inibindo o desenvolvimento. Em outro estudo, Rolim et al. (2013) relataram 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.

2.5.2 Terpenos

Entre a grande variedade de metabólitos secundários encontrados nas plantas, os fenólicos e terpenoides possuem a maior parte dos compostos com atividades alelopáticas identificados. Os terpenos estão entre as classes de produtos naturais de ampla ocorrência em plantas superiores (COLOMA et al., 2011). 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. (DEGENHARDT; KÖLLNER; GERSHENZON, 2009; HILL; CONNOLLY, 2011).

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 (EBRAHIMI et al., 2008; YANG et al., 2013). Abdelgaleil; 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, terpenos policíclicos, podem interagir com as membranas celulares e afetar o processo fotossintético, entre outros efeitos negativos (WEIR; PARK; VIVANCO, 2004). Dastan et al. (2014) relataram que as saponinas reduziram a taxa respiratória das sementes de algodão, devido a menor difusão do oxigênio através do tegumento, inibindo sua germinação.

2.5.3 Alcaloides

Os alcaloides 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. 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 (PERES, 2004).

De acordo com Rice (1984), vários alcaloides são relatados com função de defesa vegetal, contra herbívoros e patógenos (nicotina e estricnina, 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; NODARI, 2001; BLUM, 2004).

2.6 Liberação e mecanismos de ação dos aleloquímicos

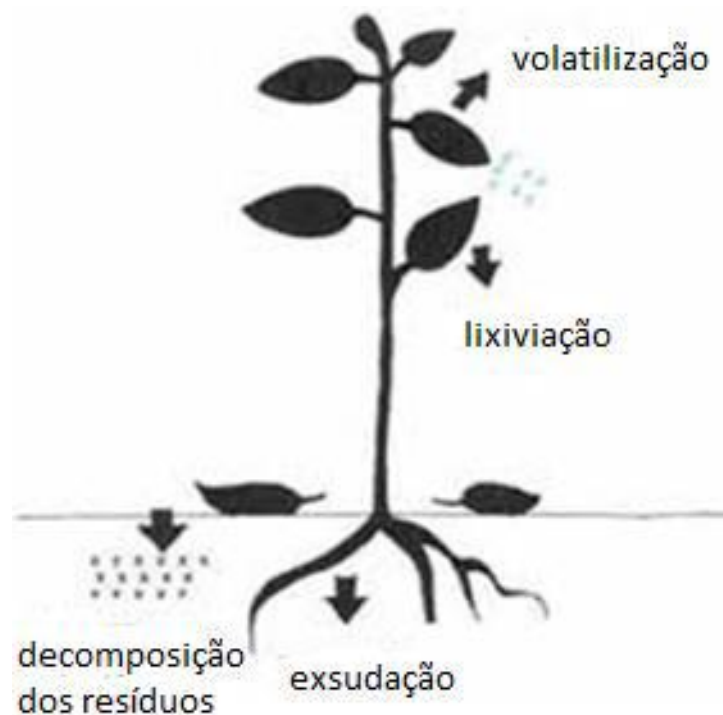
O efeito visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os estudos sobre o efeito de aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de efeitos ocorridos a nível molecular e celular inicialmente que pode ser visualizado em diversas fases da planta como, germinação, crescimento, desenvolvimento de plantas já estabelecidas e, ainda, no desenvolvimento de microrganismos (SARTOR et al., 2009).

A liberação dos aleloquímicos das plantas para o ambiente pode ocorrer por diversas maneiras (**Figura 3**), como por lixiviação através dos tecidos, por volatilização, por decomposição de resíduo vegetal ou mesmo por exsudação radicular.

No caso da volatilização, os compostos voláteis são dissipados das flores, folhas, caules e/ou raízes e então, podem ser absorvidos por outras plantas. Na lixiviação, aquelas substâncias que são solúveis em água, são lixiviadas pelo orvalho ou pela chuva, da parte aérea da planta,

das raízes ou, mesmo, dos resíduos vegetais que estão em processo de decomposição para o solo. Havendo a exsudação radicular os aleloquímicos são liberados na rizosfera, atuando nas interações entre plantas e na ação de microrganismos. E na liberação de compostos através da decomposição, ocorre a ação dos microrganismos, direta ou indiretamente (ALIZADEH, 2011; ZENG, 2014; JABRAN et al., 2015).

Figura 3: Vias de liberação dos agentes alelopáticos. (Fonte: SANCHEZ, 2002)



A

grande diversidade dos compostos que causam alelopatia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais de um rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (DA SILVA et al., 2012).

O modo de ação dos aleloquímicos pode ser dividido em ação direta e indireta. A ação direta ocorre quando o composto se liga às membranas da planta receptora ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo. Na ação indireta podem-se incluir alterações nas propriedades do solo, de suas condições nutricionais e das alterações de populações e/ou atividade dos microrganismos (BORELLA et al., 2012; MORAES et al., 2014).

Em resumo, alguns destes mecanismos envolvem: a síntese de aminoácidos, a síntese de pigmentos, as funções da membrana plasmática, a fotossíntese, a síntese de lipídeos e a síntese de ácidos nucleicos (PELLISSIER, 2013; CHENG; CHENG, 2015).

A atividade alelopática raramente é resultado da ação de uma única substância, sendo mais comum um conjunto de substâncias apresentando tal atividade. O entendimento das interações complica-se pelo fato de um mesmo composto influenciar várias funções biológicas e a mesma função poder ser influenciada por mais de um composto (MEINERS; KONG, 2012).

As cumarinas, por exemplo, podem influenciar a respiração, assim como os compostos fenólicos, aromáticos, aldeídos e flavonoides. Outros exemplos: o composto (E)-2-hexenal que inibe completamente a germinação das sementes de tomate; as quinonas, sorgoleona e juglona que influenciam a produção de ATP; monoterpenos como α -pineno, β -pineno e limoneno que inibem o ciclo de nitrogênio; e os ácidos ferúlico e p-cumárico que influenciam a germinação da canola pela redução da mobilização lipídica (GOULAS et al., 2014).

Devido a diversidade de naturezas químicas dos diferentes agentes alelopáticos, não existe um mecanismo de ação único que explique a maneira pela qual estas substâncias afetem a planta receptora. A compreensão do mecanismo de ação de um composto alelopático tem vários inconvenientes, destacando-se as interações sinérgicas e aditivas destas substâncias que dificultam a determinação da atuação de cada composto. A importância do estudo de como atuam estas substâncias é evidente se for considerado que são aproximadamente onze os sítios moleculares de ação conhecidos dos herbicidas sintéticos atualmente utilizados na agricultura. Como é logarítmico o ritmo de aparição de resistência aos produtos comerciais em uso, se deduz facilmente que a utilização de substâncias com novos sítios de ação diferentes dos já conhecidos permitiria reduzir o impacto deste problema (SAMPIETRO, 2006).

2.7 Identificação dos metabólitos secundários

As estratégias utilizadas na descoberta de aleloquímicos são análogas às utilizadas na busca por moléculas novas na indústria farmacêutica. Envolvem o 'screening' de extratos brutos e de compostos purificados para determinada atividade biológica. Estes testes iniciais devem ser rápidos, econômicos e relevantes para o sistema em questão (VYVYAN, 2002).

Atualmente, existem diversos métodos para a análise e identificação de metabólitos secundários conhecidos, a saber: cromatografia em camada delgada, cromatografia de fluido supercrítico, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia a gás capilar, eletroforese capilar, entre outras.

A análise de misturas complexas é usualmente feita por cromatografia em camada delgada, por comparação com os valores de fator de retenção de substâncias conhecidas em diferentes sistemas eluentes e pela sua reatividade frente a diferentes produtos cromogênicos. Esta técnica ainda permanece como um dos métodos preferidos para análise qualitativa de compostos conhecidos, pois não requer equipamentos sofisticados ou uma preparação laboriosa de amostra (MARIOTTI et al., 2014).

A cromatografia de fluído supercrítico é um outro método empregado, que utiliza colunas empacotadas ou colunas capilares (CHOI; YOO; KIM, 2002). E, tem um grande potencial de aplicabilidade em razão de sua grande resolução e alta estabilidade dos compostos sob as condições de uso.

Para análise quantitativa, sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector de UV-VIS é a técnica mais utilizada. Esta é uma técnica de separação fundamentada na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel, líquida, e a fase estacionária sólida, contida em uma coluna cilíndrica. As separações são alcançadas por partição, adsorção, troca iônica, exclusão por tamanho ou interações estereoquímicas, dependendo do tipo de fase estacionária utilizada (ANVISA, 2016).

A cromatografia a gás capilar também é bastante utilizada e uma importante característica da é o seu grande poder de detecção e separação dos compostos. A utilização desta técnica acoplada a espectrometria de massas permite a identificação dos compostos presentes em quantidades mínimas, mesmo em misturas complexas (PEDROSA, 2018).

A eletroforese capilar é uma técnica que vem sendo utilizada com relativo sucesso, pois apresenta grande sensibilidade associada à alta resolução. A eletroforese capilar é aplicável na determinação de uma grande variedade de amostras, incluindo vitaminas hidro-lipossolúveis, aminoácidos, íons inorgânicos, ácidos orgânicos, fármacos, catecolaminas, substâncias quirais, proteínas, peptídeos e muitos outros (GUTMAN et al., 2004). Uma característica que a difere das outras técnicas é a sua capacidade única para separar macromoléculas carregadas eletricamente de interesse tanto em indústrias de biotecnologia quanto em pesquisas biológicas. Outro aspecto importante é a possibilidade de acoplamento desta técnica a espectrometria de massas utilizando-se técnicas de ionização suaves como eletrospray, termospray e ionização a pressão atmosférica (MENDES; BENFATO, 2009).

2.8 Bioensaios utilizados na avaliação da atividade alelopática

Ao longo dos anos, pesquisadores vêm elaborando formas de comprovar a existência da alelopatia e dos compostos envolvidos neste processo. Os bioensaios laboratoriais são úteis para o estabelecimento do potencial alelopático de um composto ou extrato vegetal, mas devem ser seguidos em sua última instância, por estudos de campo para confirmação se as observações laboratoriais são reproduzidas no ecossistema (INDERJIT; CALLAWAY, 2003; INDERJIT, 2006).

Em laboratório, um dos procedimentos mais empregados em fase inicial de prospecção de atividade alelopática de determinada planta é o uso de extratos brutos. Essa prática é mais frequente em países onde as pesquisas estão em fase ainda bem inicial, com pouca ou nenhuma atividade voltada para o isolamento e a identificação de aleloquímicos, embora se deva reconhecer que, mesmo nos países onde as pesquisas estão mais avançadas, trabalhos com essas características são encontrados (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

Na forma mais simples destes ensaios, as sementes da espécie-teste selecionada são colocadas em papel filtro ou agar, em placas de Petri ou caixa gerbox ou em placas pequenas vazadas para cultura de tecidos, e são tratadas com a solução do eventual aleloquímico em concentrações variadas. A taxa e a percentagem de germinação, o tamanho das raízes, hipocótilos, massa fresca ou seca das plântulas, medidas da fronde, conteúdo de clorofila e antocianina são parâmetros que podem ser eventualmente avaliados em relação ao controle sem tratamento para avaliação dos efeitos dos aleloquímicos (VYVYAN, 2002).

O bioensaio mais largamente utilizado para identificação das substâncias alelopáticas é o da germinação de sementes (BERNARDES, 2010). Neste ensaio biológico a atividade é avaliada monitorando-se a germinação das amostras teste em relação ao controle sem tratamento. A germinação é menos sensível aos aleloquímicos que o crescimento da plântula. Porém, a quantificação experimental é muito mais simples, pois para cada semente, o fenômeno é discreto: germina ou não germina. Nesse contexto, substâncias alelopáticas também podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Assim, a avaliação da normalidade das plântulas é um instrumento valioso (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Usualmente, a espécie-teste mais utilizada para os bioensaios é a alfaca (*L. sativa*) devido à sua rápida germinação e alta sensibilidade quando comparada com outros organismos (MACÍAS; CASTELLANO; MOLINILLO, 2000) e por serem sementes pequenas e possuírem grande superfície de contato, o que faz com que sejam bastante sensíveis ao meio em que se

encontram, não requerendo nenhuma manipulação além do contato com o meio (CAVALCANTI, 2011).

Atualmente já se tem feito estudos com plantas daninhas (PEREIRA et al., 2018), como por exemplo, *Digitaria insularis* L. (capim amargoso) da família Poaceae, que são as daninhas que mais infestam as áreas dos canaviais e de reflorestamento, pois apresenta uma grande capacidade reprodutiva e suas sementes apresentam grande longevidade (DA COSTA et al., 2002); Ressalta-se ainda que as espécies alvo a serem estudadas, devem preferencialmente, ter germinação rápida, uniforme e com crescimento rápido (PINTO, 2015).

É importante ressaltar também que outros fatores devem ser observados nos bioensaios, tais como o substrato usado, a concentração dos substratos, o tamanho da semente alvo (PINTO, 2015), o potencial osmótico e o pH do extrato avaliado (DAYAN; CANTREL; DUKE, 2009).

Tradicionalmente, abordam-se os bioensaios de desenvolvimento ou crescimento de plantas separadamente daqueles de germinação de sementes, embora em muitos casos estudem-se tanto os efeitos sobre a germinação como sobre o desenvolvimento no mesmo bioensaio. Basicamente, os procedimentos, no segundo caso, envolvem a incubação de placas de Petri/Gerbox por um determinado período de tempo, ao final do qual contam-se as sementes germinadas e medem-se ou pesam-se as raízes e o hipocótilo (BERNARDES, 2010).

As substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, portanto, o crescimento das plântulas é muito mais sensível a esses compostos e a sua utilização para determinação do potencial alelopático dos aleloquímicos é muito importante. Muitos parâmetros são usados para avaliar o crescimento, sendo o comprimento e a massa seca de raiz e da parte aérea os mais utilizados (COELHO et al., 2011).

O uso de ensaios biológicos para avaliação da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas tem sido frequentemente incorporado a identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (CÂNDIDO, 2007). Há inúmeros fatores que influem para se estabelecer o fenômeno de alelopatia. Os ensaios que comprovem, ou pelo menos tentem comprovar, tais efeitos são bastante variáveis diante destas dificuldades. Souza Filho; Guilhon; Santos (2010), em ampla revisão sobre o assunto listaram vários procedimentos empregados em estudo de alelopatia, inclusive, o método sanduíche, proposto por Fujii et al. (2003) para avaliação de atividade alelopática, o qual vem sendo, em alguma medida, empregado em determinados estudos, sem maiores complicações.

2.9 Utilização do método sanduíche na Alelopatia

Diferentemente dos métodos de germinação em gerbox, em que é preciso preparar um extrato, o método sanduíche simula a lixiviação de substâncias para o solo. Este método, desenvolvido por Fujii et al. (2003), consiste em colocar as folhas da espécie teste entre duas camadas de agar que é utilizado por ser uma substância que permite melhor translocação dos compostos solúveis em água até a espécie-alvo, sendo uma importante ferramenta para identificar efeito alelopático das plantas em condições de laboratório. Nesta ocasião, estes autores avaliaram cerca de 239 plantas medicinais quanto à atividade alelopática em alface pelo método sanduíche. As folhas secas das plantas teste foram colocadas numa placa multidisciplinar entre duas camadas de agar. Sobre a segunda camada de agar de cada placa foram distribuídas as sementes de alface, que foi então incubada no escuro durante 3 dias a 25 ° C. Com base no efeito do lixiviado de folhas, 223 espécies inibiram a germinação das sementes de alface, enquanto 17 espécies foram promotoras do crescimento de radículas em alface.

Young; Bush (2009) testaram os efeitos de folhas de *Juniperus ashei* na germinação de *Bouteloua curtipendula* utilizando o "método sanduíche". A maior germinação de *B. curtipendula* (29,6%) ocorreu no controle, o que foi significativamente maior do que o tratamento com folhas frescas (13,2%) e folhas secas (16,2%).

Cândido et al. (2010), avaliaram o efeito alelopático das folhas de *Amaranthus viridis*, *Acanthospermum hispidum*, *Bidens pilosa*, *Conyza canadensis*, *Galinsoga parviflora*, *Parthenium hysterophorus*, *Commelina benghalensis*, *Euphorbia heterophylla*, *Leonurus sibiricus*, *Digitaria insularis*, *Eleusine indica* e *Nicandra physaloides* na germinação e crescimento de alface, pelo método sanduíche. Todas as espécies avaliadas, exceto *C. canadensis*, apresentaram efeito alelopático sobre alface, sendo os maiores efeitos verificados em *A. viridis* e *L. sibiricus*, as quais inibiram a porcentagem de germinação (> 40%) e o crescimento da raiz ($\geq 70\%$) e do hipocótilo (> 50%) de alface.

Gazziero; Adegas (2010), conduziram experimentos em laboratório com o objetivo de determinar os efeitos do ácido aconítico sobre as espécies de plantas daninhas amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*), picão-preto (*Bidens pilosa*) e guanxuma (*Sida rhombifolia*), provenientes de diferentes locais do Estado do Paraná. A germinação das sementes foi afetada pelos efeitos do ácido aconítico na maioria das repetições. Ocorreu também a redução do crescimento das plântulas, sendo mais afetadas as raízes do que o caule, nas quatro espécies. O ácido aconítico apresenta efeitos alelopáticos sobre as sementes

de diferentes espécies de plantas daninhas, estimulando o crescimento de diferentes fungos endofíticos. Os efeitos do ácido aconítico podem traduzir-se na redução do período de sobrevivência dos bancos de sementes no solo.

Leite (2015), avaliou o potencial alelopático de diferentes linhagens de arroz. Os tratamentos consistiram de 23 linhagens de arroz e três níveis de palhada (10 mg, 25 mg e 50 mg), utilizando-se o tratamento testemunha com ausência de palhada. Os maiores efeitos inibitórios foram verificados com 50 mg de palhada para todas as variáveis analisadas. Para a porcentagem de germinação, na dose de 50 mg, dentre as linhagens de arroz estudadas, cerca de 73,9% dessas inibiram a germinação das sementes de alface em maior intensidade, correspondendo à uma redução média de 73,3% em relação as demais linhagens. Enquanto, que a aplicação intermediária, referente a 25 mg de palhada não apresentou diferenças entre as linhagens. Contudo, na dosagem de 10 mg, aproximadamente 47,8% (11) das linhagens reduziram em maior magnitude a germinação (40,96%) da semente da espécie *L. sativa* em relação ao grupo de linhagens que causou menor influência sobre as sementes de alface.

Concluiu-se então, que o método sanduiche pode representar, pela rapidez e baixo custo, um método alternativo para prospecção em larga escala de genótipos com potencial alelopático.

2.10 Descrição das espécies utilizadas neste estudo

2.10.1 Espécies doadoras

Nos últimos anos vários trabalhos foram desenvolvidos para estudar espécies vegetais com potencial alelopático (NERY et al., 2013; PARENTE et al. 2015; FIORENZA et al., 2016; PEREIRA et al., 2018). Neste estudo, utilizou-se as plantas descritas abaixo por não haver, ainda, diagnóstico alelopático sobre elas e estas serem bastante comuns na região dos Tabuleiros Costeiros do estado de Alagoas infestando áreas de cultivo, pastagens e terrenos abandonados.

- *Alternanthera tenella* Colla é conhecida popularmente como "apaga-fogo" ou "perpétua do mato", pertencente à família Amaranthaceae (FERREIRA, 2004), não é endêmica do Brasil, mas ocorre em todas as regiões do país sendo também amplamente distribuída nas américas. Planta herbácea, invasora, encontradas em campos secos e úmidos, brejos, matas, áreas antrópicas e em regiões de Florestas Ombrófilas Mistas (MARCHIORETTO, 2008).
- *Paspalum maritimum* Trind. o capim-gengibre é uma gramínea, pertencente à família Poaceae, nativa e perene, rapidamente disseminada, considerado como uma das

principais espécies concorrentes em nutrientes e umidade, podendo atingir até um metro de altura. Em razão de seu hábito de crescimento rizomatoso e estolonífero e de sua grande capacidade de produção de sementes, essa planta é tida como de difícil erradicação (LORENZI, 1984). Ocupa o solo quase sempre com dominância completa, infestando principalmente lavouras, como cana-de-açúcar e lavouras anuais e, exerce forte concorrência com plantas cultivadas, interferindo no seu desenvolvimento.

- *Priva bahiensis* A.DC. espécie herbácea anual pertencente à família Verbenaceae que se desenvolve nas Regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste do Brasil, ocupando áreas com lavouras, áreas com olericultura e fruticultura, jardins e terrenos baldios, entre outros. Pode ser identificada em campo pelo caule quadrangular e pelos frutos verdes, inflados e pegajosos (LORENZI, 2008).
- *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltl.) Steud. é uma planta da família Rubiaceae, nativa, não-endêmica no Brasil. Ocorre em biomas de Caatinga, Mata Atlântica, Cerrado, Pampas, podendo chegar até ao Pantanal. É uma planta ruderal e sua forma de vida é erva, subarbusto e de substrato terrícola. Popularmente, é conhecida por ipecacurim, poaia, poaia-da-praia, poaia-rasteira, poaia-rósea ou asa-de-pato (MAIA-SILVA et al., 2012). É uma espécie anual que ocorre principalmente em áreas abertas com solos arenosos, formando tapetes sobre o solo. Diferencia-se das demais espécies do gênero pelo tamanho da flor, como revela o próprio epíteto específico. Propaga-se por meio de sementes (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011)
- *Scoparia dulcis* L. conhecida popularmente como vassourinha de botão, apresenta distribuição pantropical, ocorrendo em áreas abertas naturais ou como invasora de culturas. Pela quantidade de coletas desta espécie existentes nos herbários, pode ser inferido que é uma das espécies de Plantaginaceae mais comuns no mundo (SOUZA; HASSEMER, 2015).
- *Solanum paniculatum* L. é uma planta de sabor amargo, popularmente conhecida como jurubeba, comum em quase todo o Brasil. É um arbusto de caule espinhoso, folhas cordiformes e flores terminais dispostas em panículas, pertencente à família Solanaceae (LORENZI, 2008).

2.10.2 Espécies receptoras

Em trabalhos verificando alelopátia são comuns que espécies receptoras apresentem diferenças de sensibilidade quando submetidas ao extrato das espécies doadoras (ALMEIDA et al., 2008; MARINOV-SERAFIMOV, 2010; PEREIRA et al., 2018). As espécies receptoras citadas abaixo já foram alvo de investigação alelopática em trabalhos anteriores. No presente trabalho verificou-se as respostas dessas receptoras para as doadoras estudadas.

- *Digitaria insulares* (L.) Fedde - Este gênero compreende cerca de 300 espécies de plantas, pertencentes à Família Poaceae, distribuídas em diferentes regiões do mundo, tanto de clima tropical quanto subtropical (CANTO-DOROW, 2001). É conhecida por capim amargoso e frequentemente encontrado em pastagens, pomares e em áreas ruderais como beira de estradas e terrenos baldios (MACHADO et al., 2008).
- *Emilia fosbergii* Nicolson - Conhecida popularmente como falsa-serralha é uma planta considerada daninha, nativa da Ásia, Polinésia, África e América, infestando frequentemente lavouras anuais e perenes, e notadamente presente em quase todo território brasileiro. Por isso apresenta grande expressão econômica, uma vez que a presença de plantas indesejáveis em áreas de cultivo acarreta competição principalmente pela extração de nutrientes e água, podendo ainda exercer inibição química (alelopátia) sobre o desenvolvimento das plantas, proporcionando perdas de produção às culturas agrícolas no Brasil em torno de 20 a 30% (LORENZI, 2008).
- *Lactuca sativa* L.- A alface é uma hortaliça de grande importância econômica no Brasil, pertencente à Família Asteraceae. É uma das espécies mais amplamente utilizadas nos bioensaios, pois as cipselas (frutos) são pequenas, possuem grande área de superfície de contato, fazendo com que sejam bastante sensíveis ao meio que as rodeia, não requerendo nenhuma manipulação, além do contato com o meio (MALHEIROS; PERES, 2001).
- *Portulaca oleracea* L. é uma planta herbácea, suculenta, sem pelos, pertencente à família Portulacaceae e conhecida popularmente como beldroega. Esta planta se reproduz através de sementes, não ocorrendo enraizamento a partir dos ramos em contato com o solo. Ocorre em solos de quase todos os tipos. É uma invasora que ocorre em vários tipos de culturas e também pode ser utilizada para a alimentação de animais em pequena quantidade (ACEDO; REYES; RODRIGUEZ, 2012).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ACEDO, J. Z.; REYES, C. T.; RODRIGUEZ, E. B. Health-Promoting Lipids From Pursulane (*Portulaca oleracea* L.): Isolation, Characterization, Quantification and In Vivo Assay of Angiogenic Activity. **The Philippine Agricultural Scientist**, v. 95, n. 4 p. 327-334, 2012.
- AGOSTINETTO, D.; RIGOLI, R. P.; SCHAEGLER, C. E.; TIRONI, S. P.; SANTOS, L. S. Período crítico de competição de plantas daninhas com trigo. **Planta Daninha**, v.26, n. 2, p. 271-278, 2008.
- 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.
- ALIZADEH, O. Exploitation of allelopathy in agriculture. **Advances in Environmental Biology**, v. 5, n. 7, p. 1559-1562, 2011.
- 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.
- ANAYA, A.L. et al. Perspectives on allelopathy in Mexican tropical agroecosystems: A case study in Tlaxcala. **Journal of Chemical Ecology**, 13:2083-2101, 1987.
- ANGELO, P.M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz** (Impr.), São Paulo, v. 66, n. 1, 2007.
- 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.
- ANVISA, Agência nacional de vigilância sanitária. Farmacopeia brasileira. 5ª edição. **Primeiro Suplemento**. Brasília, DF. 2016.
- 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.
- AYRES, E. C. B. Inovações agroecológicas para a agricultura familiar: um estudo de caso sobre sistemas agroflorestais no Alto Jequitinhonha – MG. Dissertação (Mestrado emAdministração) – **Universidade Federal de Lavra**, Lavras, 107 p. 2008.
- BALBINOT JR., A. A.; FLECK, N. G. Competitividade de dois genótipos de milho (*Zea mays*) com plantas daninhas sob diferentes espaçamentos entre fileiras. **Planta Daninha**, v. 23, p. 415-421, 2005.

- BAZOTTI, A. Estratégias e racionalidades dos sojicultores familiares do sudoeste paranaense. Tese de Doutorado, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural, Porto Alegre, 2016.
- BERNARDES, R. S. A. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de açai (*Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart.) submetidas ao aumento de temperatura. **UNESP**, Botucatu-SP. Dissertação, 2010.
- 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.
- BORELLA, J. et al. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 415-420, 2012.
- BORGES NETO, C. R.; GORGATI, C. Q.; PITELLI, R. A. Influência do fotoperíodo e da temperatura na intensidade de doença causada por *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *E. najas*. **Planta daninha**, v. 23, n. 3, p. 449-456, 2005.
- BRASS, F.E.B. Análise de atividade alelopática de extrato aquoso de falsa murta sobre a germinação de picão-preto e caruru. **Enciclopedia Biosfera**. v. 8, p. 1-19, 2009.
- 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.; IMIN, N.; DJORDJEVIC, M.A. Flavonoids: news roles for old molecules. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 53, p. 98–111, 2010.
- CÂNDIDO, A.C.S. Potencial Alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Leguminosae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório e casa de vegetação. 99f. Dissertação - **UFGS**, Campo Grande. 2007.
- CÂNDIDO, A.C.S.; DIAS, A.C.R.; SERRA, A.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; SCALON, S.P.Q.; PEREIRA, M.T.L. Potencial alelopático de lixiviados das folhas de plantas invasoras pelo método sanduiche. **Revista brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 8, n. 3, p. 268-272. 2010.
- CANTO-DOROW, T. S. *Digitaria* Heister ex Haller. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M. (Ed.) *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo: **HUCITEC**. p. 143-150. 2001
- CARVALHO, L. B. Plantas Daninhas, Lages, **SC**, v. 1, 82 p. 2013.
- CAVALCANTI, N.B. Influência de diferentes substratos na emergência e crescimento e plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L.). **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v.8, n. 3, p. 51-70, 2011.

CHENG, F; CHENG, Z. Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-16, 2015.

CHOI, Y.H., YOO K.P. & KIM, J. Supercritical fluid extraction and liquid chromatography-electrospray mass analysis of vinblastine from *Catharanthus roseus*. **Chem Pharm Bull** 50: 1294-1296. 2002.

COELHO, M.F.B. et al. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.108-111, 2011.

COLOMA, A. G. et al. Triterpene-based plant defenses. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 245-260, 2011.

CREMONEZ, F.E. et al. Principais plantas com potencial alelopático encontradas nos sistemas agrícolas brasileiros. **Acta Iguazu**, v.2, p. 70-88, 2013.

DA COSTA, E. A. D. et al. Eficiência de nova formulação do herbicida oxyfluorfen no controle de plantas daninhas em área de *Pinus caribea* morelet var. *hondurensis* barr. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, p. 683-689, 2002.

DANTAS, B. F. et al. Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de catingueira (*Caesalpinea pyramidalis* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, 2008.

DA SILVA, J.E. N. et al. 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. et al. Phytotoxicity and cytotoxicity of disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 43–48, 2014.

DAYAN, F.E.; CANTREL, I.C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, n.12, p.4022-4034, 2009.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

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.

DIAS, A. P. C.; SOUZA FILHO, A. P. S. Atividade potencialmente alelopática em extratos hidroalcoólicos de *Cymbopogon* sp. (Poaceae). **Rev. Ciências Agrárias**, v. 44, n. 1, p. 37-48, 2005.

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

EBRAHIMI, S.N. et al. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. **Food Chemistry**. v.110, p. 927–931, 2008.

EMBRAPA (Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária): Cultivo do milho e Sorgo. 2006. Disponível em:<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/plantasdaninhas.htm> Acesso em: 15 set. 2017.

FERRAZ, A. P. F. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de eucalipto na germinação e no crescimento inicial da cebola e do tomateiro. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.19, 2014.

FERREIRA, A.G., AQUILA, M.E.A. Allelopathy: na emerging topic in ecophysiology. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 12, p. 175-204. 2000.

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

FIORINZA, M. et al. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis lana* Nees (capim-annoni). **Iheringia, Série Botânica**, v. 71, p. 193-200, 2016.

FRANCO, D.M. et al. Seasonal variation in allelopathic potential of the leaves of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p.157-165, 2016.

FUJII, Y. et al. O. Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. **Weed Biology and Management**, v. 3: p. 233-241. 2003.

FUJII Y; HIRADATE S. Allelopathy: new concepts & methodology. Enfield: **Science Publishers**, 382p. 2007

GAZZIERO, D.L.P.; ADEGAS, F.S. Ácido aconítico em sementes de espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 28 n. 1. p. 13 – 22. 2010.

GAZZIERO, D. P.; VOLL, E.; ADEGAS, F. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas: situação atual e manejo. **Boletim de pesquisa da soja**, 2011.

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

GOMES, F.M. et al. 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, n.1, p. 48-56. 2013b.

GOULAS, V. et al. Phytochemical content, antioxidants and cell wall metabolism of two loquat (*Eriobotrya japonica*) cultivars under different storage regimes. **Food Chemistry**, v. 155, p. 227–234, 2014.

- 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, p. 13-26. 2001.
- GUTMAN, A., KHANDURINA, J., BUDWORTH, P., WENYING, X., HOU, Y.M. & WANG, X. Analysis of combinatorial natural products by HPLC and CE. **PharmaGenomics**, p. 32-42. 2004.
- HILL, R. A.; CONNOLLY, J. D. Triterpenoids. **Natural Products Report**, v. 28, p. 1087-1117, 2011.
- IAS. International Allelopathy Society. Constitution and Bylaws. 2011. Disponível em: <<http://www.ias.uca.es/bylaws.htm#SECTION>> Acessado em 12 de set de 2018.
- INDERJIT; CALLAWAY, R. M. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant Soil**, v. 256, n. 1, p. 1-11, 2003.
- INDERJIT, Experimental complexities in evaluating the allelopathic activities in laboratory bioassays: A case study. **Soil Biology & Biochemistry**, v.38, n. 2, p. 256-262. 2006.
- JABRAN, K. et al. Allelopathy for weed control in agricultural systems. **Crop Protection**, v. 72, p. 57-65, 2015.
- KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, p. 246-251, 2011.
- LEITE, V.P.D. Potencial alelopático de linhagens de arroz (*Oriza sativa*) para a recuperação de pastagens degradadas. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Rondônia. 78 f. 2015.
- LORENZI, H. Considerações sobre plantas daninhas no plantio direto. In: TORRADO, V. P.; RAPHAEL, A. P. Plantio direto no Brasil. Campinas: **Fundação Cargil**, cap. 2, p. 13- 46, 1984.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Vol.01. Instituto plantarum de estudos da flora Ltda. 5. ed. **Nova Odessa** – SP, 2008.
- MACHADO, A.F.L. et al. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis* (L.) Fedde. **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.1-8, 2008.
- MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512-2521, 2000.
- MAIA-SILVA, C. et al. Guia de Plantas: VISITADAS POR ABELHAS NA CAATINGA. Fortaleza: **Fundação Brasil Cidadão**, p. 164-165, 2012.

- MALHEIROS, A. PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: **Argos**. p. 503-523. 2001
- MALHEIROS, R. S. P. et al. 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.
- MARCHIORETTO, M.S. et al. Biogeografia da família Amaranthaceae no Rio Grande do Sul. **Pesquisas Botânica**, n. 59, p. p. 171-190, 2008.
- MARINOV-SERAFIMOV, 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.
- MARIOTTI, K. C. et al. Chemical constituents and pharmacological profile of *Gunnera* & *manicata* L. extracts. **Braz. J. Pharm. Sci.** vol.50, n.1. ISSN 1984-8250. 2014.
- MEINERS, S.J; KONG, C-H. Introduction to the special issue on allelopathy. **Plant Ecology**, n. 213, p. 1857–1859, 2012.
- MENDES, M.F.A. BENFATO, M.S. Práticas de Laboratório de Bioquímica e Biofísica, **Guanabara Koogan**. 200p. 2009.
- MOLISCH, H. Der einfluss eine pflanze auf die andere: Allelopathie. **Jena, Fischer**, 106p. 1937.
- MORAES, L.P.S et al. Efeitos alelopáticos de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne sobre *Sesamum indicum* L. e sobre o crescimento de coleótilos de *Triticum aestivum* L. **IHERINGIA, Sér. Bot.**, Porto Alegre, v. 69, n. 1, p. 37-48, 2014.
- MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. MANUAL DE IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS INFESTANTES: HORTIFRÚTI. Campinas: **FMC Agricultural Products**, p 826. 2011.
- NERY, M.C. et al. Potencial alelopático de *Raphanus sativus* L. var. oleiferus. **Informativo abrates**, v.23, n. 1, p. 15-20, 2013.
- 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.
- PEDROSA, F.C. Cromatografia Gasosa aplicada em Estudos de Metabolômica. Monografias e dissertações. Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia. 41p. 2018.

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

PELLISSIER, F. Improved germination bioassays for allelopathy research. **Acta Physiologiae Plantarum**, n. 35, p. 23–30, 2013.

PEREIRA, J. C. et al. Potencial alelopático e identificação dos metabólitos secundários em extratos de *Canavalia ensiformis* L. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 65, n.3, p. 243-252. 2018.

PERES, M.T.L.P. et al. Potencial de atividade alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (Pr.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:131-137, 1998.

PERES, F. et al. É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**, 2004.

PINTO, G.F.S.; Fitotoxicidade e análise fitoquímica a partir de folhas de cinco espécies do Cerrado. 2015. 66p. Dissertação (Mestrado em Biociências), (AC: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica) Universidade Estadual Paulista, Assis, São Paulo, 2015.

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.

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**, p. 61-81. 2014.

REIGOSA, M et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 629-646, 2013.

REZENDE, C. P. et al. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens plantas forrageiras. Lavras: UFLA, p.18. **Boletim Agropecuário**. 2003

RICE, E.L. *Allelopathy*, second ed. **Academic Press**, Orlando. 1984.

ROLIM, T.L et al. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Byrsonima gardneriana* (Malpighiaceae). **Química Nova**, v.36, n. 4. P. 524-527, 2013.

SAMPIETRO, D.A. Alelopatía. Hipertextos del área de la biología, 2006. Página disponível na internet em: <http://fai.unne.edu.ar/biologia/plantas/alelopatia.htm>. Acesso em junho/2017.

SÁNCHEZ, D. C. Optimización de bioensayos alelopaticos: aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. 525 p. Tese (Doutorado em Ciências Químicas) - **Universidad de Cádiz**, Porto Real, 2002.

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**; p.403-434, 2004.

SANTOS, S., REZENDE, M.O.O. Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. **Revista Analytica**, v. 2: p. 32. 2008.

SARTOR, L.R. et al. Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. **Ciencia Rural**, v.39, n.6, p. 1653- 1659, 2009.

SCHUMANN, A.W.; LITTLE, K.M. & ECCLES, N.S. Supression of seed germination and early seedling growth by plantation harvest residues. South African. **Journal of Plant and Soil**, v. 12, p. 170-172, 1995.

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 humanserum albumin. Colloids and Surfaces. **Biointerfaces**, v. 123, p. 623-628, 2014.

SILVA, A.A.; SILVA, J.F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 367p. 2007.

SILVA, A.L.K. et al. Germinação e crescimento inicial de plântulas de *Euphorbia heterophylla* L. e *Glycine max* L. Merrill na presença de extratos foliares de *Salvia officinalis* L. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 8, n. 2, p. 291-301, 2015.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5º Edição ed. Editora UFRGS/Editora UFSC, 821p. 2004.

SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. 1. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.

SOUTO, X.C.; GONZALEZ, L. REIGOSA, M.J. Comparative analysis of allelopathic effects produced by four forestry species during decomposition process in their soils in Galicia (NW. Spain). **Journal of Chemical Ecology**, 20:3005-3015, 1994.

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

SOUZA FILHO, A. P. S. Methodological proposal for analysis of synergism potentializing effects among allelochemicals. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 607-610, 2006b.

SOUZA FILHO, A.P.S., PEREIRA, A.A.G., BAYMA, J.C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. **Planta Daninha**, v. 23, p. 25-32. 2006.

SOUZA FILHO, A. P. S. Ecologia química: a experiência brasileira. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2008.

SOUZA FILHO, A.P.S., GUILHON, G.M.S.P. e SANTOS, L.S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da Atividade alelopática em condições de laboratório – Revisão crítica, **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.

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

SOUZA, V.C., HASSEMER, G. Plantaginaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015.

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

TAVEIRA, L.K.P.D., SILVA, M.A.P. LOIOLA, M.I.B. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 325-331, July-Sept., 2013.

VAILATTI, G. et al. Efeito alelopático de extrato de eucalipto na germinação de sementes e mudas de alface. IN: **II Congresso de Pesquisa e Extensão da Faculdade da Serra Gaúcha (FSG)**. Anais... Caxias do Sul – RS, 2014.

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.

VOLL, E. et al. Competição relativa de espécies de plantas daninhas com dois cultivares de soja. **Planta Daninha**, v. 20, n. 1, p. 17-24, 2002.

VYVYAN, J. R. Allelochemicals as leads for news herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, v. 58, p. 1631-1646, 2002.

WACH, A.; PYRZYŃSKA, K.; BIESAGA, M. Quercetin content in some food and herbal samples. **Food Chemistry**, v.100, p. 699-704, 2007.

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

WHITTAKER, R. H.; FEENY, P. P. Allelochemicals: chemical interaction between species. **Science**, v. 171, n. 3973, p. 757-770, 1971.

YANG, X. et al. Manipulation of root hair development and sorgoleone production in sorghum seeding. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n.1, p.199-213, 2013.

YOUNG, G. P. BUSH, J. K. Assessment of the Allelopathic Potential of *Juniperus ashei* on Germination and Growth of *Bouteloua curtipendula*. **Journal Chemical Ecology**. v. 35, p. 74-80. 2009.

ZENG, R.S. Allelopathy - The Solution is Indirect. **Journal Chemical Ecology**, n. 40, p. 515-516, 2014.

Efeito alelopático de folhas de plantas daninhas pelo método sanduíche

RESUMO

A alelopatia é um importante mediador de interferências que alteram a dinâmica de espécies de plantas em sistemas agrícolas e florestais. Neste trabalho, procurou-se avaliar o potencial alelopático através do método sanduíche utilizando folhas das plantas daninhas *Alternanthera tenella*, *Paspalum maritimum*, *Priva bahiensis*, *Richardia grandiflora*, *Scoparia dulcis* e *Solanum paniculatum*, bem como determinar os compostos fenólicos presentes nas folhas dessas espécies. Para isso, bioensaios para avaliar a germinação de sementes e desenvolvimento da radícula e do hipocótilo de espécies receptoras (alface, falsa-serralha, beldroega e capim amargoso) foram desenvolvidos, em condições controladas de laboratório. Os testes foram realizados utilizando-se material seco em concentrações crescentes (0,01; 0,02; 0,04 e 0,08 g; e o controle negativo) das folhas dessas espécies doadoras. Conforme os resultados obtidos, diferenças na intensidade dos efeitos para os fatores espécie e concentrações foram verificadas. O padrão de atividade observado foi de *Scoparia dulcis* que apresentou as inibições mais intensas e, entre as espécies receptoras, as inibições de maior magnitude foram sofridas por *L. sativa*. Houve resposta efetiva, também, para a especificidade entre espécies e concentrações tanto para a germinação como para o desenvolvimento inicial das plântulas das espécies receptoras. Pode-se concluir que a alelopatia é um fenômeno complexo, que envolve a ação dos compostos secundários de plantas e por conta do seu efeito inibitório, as substâncias aleloquímicas produzidas por elas poderiam ser utilizadas como método alternativo para controlar as plantas daninhas, evitando os danos a natureza e a saúde humana.

Palavras Chaves: Alelopatia; controle de plantas; inibição.

Allelopathic effect of weed leaves by the sandwich method

ABSTRACT

Allelopathy is an important mediator of interferences that alter the dynamics of plant species in agricultural and forest systems. The objective of this work was to evaluate the allelopathic potential through the sandwich method using leaves of the weeds *Alternanthera tenella*, *Paspalum maritimum*, *Priva bahiensis*, *Richardia grandiflora*, *Scoparia dulcis* and *Solanum paniculatum*, as well as to determine the phenolic compounds present in the leaves of these species. For this, bioassays to evaluate the germination of seeds and development of the radicle and hypocotyl of recipient species (lettuce, false-loar, buckwheat and bitter grass) were developed under controlled laboratory conditions. The tests were performed using dry material at increasing concentrations (0.01, 0.02, 0.04 and 0.08 g, and negative control) of the leaves of these donor species. According to the results obtained, differences in the intensity of the effects for the species factors and concentrations were verified. The pattern of activity observed was of *Scoparia dulcis* that showed the most intense inhibitions and, among the recipient species, the inhibitions of greater magnitude were suffered by *L. sativa*. There was also an effective response to specificity between species and concentrations for both germination and initial seedling development of the host species. It can be concluded that allelopathy is a complex phenomenon, involving the action of secondary plant compounds and because of its inhibitory effect, the allelochemicals produced by them could be used as an alternative method to control weeds, avoiding damage nature and human health.

Key words: Allelopathy; plant control; inhibition.

INTRODUÇÃO

Planta daninha, segundo Lorenzi (2014), é qualquer planta que cresce onde não é desejada, interferindo direta e indiretamente nas culturas de interesse, causando reduções na produção em torno de 20 a 30%. Adicional a sua competição por recursos naturais (ar, espaço, água, nutrientes, luz), as plantas daninhas também podem liberar metabólitos secundários e promover influências alelopáticas inibitórias e estimulatórias em plantas cultivadas (HUSSAIN; REIGOSA; AL-DAKHEEL, 2015), desde a emergência até a maturidade (JALAGERI et al., 2010; TANVEER et al., 2010; MOHADESI et al., 2011; MUZAFFAR et al., 2012; ZOHAIB et al., 2014).

Alelopatia é qualquer processo pelo qual metabólitos secundários produzidos por plantas, microrganismos, vírus e fungos influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos, incluindo efeitos positivos e negativos (IAS, 2011). Na verdade, os metabólitos secundários são aleloquímicos liberados pelas plantas e afetam os processos de desenvolvimento das plantas em suas proximidades (ZHANG et al., 2015). As plantas têm um modo diversificado de liberação de aleloquímicos, como decomposição de resíduos, lixiviação de serapilheira e outras partes de plantas, volatilização e exsudação radicular (BORELLA; PASTORINI, 2009).

Os aleloquímicos se originam, em sua maioria, de acetato ou de aminoácidos da via bioquímica. Entretanto, há considerável diversidade química entre estes compostos, podendo ser ácidos fenólicos, cumarina, terpenoides, alcaloides, flavonoides, etileno e várias outras substâncias (OLIVEIRA et al., 2014). Segundo Anese et al. (2016), numerosos compostos alelopáticos produzidos por algumas plantas, como por exemplo, substâncias da classe dos compostos fenólicos, se mostram inibitórios para diversas plantas daninhas, e devem agir como eficientes herbicidas naturais.

A germinação das sementes, o crescimento das plantas e a produção de biomassa são afetadas pelos aleloquímicos através do rompimento de uma variedade de funções fisiológicas que ocorrem no vegetal (ZOHAIB et al., 2016). As funções da planta de importância primordial que são afetadas por aleloquímicos incluem fotossíntese, respiração, divisão celular, alongamento e aumento de células, atividades metabólicas, síntese de proteínas e aminoácidos e atividades enzimáticas (SHAO-LIN et al., 2004). Foi observado que um efeito alelopático diferencial é imposto por diferentes espécies de plantas em plantas receptoras (HAMAYUN et al., 2005). Da mesma forma, os aleloquímicos se comportam diferentemente em exercer influência alelopática nas plantas receptoras, dependendo de suas concentrações. Geralmente,

concentrações mais altas de aleloquímicos são inibitórias em sua ação enquanto, por outro lado, concentrações mais baixas estão associadas à estimulação da germinação e crescimento de plantas que entram em contato com elas (HOSSAIN; ALAM, 2010).

Muitas pesquisas têm sido realizadas para identificação de metabólitos alelopáticos ((YOUNG; BUSH, 2009; MAULI et al., 2009; GRISI et al., 2011; SILVA, 2012). Muitas substâncias fitotóxicas, assim como os derivados fenólicos, alcaloides e outros metabólitos secundários são extraídos e identificados a partir de plantas e/ou seus resíduos (LUZ et al., 2010; REZENDE et al., 2011). Os resultados de laboratório consistem no primeiro passo para a identificação do comportamento de plantas associado com aleloquímicos. Neste sentido, Fujii et al., (2003) desenvolveram uma técnica, que se diferencia das demais por ser rápida e de baixo custo, tornando-se um método alternativo para prospecção em larga escala de genótipos com potencial alelopático, denominado de método sanduíche (ALBUQUERQUE et al., 2011).

Os bioensaios consistem em monitorar a germinação de sementes e/ou o crescimento de plântulas de espécies vegetais, particularmente mais sensíveis, na presença de resíduos ou de extratos da planta em estudo. A inibição ou o estímulo da germinação, ou ainda do crescimento de plântulas, são evidências da atividade alelopática (DIÓGENES et al., 2014; OLIVEIRA, 2014; SOUTO et al., 2015). Nesse sentido, a alelopatia possui potencial no manejo integrado de plantas daninhas, pela capacidade que as plantas possuem de produzirem aleloquímicos que inibem o crescimento de outras plantas (SILVA; CAMARGO; ROCHA, 2013).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade alelopática e os polifenóis lixiviados de folhas de plantas daninhas, sobre a germinação e desenvolvimento inicial de alface, beldroega, falsa-serralha e capim amargoso, pelo método sanduíche, e realizar a prospecção fitoquímica das espécies doadoras.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia vegetal, do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), situado em Rio Largo - AL (latitude 9° 27' S, longitude de 35° 27' W e a 127 m de altitude). Como espécies doadoras foram utilizadas as folhas das plantas *A. tenella*, *P. maritimum*, *P. bahiensis*, *R. grandiflora*, *S. dulcis* e *S. paniculatum* para se avaliar a atividade alelopática sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de sementes de *L. sativa* (alface), considerada sensível aos testes de alelopatia (FERREIRA; AQUILA, 2000), e as espécies daninhas, *D. insularis* (Capim amargoso), *E. fosbergii* (Falsa-serralha) e *P. oleracea* (Beldroega). Estas plantas daninhas são

comumente encontradas em áreas de lavouras e pastagens da região da Zona da mata e tabuleiros costeiros do estado de Alagoas, e não apresentam ainda na literatura seu estudo alelopático.

Coleta de material

As plantas doadoras foram coletadas, em estágio reprodutivo, em áreas de infestação natural do Centro de Ciências Agrárias, no município de Rio Largo - AL e separadas posteriormente em parte aérea e parte radicular. Após a coleta, foi realizada uma lavagem do material com água corrente para retirada das impurezas e levada a estufa de circulação de ar forçada a 60 °C até atingir peso constante. Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos guardadas em refrigeração até o momento de sua utilização.

As sementes das espécies de daninhas consideradas como receptoras nesse estudo foram coletadas manualmente, também nas áreas de infestações no Centro de Ciências Agrárias e passaram por processo de limpeza e expurgo e foram acondicionadas em refrigeração. As sementes da bioindicadora *L. sativa* (Alface – cultivar “americana grande”), foram adquiridas comercialmente.

A assepsia das sementes consistiu em lavagem com detergente por dois minutos e em seguida, após o enxágue com água destilada foram colocadas no agitador na rotação cinco em 100 mL de hipoclorito de sódio a 1% por 15 minutos. Em seguida, as sementes foram lavadas com água esterilizadas e introduzidas no meio de cultivo para germinação in vitro.

Na ocasião das coletas das plantas foram preparadas exsiccatas e enviadas, depositadas e identificadas por pesquisadores do Herbário Mac do Instituto do Meio ambiente, conforme a

Tabela abaixo.

Tabela 2: Registros das plantas depositadas no Herbário Mac (VOUCHER).

Nº COLETOR	FAMÍLIA	ESPÉCIE	VOUCHER
EVRF 827	Solanaceae	<i>Solanum paniculatum</i> L.	64846
EVRF 828	Asteraceae	<i>Emilia forbergii</i> Nicolson	64847
EVRF 829	Poaceae	<i>Digitaria insularis</i> (L.) Fedde	64848
EVRF 830	Verbenaceae	<i>Priva bahiensis</i> A.DC.	64849
EVRF 831	Plantaginaceae	<i>Scoparia dulcis</i> L.	64850
EVRF 832	Rubiaceae	<i>Richardia grandiflora</i> (Cham. & Schltl.) Steud.	64851
EVRF 833	Amaranthaceae	<i>Alternanthera tenella</i> Colla	64852

Avaliação do efeito alelopático

Nos bioensaios de efeito alelopático, seguiu-se a metodologia utilizada por Fujii et al. (2004), através do meio de cultivo a base de agar, preparado com sete gramas de agar em 1 litro de água e submetidos à esterilização em autoclave a 121°C durante 30 minutos. Uma solução de 5 mL de agar (0,5%) foi depositada em placas multidisciplinares de seis poços, sendo que sobre a camada de agar adicionou-se a matéria seca das folhas das plantas doadoras nas concentrações de 0,01; 0,02; 0,04 e 0,08 gramas (g), e em seguida foi coberta com mais 5 mL de agar na parte superior da primeira camada. No tratamento controle, não houve adição de material vegetal no agar. Após 24 horas, foi semeado, aleatoriamente, 15 sementes das plantas receptoras desse estudo.

As placas foram vedadas hermeticamente com Parafilm®, etiquetadas e mantidas, sob condições de temperatura (25°C) constantes e luminosidade controlada (fotoperíodo de 12 horas), em sala de germinação, onde foram mantidas por períodos que variaram de acordo com a espécie, a saber: *L. sativa* e *E. fosbergii* (7 dias) e, *P. oleracea* e *D. insularis* (14 dias). Após estes períodos, a porcentagem de germinação e o crescimento das plântulas foram avaliados.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com as placas multipoços separadas em grupos experimentais e controles, contendo 15 sementes de cada planta em cada poço, com seis repetições para cada grupo experimental (tratados com as folhas das plantas doadoras) e controle negativo (sem material vegetal entre as camadas de agar).

Como critério para avaliação da germinação foi utilizada a protrusão e a curvatura geotrópica da radícula, conforme indicado por Labouriau (1983). A avaliação da germinação foi realizada conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), contabilizando-se como plântulas normais todas que apresentaram as estruturas essenciais do embrião desenvolvidas e com, no mínimo, 2 mm de comprimento de radícula.

O comprimento das plântulas foi avaliado em conjunto com o teste de germinação, no qual foi retirado seis plântulas consideradas normais e foi avaliado o comprimento da parte aérea (CPA) e o comprimento da raiz primária (CPR) por meio de régua milimetrada (FUJII et al., 2004). 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).

A avaliação da germinação das espécies foi realizada de acordo com o recomendado pela literatura para cada espécie. Os dados obtidos foram calculados segundo a porcentagem de germinação (G%), crescimento radicular e crescimento do hipocótilo. Os cálculos da porcentagem de germinação foram obtidos segundo a equação a seguir (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; OLIVEIRA et al., 2002).

$$G\% = 100 \times S_{ni}/N$$

Onde:

G% = Porcentagem de germinação

S_{ni} = Número de sementes germinadas no i-ésimo dia

N = Número total de sementes colocadas para germinar em cada placa

Perfil Fitoquímico e obtenção do extrato bruto

Após os bioensaios de pré-emergência, o meio nutritivo (agar) foi submetido a teste de prospecção fitoquímica de acordo com metodologias adaptadas de Costa (1982), Matos (1988), e Matos; Matos (1989). O meio nutritivo, ainda com o material vegetal entre as camadas, foi deixado em processo de maceração em metanol e a cada 48 horas, o solvente foi removido. Este processo foi repetido por três vezes e o material rotaevaporado e armazenado em vidros âmbar.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), padrões e amostras

Para verificar a existência de compostos fenólicos nas camadas de agar utilizada nos testes de germinação, foram selecionados alguns compostos padrões, adquiridos da Sigma-Aldrich e AcrosOrganics para compará-los com os compostos presentes nas amostras. Os padrões utilizados neste trabalho foram escolhidos com base na participação destes, em fenômenos alelopáticos descritos em literatura.

Os padrões utilizados para a análise cromatográfica dos compostos fenólicos foram o ácido gálico, catecol, ácido vanílico, ácido salicílico, vanilina, seringaldeído, ácido cumárico, ácido clorogênico, cumarina, rutina, quercetina, kaempferol e ácido cafeico. Todos os solventes utilizados para cromatografia foram de grau analítico; metanol (panreac), ácido fórmico (dinâmica) e água ultrapura obtida de um sistema Milli-Q.

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando-se da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O equipamento utilizado foi um CLAE Shimadzu, equipado com quatro bombas de alta pressão modelo LC-20AT, degaseificador modelo DGU-20A 5R, interface modelo CBM-20A, injetor automático modelo SIL-20A HT e detector modelo SPD-20A. A coluna cromatográfica empregada em ambas as análises foi uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, 5 μ m).

Para os padrões e as amostras, foram preparadas soluções-estoque com concentração de 40 mg L⁻¹ em água/álcool a 30/70%. O método utilizado para a quantificação foi o da padronização externa. Para a construção das curvas analíticas, foram realizadas diluições de uma solução intermediária, contendo uma mistura de todos os padrões, sendo que esta foi obtida por meio da diluição das soluções-estoque previamente preparadas. Nesta solução intermediária, todos os padrões e amostras encontravam-se na concentração de 10 mg L⁻¹. Foram utilizados como fase móvel para a eluição dos compostos analisados a solução de ácido fórmico a 1% em água Milli-Q (Solvente A) e metanol (Solvente B).

As amostras e os padrões foram eluídos de acordo com o gradiente (**Tabela 3**) totalizando uma corrida de 80 minutos. O comprimento de onda utilizado foi de 290 nm, numa temperatura de 33°C, fluxo de 0,6 ml min⁻¹ e volume de injeção de 20 μ L.

Tabela 3. Gradiente de eluições de amostras e padrões em uma corrida de 80 minutos.

TEMPO (s)	Concentração de B (%)
0.01	7
5.00	11
10.00	16
15.00	25
30.00	25
34.00	38
38.00	50
42.00	60
46.00	65
50.00	70
54.00	75
58.00	85
62.00	25
63.00	7
66.00	7
80.00	-

As amostras e os padrões foram filtrados em membrana de polietileno de 0,45 μ m (Milipore) e injetados diretamente no sistema cromatográfico. Cada injeção foi realizada três vezes no sistema CLAE, com a finalidade de se obter a média das concentrações e dos tempos

de retenção. Sendo assim, a identidade dos analitos foi confirmada pelo tempo de retenção, e o perfil dos picos da amostra, comparados aos dos padrões.

TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, realizados com auxílio do software SISVAR, de acordo com o proposto por Santana; Ranal (2004) e Pereira; Santana; Ranal (2009). Os valores da testemunha foram considerados 100% (Porcentagem relativa), sendo os resultados de cada tratamento calculados em relação a testemunha, utilizando a seguinte fórmula: $G (\%) = 100 * V / T_m$, Onde: G = Percentual de germinação em relação a testemunha (%); V = variável analisada (tratamentos e repetições); T_m = média da testemunha (%).

Para as variáveis CPA e CPR, as médias apresentadas referem-se aos dados originais, em cm. E, as médias apresentadas na análise fitoquímica também se referem aos dados originais. 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 decaimento exponencial, com dois parâmetros, representada pela equação: $f = a * \exp(-b * x)$, utilizando-se o programa Sigmaplot (STREIBIG, 1988). A CL₅₀ é a concentração do extrato que proporciona o valor de 50% de controle ou de redução de crescimento da espécie receptora (adaptado de CHRISTOFFOLETI, 2002; CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Germinação

No presente trabalho, todas as regressões para o parâmetro **Germinação** se ajustaram ao modelo Decaimento exponencial (**Tabela 4**), com destaque para as espécies *P. maritimum* e *S. dulcis* que apresentaram um comportamento com altos valores do coeficiente de determinação (R²) que foram maiores ou igual a 0,93% em todas as plantas receptoras.

As substâncias liberadas pelas folhas de *P. maritimum* e *S. dulcis* apresentaram efeitos inibitórios intensos sobre a germinação das sementes de todas as espécies receptoras (**Figura 4**). Corroborando com este estudo, Souza Filho (2014) relata que o extrato bruto das folhas de

Sclerolobium paniculatum Vog. apresentou uma forte atividade alelopática pois possibilitou inibição na ordem de 100% para a germinação de três diferentes espécies de plantas daninhas.

Ainda, Semelhante a esse estudo, Borella et al. (2009) ao analisarem os efeitos de extrato aquoso da parte aérea de *Persea americana* (Lauraceae) sobre sementes de *L. sativa* observaram inibição de grande magnitude da germinação das sementes dessa espécie. Resultados similares foram encontrados por Gatti; Perez; Lima (2004) quando utilizaram extratos de marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.), sendo observado redução na germinação de sementes de alface com o aumento da concentração dos extratos utilizados.

Observou-se ainda, de acordo com os resultados obtidos e a **Figura 4**, que a medida que se aumentava a concentração de folhas de *P. bahiensis* e *R. grandiflora* houve uma redução da germinação mais intensa de *L. sativa*, em detrimento das demais espécies. Constatou-se, portanto, 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.

Tabela 4: Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial para **germinação (G)** de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes da parte aérea das plantas doadoras.

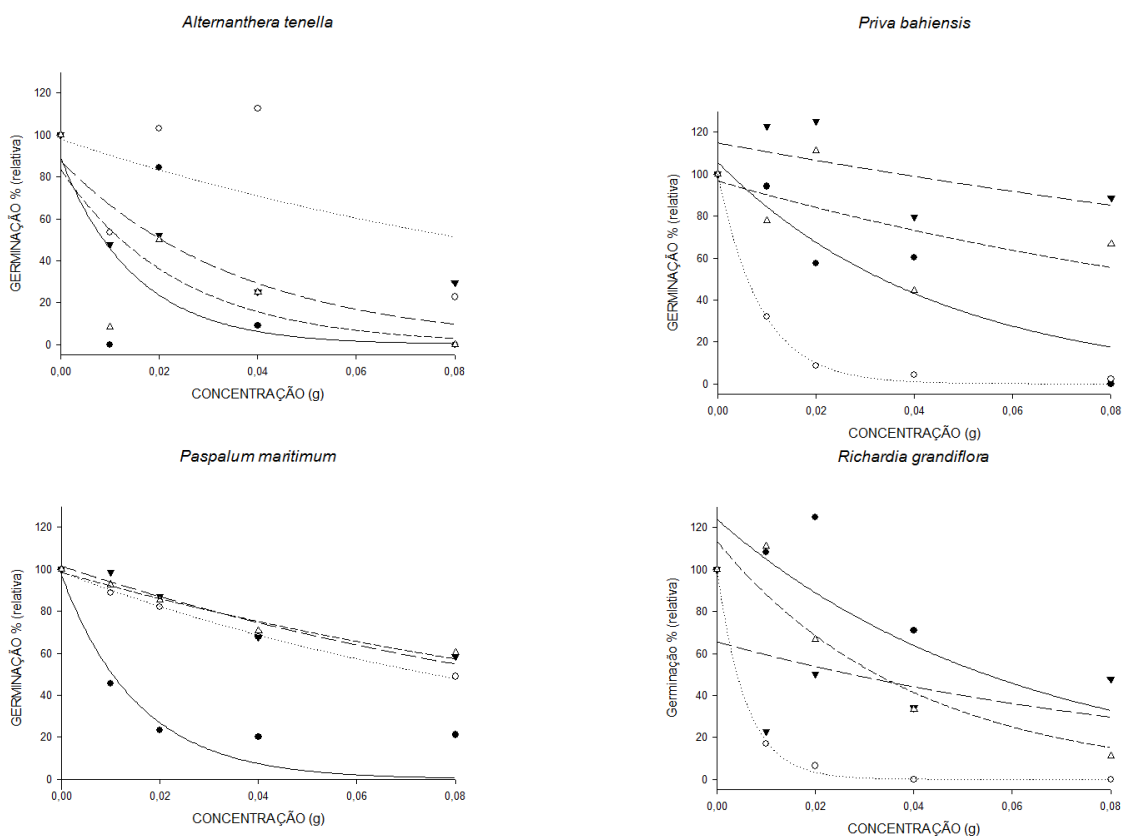
<i>Alternanthera tenella</i>				
Espécie receptora	Parâmetros			F
	a	b	R^2	
<i>L. sativa</i>	97,93	8,07	0,53	1,1538
<i>D. insularis</i>	89,11	66,77	0,77	4,5391
<i>E. fosbergii</i>	83,53	42,01	0,64	2,1401
<i>P. oleracea</i>	87,65	27,59	0,86	8,5563
<i>Paspalum maritimum</i>				
<i>L. sativa</i>	98,61	9,04	0,99	882,3069
<i>D. insularis</i>	98,43	6,76	0,98	94,6778
<i>E. fosbergii</i>	97,26	64,58	0,93	19,1225
<i>P. oleracea</i>	101,40	7,70	0,97	44,6616
<i>Priva bahiensis</i>				
<i>L. sativa</i>	100,03	115,66	0,99	1172,6734
<i>D. insularis</i>	96,64	6,95	0,58	1,5732
<i>E. fosbergii</i>	105,57	22,45	0,93	19,8338
<i>P. oleracea</i>	114,80	3,72	0,57	1,4935
<i>Richardia grandiflora</i>				
<i>L. sativa</i>	99,89	170,56	0,99	2017,4551
<i>D. insularis</i>	113,39	25,25	0,94	25,2574
<i>E. fosbergii</i>	123,84	16,61	0,83	6,6632
<i>P. oleracea</i>	65,47	9,93	0,38	0,5330
<i>Scoparia dulcis</i>				
<i>L. sativa</i>	99,43	105,24	0,99	434,1453
<i>D. insularis</i>	99,99	1503,56	0,99	330,5887
<i>E. fosbergii</i>	102,15	55,60	0,99	133,4932
<i>P. oleracea</i>	98,36	63,82	0,99	207,6439
<i>Solanum paniculatum</i>				

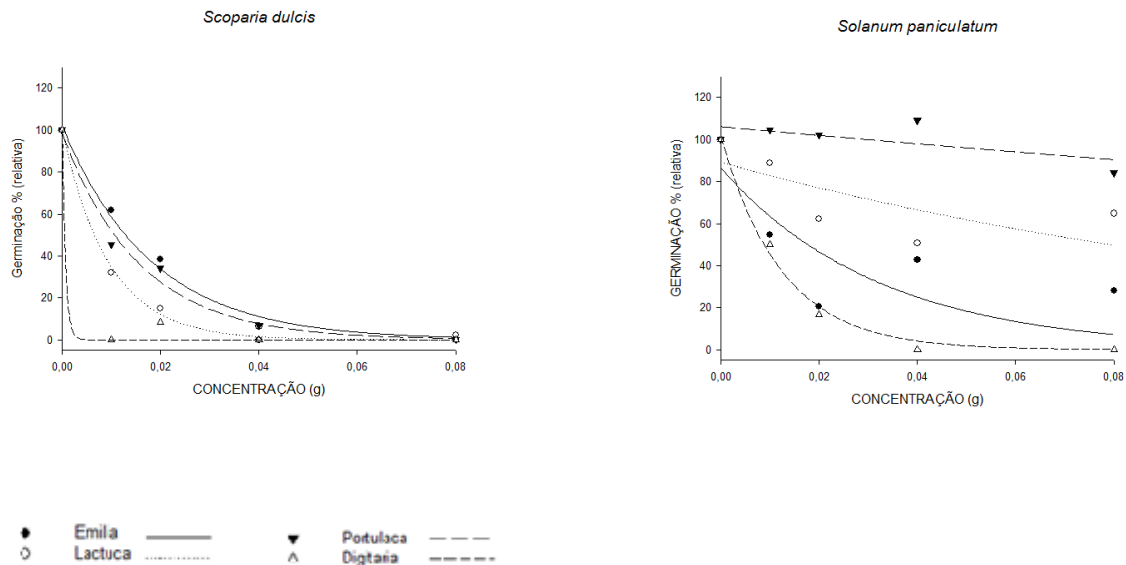
<i>L. sativa</i>	89,19	7,32	0,70	2,8278
<i>D. insularis</i>	101,21	80,38	0,99	404,9662
<i>E. fosbergii</i>	86,46	31,09	0,75	4,0247
<i>P. oleracea</i>	106,06	1,99	0,66	2,3731

$$f = a \cdot \exp(-b \cdot x)$$

O efeito alelopático ocorre quando os metabólitos secundários liberados pela planta doadora estão em concentrações adequadas e são absorvidos e translocados até algum sítio de ação, resultando 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. Diferenças de sensibilidade entre espécies receptoras também são comuns em trabalhos verificando alelopatia (DELACHIAVE; RODRIGUES; ONO, 1999; HOFFMANN et al., 2007; ALMEIDA et al., 2008; MARINOV-SERAFIMOV, 2010).

Figura 4: Porcentagem de germinação de sementes das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos da parte aérea das plantas doadoras.





Ainda, de acordo com os resultados apresentados na **Tabela 4** e **Figura 4**, as sementes de *P. oleracea* pouco se sensibilizaram com os aleloquímicos presentes nas folhas de *P. bahiensis*, *R. grandiflora* e *S. paniculatum*, haja vista que esta espécie não apresentou alterações significativas em seu percentual de germinação, ao se comparar com o controle.

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 o bioensaio. Ferreira; Aquila (2000) também mostraram que a germinação é menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas e, Ferreira; Borghetti (2004) relatam que o efeito alelopático pode não ocorrer sobre a porcentagem de germinação, e sim sobre outros processos de desenvolvimento da planta.

Observou-se ainda, que as substâncias liberadas na maior concentração (0,08 g) foram as que promoveram as inibições de maior magnitude, independente da planta receptora (**Figura 4**). 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 a medida que se aumentava as concentrações, reduziu-se o percentual germinativo de sementes de *Avena sativa* L., *Lotus corniculatus* L., *Lolium multiflorum* Lam. e *Trifolium pratense* L.

Observações efetuadas por outros pesquisadores indicam que não existe um padrão de germinação e, uma maior ou menor concentração dos extratos muitas vezes afeta este parâmetro de maneira diferente, na dependência da espécie testada. Por exemplo, em testes com *Casearia sylvestris*, o teste de germinação só foi influenciado negativamente nas maiores concentrações,

90 e 100%, enquanto que para *Joannesia princeps*, a inibição na germinação de alface ocorreu a partir da concentração de 30% (CAPOBIANGO; VESTENA; BITTENCOURT, 2009).

Já Oliveira et al. (2011), trabalhando com folhas frescas de *Rheedia brasiliensis* na germinação de sementes de alface, verificaram que, a partir de extratos a 20%, ocorria efeito negativo na germinação. Outros autores (SILVA et al., 2010) indicaram que os extratos etanólicos de *Anadenanthera macrocarpa* e *Astronium graveolens* influenciaram negativamente a germinação de *Brassica oleraceae* (couve) e *L. sativa*, independente da concentração utilizada.

Pelas curvas de dose-resposta, que determina a concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha (CL₅₀), observou-se que a espécie a *L. sativa* foi mais sensível aos aleloquímicos presentes nas concentrações crescentes da parte aérea de *P. bahiensis*, *R. grandiflora* e *S. dulcis*; Já *D. insularis* se sensibilizou com a menor CL₅₀ em *A. tenella* e *S. paniculatum*; e, *E. fosbergii*, foi a que apresentou a menor CL₅₀ quando testada com *P. maritimum* (Tabela 5).

Com frequência, em estudos alelopáticos, a germinabilidade é um índice muito utilizado, embora na maioria das vezes não demonstra um resultado expressivo. O que mais se observa são efeitos significativos de extratos sobre o tempo médio e velocidade de germinação e nenhuma diferença na germinabilidade em relação ao controle (FERREIRA; ÁQUILA, 2000; CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007; SARTOR et al., 2009).

Tabela 5: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **germinação (G)** de sementes das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes da parte aérea das plantas doadoras.

ESPÉCIES RECETORAS				
ESPÉCIES DOADORAS	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Digitaria insularis</i>	<i>Emilia fosbergii</i>	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>A. Tenella</i>	0,084	0,008	0,012	0,020
<i>P. maritimum</i>	0,074	0,096	0,010	0,087
<i>P. bahiensis</i>	0,006	0,093	0,033	0,208
<i>R. grandiflora</i>	0,004	0,032	0,054	0,026
<i>S. dulcis</i>	0,006	4,611	0,012	0,010
<i>S. paniculatum</i>	0,078	0,008	0,017	0,375

No entanto, nesse estudo foram identificados resultados relevantes no processo de germinabilidade. As mudanças nesse parâmetro podem ser apenas fatores secundários decorrentes de interações que ocorrem em níveis celulares e moleculares, pois os aleloquímicos podem alterar estruturas citológicas, hormonais, as membranas e sua permeabilidade, a absorção de minerais, transcrição e tradução do DNA, respiração, conformação de enzimas e

receptores entre outros (FERREIRA; BORGETTI, 2004).

Comprimento da parte aérea (CPA)

Assim como na germinação, as regressões para o parâmetro **Comprimento da parte aérea** se ajustaram ao modelo Decaimento exponencial (**Tabela 6**), com exceção da planta receptora *P. oleracea* que não se ajustou a este modelo quando testada com *A. tenella*, *P. bahiensis*, *R. grandiflora* e *S. paniculatum*, sendo diferenciada com a regressão polinomial linear¹.

Em relação ao crescimento inicial das plantas receptoras, a parte aérea de *R. grandiflora* e *S. dulcis* provocou inibições significativas nos hipocótilos das plântulas, quando comparados ao tratamento controle com as inibições mais intensas obtidas na concentração de 0,08 g nas espécies *L. sativa* e *D. insularis*, respectivamente (**Figura 5**).

Estudos realizados por 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*, diminuiu o comprimento das plântulas conforme se aumentou a concentração. A inibição do crescimento do hipocótilo de uma espécie em um bioensaio in vitro enriquecido com extratos de plantas é comumente visto como evidência de uma interação alelopática.

Tabela 6. Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial para **comprimento de parte aérea (CPA)** de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes da parte aérea das plantas doadoras.

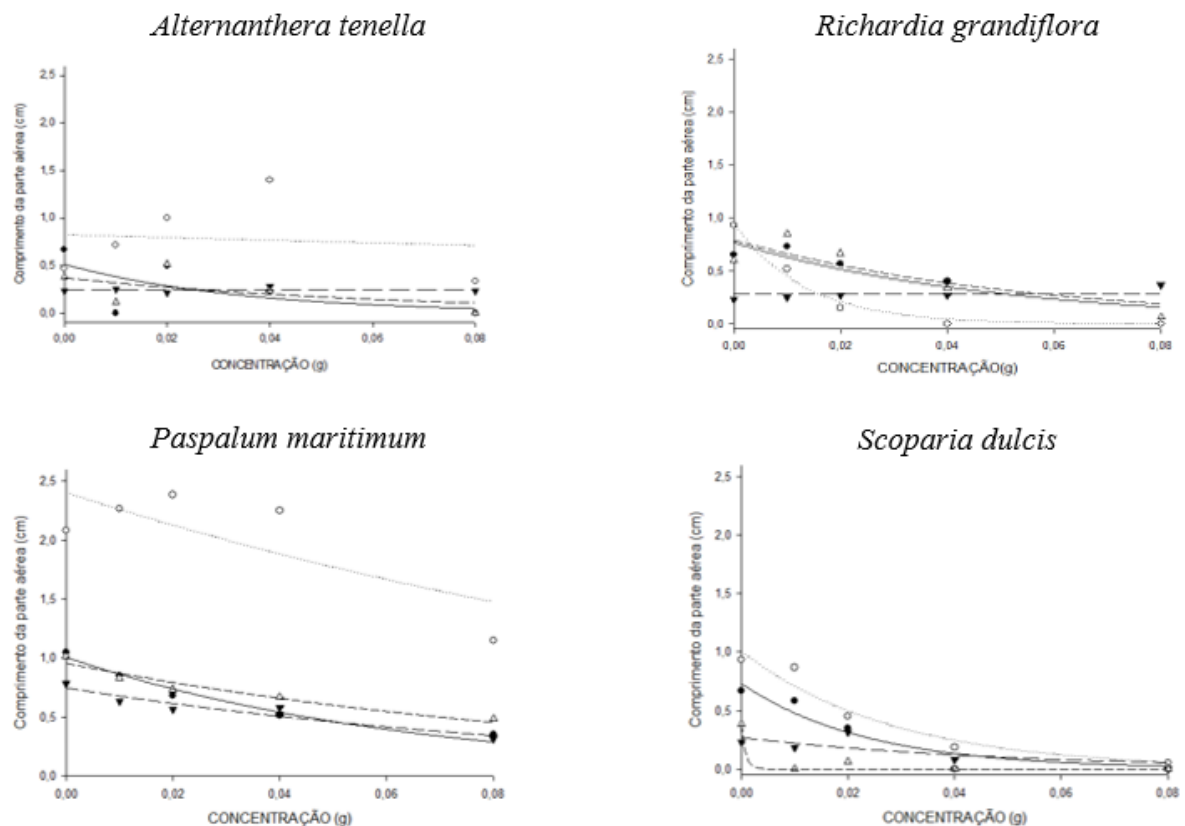
<i>Alternanthera tenella</i>				
Espécie receptora	Parâmetros			F
	a	b	R ²	
<i>L. sativa</i>	0,82	1,79	0,12	0,0439
<i>D. insularis</i>	0,37	15,46	0,57	1,4971
<i>E. fosbergii</i>	0,51	29,04	0,61	1,7792
<i>P. oleracea</i> ¹	0,24	0,08	0,10	0,0330
<i>Paspalum maritimum</i>				
<i>L. sativa</i>	2,40	6,08	0,77	4,3914
<i>D. insularis</i>	0,95	9,25	0,96	45,6115
<i>E. fosbergii</i>	1,00	15,54	0,98	96,1357
<i>P. oleracea</i>	0,74	9,74	0,94	24,8093
<i>Priva bahiensis</i>				
<i>L. sativa</i>	0,96	39,38	0,98	142,0907
<i>D. insularis</i>	0,58	2,39	0,33	0,3872
<i>E. fosbergii</i>	0,80	16,67	0,86	9,0398
<i>P. oleracea</i> ¹	0,30	0,21	0,06	0,0126
<i>Richardia grandiflora</i>				
<i>L. sativa</i>	0,95	76,19	0,99	175,1857
<i>D. insularis</i>	0,79	18,04	0,85	18,0465
<i>E. fosbergii</i>	0,76	19,84	0,91	15,5156

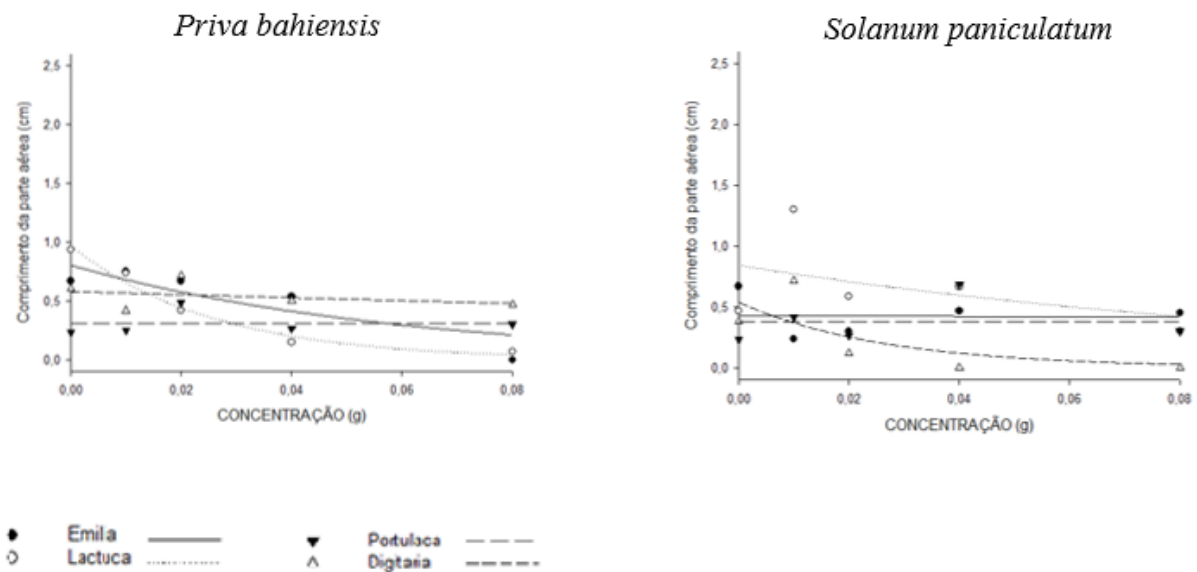
<i>P. oleracea</i> ¹	0,23	1,58	0,96	34,9361
<i>Scoparia dulcis</i>				
<i>L. sativa</i>	1,00	35,26	0,97	47,9832
<i>D. insularis</i>	0,38	1294,16	0,97	71,8491
<i>E. fosbergii</i>	0,72	42,54	0,95	30,7988
<i>P. oleracea</i>	0,26	19,99	0,76	4,2577
<i>Solanum paniculatum</i>				
<i>L. sativa</i>	0,84	8,64	0,47	0,8420
<i>D. insularis</i>	0,53	37,73	0,72	3,3642
<i>E. fosbergii</i>	0,42	0,34	0,02	0,0019
<i>P. oleracea</i> ¹	0,84	6,04	0,50	1,0036

$f = a \cdot \exp(-b \cdot x)$ e $f = y_0 + a \cdot x$ (regressão linear) ¹

Ito et al. (2015), avaliando a sensibilidade da *D. insularis* sobre o extrato aquoso de folhas de *Triticum* sp., observaram que o comprimento de plântulas não foi afetado, corroborando, portanto, com este estudo, quando as plântulas foram submetidas aos tratamentos com folhas de *A. tenella* e *P. maritimum* e nenhum efeito significativo no comprimento da parte aérea foi verificado.

Figura 5: Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos da parte aérea das plantas doadoras.





Ao contrário, na concentração 0,04 g de folhas de *A. tenella* verificou-se estímulo no crescimento do hipocótilo em *L. sativa* em relação ao controle (**Figura 5**). Este fato pode estar ligado à presença de algum dos metabólitos secundários que possam estar atuando como hormônio de crescimento, o que levou a um aumento no alongamento do hipocótilo, em vez de causar a inibição (GOLDFARB; PIMENTEL; PIMENTEL, 2009).

Com relação a CL_{50} , *L. sativa* demonstrou ser a espécie mais sensível aos aleloquímicos presentes nas folhas de *R. grandiflora* (**Tabela 7**). Os dados obtidos para as demais espécies não se ajustaram ao modelo de regressão, impossibilitando a obtenção da curva de dose-resposta. Para Pirzad et al. (2010), a maior redução do comprimento das plântulas foi com as concentrações de 15 e 20%, mostrando que, dependendo da espécie doadora, há diferença na concentração necessária para mostrar o efeito alelopático nas espécies receptoras.

Tabela 7: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **Comprimento da parte aérea (CPA)** de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes da parte aérea das plantas doadoras.

ESPÉCIES RECETORAS				
ESPÉCIES DOADORAS	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Digitalia insularis</i>	<i>Emilia fosbergii</i>	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>A. tenella</i>	2,283	0,317	0,158	599,51*
<i>P. maritimum</i>	0,500	0,428	0,251	0,434
<i>P. bahiensis</i>	0,100	1,856	0,248	238,596*
<i>R. grandiflora</i>	0,052	0,230	0,210	347,296*
<i>S. dulcis</i>	0,110	0,003	0,099	0,262
<i>S. paniculatum</i>	0,472	0,120	13,988	144,744*

* CL_{50} pelos parâmetros da regressão linear ($f = y_0 + a \cdot x$).

Comprimento primário da raiz (CPR)

Neste trabalho, todas as regressões para o parâmetro **Comprimento primário da raiz** se ajustaram ao modelo Decaimento exponencial (**Tabela 8**), com destaque para as espécies *P. maritimum* e *S. dulcis* que apresentaram um comportamento com altos valores do coeficiente de determinação (R^2) que foram maiores ou igual a 0,91%.

As concentrações crescentes da parte aérea de todas as plantas doadoras desse estudo contribuíram para a redução do comprimento primário da raiz (CPR) das plântulas das espécies receptoras, conforme se aumentou a concentração (**Figura 6**).

De acordo com os resultados apresentados, *S. dulcis* apresentou inibições de maior intensidade em todas as plantas receptoras estudadas, reduzindo significativamente o comprimento primário das raízes (CPR), sendo que as concentrações de 0,04 e 0,08 g apresentaram as inibições mais intensas. O efeito do extrato sobre o crescimento de raiz pode retardar ou inibir o desenvolvimento das plantas daninhas, pois coincidem com os estágios iniciais de desenvolvimento da planta (SOUZA FILHO; ALVES, 2000).

Tabela 8. Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial para comprimento primário de raiz (CPR) de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes da parte aérea das plantas doadoras.

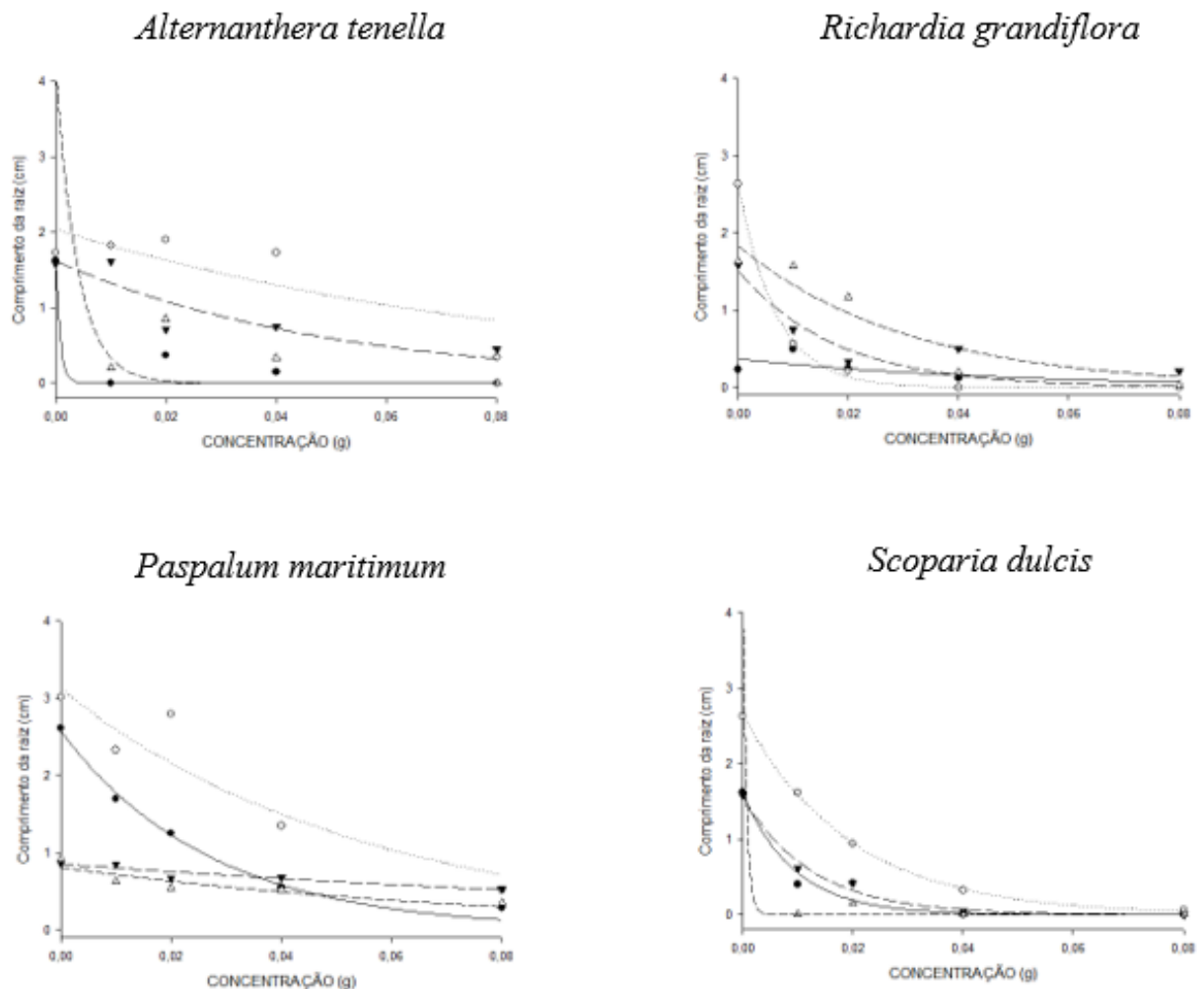
<i>Alternanthera tenella</i>				
Espécie receptora	Parâmetros			F
	a	b	R^2	
<i>L. sativa</i>	2,04	11,29	0,81	5,7351
<i>D. insularis</i>	4,12	251,49	0,96	41,1715
<i>E. fosbergii</i>	1,63	1264,67	0,95	33,3228
<i>P. oleracea</i>	1,61	20,07	0,89	11,6912
<i>Paspalum maritimum</i>				
<i>L. sativa</i>	3,12	18,31	0,93	21,0237
<i>D. insularis</i>	0,81	12,41	0,91	15,6258
<i>E. fosbergii</i>	2,57	37,07	0,99	322,7038
<i>P. oleracea</i>	0,85	6,17	0,93	19,0004
<i>Priva bahiensis</i>				
<i>L. sativa</i>	2,62	159,99	0,99	552,9493
<i>D. insularis</i>	1,82	10,90	0,54	1,2372
<i>E. fosbergii</i>	1,89	23,13	0,92	16,3425
<i>P. oleracea</i>	1,28	25,15	0,78	4,8323
<i>Richardia grandiflora</i>				
<i>L. sativa</i>	2,63	147,36	0,99	1975,7843
<i>D. insularis</i>	1,82	32,30	0,94	25,3230
<i>E. fosbergii</i>	0,72	21,16	0,72	3,3591
<i>P. oleracea</i>	1,51	56,64	0,91	14,9753
<i>Scoparia dulcis</i>				
<i>L. sativa</i>	2,64	51,28	0,99	5157,2312

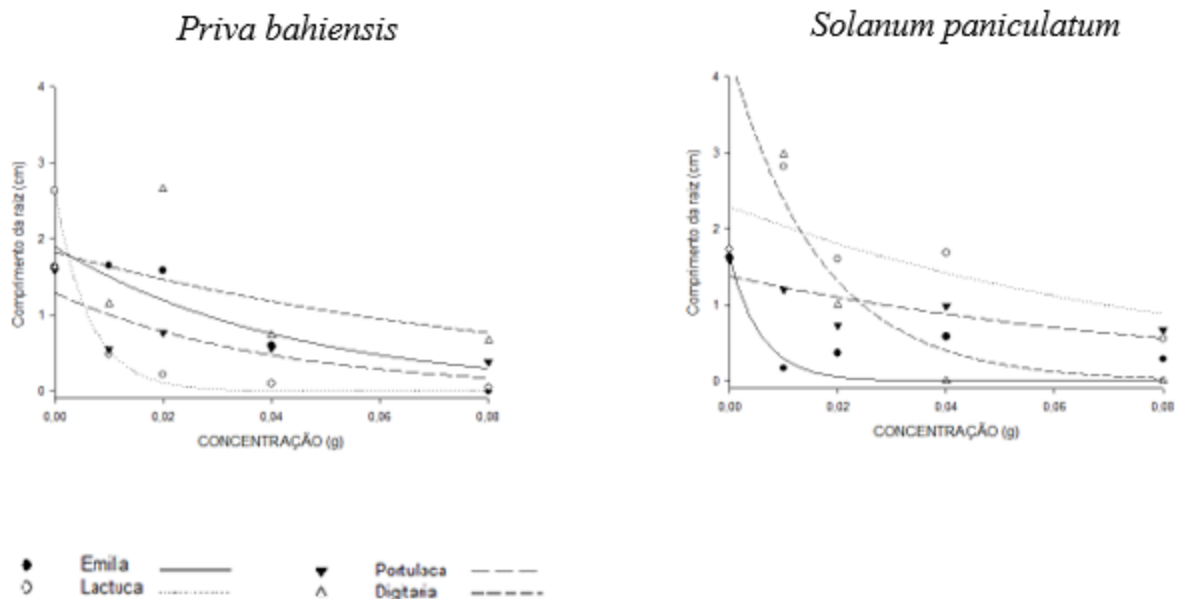
<i>D. insularis</i>	4,13	1536,37	0,99	1788,6738
<i>E. fosbergii</i>	1,60	106,83	0,98	68,2260
<i>P. oleracea</i>	1,56	80,06	0,99	268,1014
<i>Solanum paniculatum</i>				
<i>L. sativa</i>	2,29	11,98	0,74	3,7536
<i>D. insularis</i>	4,30	59,57	0,97	58,2009
<i>E. fosbergii</i>	1,62	170,60	0,78	4,9372
<i>P. oleracea</i>	1,37	11,18	0,80	5,3535

$$f = a \cdot \exp(-b \cdot x)$$

De uma maneira geral, as raízes são mais sensíveis às substâncias presentes nos extratos quando comparadas com as demais estruturas das plântulas, pelo fato de estarem em contato direto e prolongado com os aleloquímicos em relação às demais estruturas (CHON; COUTTS; NELSON, 2000; CHUNG; AHN; YUN, 2001).

Figura 6: Comprimento primário da raiz (CPR) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos da parte aérea das plantas doadoras.





Nas raízes, o efeito alelopático dos extratos das folhas das plantas doadoras mostraram-se mais marcante, pois o comprimento da raiz primária contrasta de maneira expressiva com o controle, especialmente, na maior concentração utilizada, independente da planta doadora testada. De acordo com Cruz - Ortega et al. (1998), 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.

Observou-se ainda neste estudo, que as raízes das plântulas de *P. oleracea* não foi sensibilizada pelos aleloquímicos liberados pela parte aérea de *P. maritimum* e *S. paniculatum*. Porém, os níveis deficientes ou inexpressivos em relação ao controle só mostram que a atividade biológica de um aleloquímico depende da sua concentração ou da sua atuação em conjunto com outros (SOUZA FILHO, 2002).

Esses resultados diferem dos encontrados por Gholami; Faravani; Kashki (2011) que verificaram efeito inibidor significativo sobre a germinação e crescimento da parte aérea e radicular da *P. oleracea* sob ação de extratos aquosos de *Satureja hortensis* (Lamiaceae) e *Artemisia kopetdaghensis* (Asteraceae).

Em estudo sobre a atividade alelopática de espécies de plantas pelo método sanduíche, foi verificado que *A. fauriei* estimulou o crescimento de *L. sativa* (FUJII et al. 2003). No mesmo trabalho, os autores verificaram efeito inibitório de espécies de várias famílias como, por exemplo, Amaryllidaceae, Annonaceae, Euphorbiaceae, Guttiferae, Icacinaceae, Leeaceae, Leguminosae, Meliaceae, entre outras, observando a inibição superior a 50%, sugerindo que os efeitos alelopáticos podem variar quanto à sua intensidade, visto que a ação dos aleloquímicos

é condicionada por diversos fatores, tais como concentração, temperatura e outras condições ambientais. Geralmente, os efeitos causados tendem a ser dependentes da concentração dos aleloquímicos, ou seja, tendem a ser mais acentuados em concentrações mais altas, sendo essa tendência observada nos bioensaios de crescimento.

A ação tóxica dos aleloquímicos presentes nas folhas das plantas doadoras também foi constatada na aparência das plântulas. As concentrações maiores de folhas de *A. tenella*, *R. grandiflora* e *S. dulcis* causaram escurecimento e atrofia nas raízes de *P. oleracea*. Estes sintomas resultaram, conforme Yamagushi; Gusman; Vestena (2011), da ação de substâncias tóxicas presentes nos extratos sobre o meristema radicular, podendo induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e levar à morte tecidual. Sintomas semelhantes também foram observados por Gatti; Perez; Lima (2004), Periotto; Perez; Lima (2004) e Maraschin-Silva; Áquila (2006).

Com relação a CL_{50} , para o comprimento primário da raiz (CPR), *E. fosbergii* demonstrou ser a espécie mais sensível aos aleloquímicos presentes nas folhas de *A. tenella*, *P. maritimum* e *S. paniculatum*, seguida da *L. sativa* quando testada com *P. bahiensis* e *R. grandiflora* e, *D. insularis*, quando submetida aos tratamentos com *S. dulcis* (**Tabela 9**).

Tabela 9: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **Comprimento primário da raiz (CPR)** de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes da parte aérea das plantas doadoras.

ESPÉCIES RECETORAS				
ESPÉCIES DOADORAS	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Digitaria insularis</i>	<i>Emilia fosbergii</i>	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>A. tenella</i>	0,283	0,009	0,002	0,170
<i>P. maritimum</i>	0,151	0,332	0,082	0,657
<i>P. bahiensis</i>	0,018	0,303	0,141	0,145
<i>R. grandiflora</i>	0,019	0,102	0,199	0,061
<i>S. dulcis</i>	0,057	0,001	0,032	0,043
<i>S. paniculatum</i>	0,256	0,041	0,020	0,321

Análises fitoquímicas (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

A identificação dos compostos presentes no agar, por meio de Cromatografia líquida de Alta Eficiência (CLAE) dos extratos das folhas das espécies doadoras estudadas (*A. tenella*, *P. maritimum*, *P. bahiensis*, *R. grandiflora*, *S. dulcis* e *S. paniculatum*) revelaram a presença de oito polifenóis (**Tabela 10**), o que sugere que sua atividade fitotóxica se deva a presença destes compostos.

Tabela 10: Quantificação dos polifenóis presentes nos extratos da parte aérea das plantas daninhas doadoras deste estudo.

POLIFENOIS (parte aérea)	CONCENTRAÇÃO mg/L					
	A. <i>tenella</i>	P. <i>maritimum</i>	P. <i>bahiensis</i>	R. <i>grandiflora</i>	<i>S. dulcis</i>	S. <i>paniculatum</i>
ácido clorogênico	0,412	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ácido cafeico	2,699	1,778	1,926	2,647	1,718	1,829
ácido cumárico	0,234	0,000	0,000	0,000	0,000	0,575
Cumarina	0,499	0,458	0,499	0,617	0,495	0,449
ácido salicílico	0,619	0,648	0,584	1,477	0,861	0,712
Rutina	0,000	0,000	1,142	0,563	0,000	0,000
Quercetina	0,447	0,512	0,421	1,511	0,000	0,676
Kaempferol	0,000	0,730	0,772	0,782	0,782	1,165

A análise fitoquímica é uma ferramenta usada para identificação rápida dos constituintes químicos de uma planta em análise. Os compostos aleloquímicos podem ser encontrados nos mais diversos órgãos das plantas, variando em quantidade dependendo de aspectos como idade e estágio de desenvolvimento (BOURGAUD, 2001). Ainda assim, as folhas parecem ser as fontes mais consistentes de compostos químicos envolvidos na fitotoxicidade e como é o órgão vegetal mais metabolicamente ativo da planta, acredita-se que ela introduza uma maior diversidade de aleloquímicos no ambiente e, portanto, seja responsável pelos efeitos alelopáticos mais acentuados (RIBEIRO et al., 2009).

Os ácidos fenólicos e os flavonoides estão amplamente distribuídos nos tecidos vegetais e frequentemente são associados a fenômenos alelopáticos (HUSSAIN; REIGOSA, 2017). De maneira mais expressiva, o ácido cafeico, a cumarina e o ácido salicílico foram detectados em todas as amostras das plantas doadoras deste estudo, sendo que a quercetina e o kaempferol também foram detectados nas amostras estudadas, e, menos expressivamente também foram detectados rutina, ácido cumárico e ácido clorogênico, sugerindo que os extratos usados nos bioensaios para diagnóstico preliminar de alelopatia, neste estudo, são misturas de várias substâncias, que podem exercer efeitos aditivos ou sinérgicos, tornando importante a análise da ação de cada substância isoladamente (SANTOS; MORAES; REZENDE, 2007).

Chou; Kuo (1986) observaram também que o extrato aquoso das folhas da leucena apresenta fitotoxicidade sobre várias plantas e que os aleloquímicos envolvidos nesse efeito são a quercetina, o ácido gálico e os ácidos vanílico, ferúlico, caféico e p-cumárico. Ainda, Golisz et al. (2007), relataram que a rutina tem uma alta atividade alelopática sobre raízes de alface. Mendonça (2008) verificou a existência do ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido p-anísico e genisteína, causando efeito alelopático no desenvolvimento das plântulas de *Commelina benghalensis* e *Ipomoea grandifolia*, corroborando, portanto com este estudo.

Os ácidos fenólicos atuam induzindo o aumento da atividade de enzimas oxidativas, causando assim a modificação da permeabilidade da membrana e a formação de lignina, contribuindo para a redução do crescimento radicular (FERRARESE et al., 2000). Loffredo; Monaci; Senesi (2005) relataram que ácido cafeico apresentou efeito alelopático e inibiu a germinação e o crescimento de plântulas de *L. sativa* e *Lycopersicon esculentum*. 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. Bubna et al., (2011) verificaram que o ácido cafeico aumentou a síntese de ligninas, solidificou a célula da parede celular e, assim, inibiu o crescimento radicular de *Glycine max*. Estes estudos corroboram com os resultados do presente trabalho, pois as folhas das plantas doadoras apresentaram estes polifenóis em sua composição e interferiram, de certo modo, na germinação e desenvolvimento inicial das plantas receptoras.

Santos et al. (2011) ao utilizar ácidos fenólicos (clorogênico, p anísico, ferúlico e cafeico) e flavonoides (genistein, quercetina, naringenina, caempferol e rutina) extraídos de folhas de *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae) observaram valores de inibição que variaram de: 5,1% para as sementes de mata pasto a 53,4% para sementes de malícia submetidas à solução destes compostos, confirmando-se, portanto, o potencial alelopático destes compostos já descritos na literatura e presentes nas folhas das plantas doadoras deste estudo.

Em relação ao efeito dos aleloquímicos no crescimento inicial das plântulas, quando estes são liberados pela planta doadora e não possuem concentração suficiente para promover efeito inibitório, eles podem ocasionar estímulo no crescimento (MACIAS et al., 2014). Como ocorreu com a parte aérea de *P. oleracea* quando testada com folhas de *A. tenella*, *P. bahiensis*, *R. grandiflora* e *S. paniculatum*.

A quantidade e as rotas pelas quais os aleloquímicos são liberados diferem de espécie para espécie (TAIZ; ZEIGER, 2013). Por isso, as espécies receptoras deste estudo apresentaram diferentes respostas alelopáticas, como já constatarem AIRES et al. (2005) em *Solanum lycocarpum* (Solanaceae); GATTI et al. (2010) em *Aristolochia esperanzae* (Aristolochiaceae), SOUZA FILHO; MOURÃO, (2010), em três espécies de *Copaifera* (Fabaceae), COELHO et al. (2011), em *Ziziphus joazeiro* (Rhamnaceae) e PEREIRA et al. (2018) em *Canavalia ensiformes* (Fabaceae).

Ainda, resultados semelhantes foram observados por Fiorenza et al. (2016) testando extrato de *Eragrostis plana* Nees (Poaceae) verificaram a redução da germinação de sementes, do índice de velocidade de germinação e do desenvolvimento inicial das plântulas, em todas as espécies testadas, e identificou-se a presença de compostos fenólicos (ácido cafeico, ácido

clorogênico) e flavonoides (rutina), sendo possivelmente o efeito alelopático causado por esses metabólitos secundários. Desta forma, a germinação e o crescimento inicial das plântulas sentiram o efeito fitotóxico provocado pelas substâncias alelopáticas lixiviadas das folhas das plantas doadoras.

Em vista desses relatos, pode-se inferir que os ácidos fenólicos e os flavonoides encontrados na parte aérea das plantas estudadas contribuíram para a redução da germinação e do comprimento de plântulas, nas espécies receptoras analisadas. Esses resultados corroboram os dados de inibição das espécies receptoras, quando submetidas aos compostos identificados neste estudo, presentes nas folhas das plantas doadoras, comprovando que o efeito alelopático pode ser devido à presença desses metabólitos secundários.

De acordo com Nuria et al. (2014) estudos como este sobre substâncias alelopáticas e a identificação das plantas que possuem princípios ativos capazes de causar algum efeito é assunto de grande importância, tanto na utilização de extratos capazes de inibir plantas daninhas na tentativa de diminuir o uso de herbicidas comerciais, quando na determinação de práticas culturais e de manejos mais adequados que evitem a interferência destas substâncias no crescimento de outras (GATTI; PEREZ; LIMA, 2004).

CONCLUSÃO

Este trabalho é a primeira investigação da atividade alelopática destas plantas daninhas, através do método sanduíche. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que este método é uma técnica muito rápida e eficaz no estudo alelopático, pois tornou possível a lixiviação dos compostos presentes na parte aérea de *A. tenella*, *P. maritimum*, *P. bahiensis*, *R. grandiflora*, *S. dulcis* e *S. paniculatum*, nas maiores concentrações testadas, interferindo na germinação das sementes e no crescimento inicial das plântulas das espécies receptoras.

Contudo, a conclusão definitiva de que estas espécies sejam alelopáticas em condições naturais está associada a uma investigação mais ampla, que inclui outras abordagens experimentais, principalmente testes a campo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, L.F. R. et al. In vitro allelopathic potential of *Leonurus sibiricus* L. leaves. **Journal of Plant Interactions**, v.3, n.1, p. 39-48, 2008.

ANESE, S. et al. Fitotoxicidade de extratos etanólicos de frutos e folhas de *Banisteriopsis oxyclada* (A. Juss.) B. Gates sobre o crescimento de plantas daninhas. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 29, n. 1, p. 1-10, 2016.

BORELLA, J. et al. 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.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Revista Biotemas**, Florianópolis, SC, v. 22, n. 3, p. 67-75, 2009.

BOURGAUD, F. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v.161, p.839-851, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília. 2009.

BUBNA, G.A. et al. 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.

CAPOBIANGO RA, VESTENA S e BITTENCOURT HC. Alelopatia de *Joanesia princeps* Vell. e *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9, n. 4, p. 924-930. 2009.

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

CHIAPUSIO, G. et al. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process. **Journal of Chemical Ecology**, v.11, p. 2445-2453, 1997.

CHON, S. U.; COUTTS, J. H.; NELSON, C. J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal** v. 92, p. 715-720. 2000.

CHOU, C.H.; KUO Y.L. Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan: III. Allelopathic exclusion of understory by *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Journal of Chemical Ecology**, v.12, p.1431-1448, 1986.

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**, p. 3-30. 2008.
- 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. et al. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Horticultura Brasileira**, v.29, p.108-111, 2011.
- COSTA, A. F. Farmacognosia. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1982.
- CRUZ-ORTEGA, R. et al. 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.
- 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.
- DIÓGENES, F.E.P.; OLIVEIRA, A.K.; TORRES, S.B.; MAIA, S.S.S.; COELHO, M.F.B. Atividade alelopática do extrato de folhas *Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae. **Revista Verde**, v.9, n. 4, p.1-4, 2014.
- FERRARESE, M.L.L. et al. Carbohydrate and lipid status in soybean roots influenced by ferulic acid uptake. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 23, p. 421-427, 2000.
- FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.175-204, Edição especial. 2000.
- FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. Germinação do básico ao aplicado. Porto Alegre: **ARTMED**. 323 p. 2004.
- FIORINZA, M. et al. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis lana* Nees (capim-annoni). Iheringia, **Série Botânica**, v. 71, p. 193-200, 2016.
- FUJII, Y. et al. Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. **Weed Biology and Management**, v. 3, p. 233-241. 2003.
- FUJII, Y. et al. Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. **Weed Biology and Management**, v. 4, p. 19-23. 2004.
- 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.
- GATTI, A.B. et al. Allelopathic effects of aqueous extract of *Aristolochia esperanzae* O.kuntze on development of *Sesamum indicum* L. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, n.2, 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.
- GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L.W.; PIMENTEL, N.W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 1, p. 23-28. 2009.
- 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.
- GRISI, P.U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Efeito alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas daninhas e de hortaliças. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.
- HAMAYUN, M. et al. Allelopathic effects of *Cyperus rotunds* and *Echinochloa crusgalli* on seed germination and plumule and radical growth in maize (*Zea mays* L.). **Pakistan Journal Weed Science**, v.11, p. 81- 84, 2005.
- 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.
- HOSSAIN M.K., ALAM M.N. Allelopathic effects of *Lantana camara* leaf extract on germination and growth behavior of some agricultural and forest crops in Bangladesh. **Pakistan Journal Weed Science**, v. 16, p. 217- 226, 2010.
- HUSSAIN M.I., REIGOSA M.J., AL-DAKHEEL A.J. Biochemical, physiological and isotopic responses to natural product phydroxybenzoic acid in Cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). **Plant Growth Regul.** v. 75, p. 783-792, 2015.
- HUSSAIN M.I., REIGOSA M.J. Evaluation of photosynthetic performance and carbon isotope discrimination in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) under allelochemicals stress. **Ecotoxicology**. v. 26, p. 613-624, 2017.
- IAS. International Allelopathy Society. Constitution and Bylaws. 2011. Disponível em: <<http://www.ias.uca.es/bylaws.htm#SECTION>> Acessado em 12 de set de 2018.
- ITO, M.A. et al. Allelopathic potential of wheat on sourgrass resistant to glyphosate. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p. 891-898, 2015.
- JALAGERI B.R. et al. Allelopathic effects of prominent weed species on cereals, pulses and oilseed crops. **Journal Agriculture Science**. v. 1, p. 107-112, 2010.
- LABOURIAU, L. G. A. Germinação das Sementes. Washington D.C: **Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos**. 174 p. 1983.
- 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.

LORENZI, H. (Coord.). Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. 7. ed. **Nova Odessa**: Instituto Plantarum, 2014.

LUZ, S.M.; SOUZA FILHO, A.P.S.; GUILOHN, G.M.S.P.; VILHENA, K.S.S. Atividade alelopática de substâncias químicas isoladas da *Acacia mangium* e suas variações em função do pH. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 479-487, 2010.

MACIAS F.A. et al. Evidence for an allelopathic interaction between rye and wild oats. **Journal Agriculture Food Chemical**. v. 62, p.9450-9457, 2014.

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

MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. Fortaleza/CE: **Edições UFC**, 1988.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. Farmacognosia. Fortaleza/CE: **Edições UFC**, 1989.

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. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.1, p. 55-62, 2009.

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.

MOHADESI, A. et al. Allelopathy of weed extracts on yield and its components in four cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal Central Europ Agriculture**. v. 12; p. 70-80, 2011.

MUZAFFAR, S. et al. Effect of catechol, gallic acid and pyrogallol on the germination, seedling growth and the level of endogenous phenolics in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Inter Journal Life Science Biotechnol Pharma**, v. 1, p. 50-55, 2012.

NURIA C. et al. Operation allelopathy: An experiment investigating an alternative to synthetic agrochemicals. **Journal Chemical Educacion**. v. 91, p. 570-574, 2014.

OLIVEIRA, N. S. et al. Efeitos alelopáticos dos extratos aquoso e etanólico de jatobá do cerrado. **Revista Unimontes Científica**. v.4, n.2, 2002.

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.

OLIVEIRA, A.K.M.; PEREIRA, K.C.L.; MULLER, J.A.I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 41-47, 2014.

OLIVEIRA, A.K.M. Atividade de extratos de espécies arbóreas da caatinga sobre a emergência e desenvolvimento de plântulas de feijão-caupi, melão e milho. 111p. Tese (Doutorado em Agronomia), (AC: Fitotecnia) Universidade Federal do Semiárido, Mossoró, Rio Grande do Norte, 2014.

PEREIRA, R.S., SANTANA, D.G., RANAL M.A. Seed ling emergence from new lycollected and storage seeds of *Copaifera langsdorffii* Desf. (caesalpinoideae), triângulo mineiro, Brazil. **Revista Árvore**. v. 33, p. 643-652, 2009.

PEREIRA, J. C. et al. Potencial alelopático e identificação dos metabólitos secundários em extratos de *Canavalia ensiformis* L. **Revista Ceres**, v. 65, n.3, p. 243-252, 2018.

PERIOTTO, F.; PEREZ, S.C.J.G.A.; LIMA, M.I.S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. Ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 425-430, 2004.

PIRZAD, A. et al. Allelopathy of sage and white wormwood on purslane germination and seedling growth. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 2, n.3, p. 91-95, 2010.

REZENDE, A.A.G.; HERNANDEZ-TERRONES, G.M.; REZENDE, C.L.M.D. Estudo do potencial alelopático do extrato metanólico de raiz e caule de *Caryocar brasiliense* Camb. (Pequi). **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 460-472, 2011.

RIBEIRO, J. P. N. et al. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 1, p. 183-188, 2009.

SANTANA, D.G., RANAL, M.A. Análise da germinação: Um enfoque estatístico, **firsted**. UNB, Brasília - DF. 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.; 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.

SARTOR, L.R. et al. Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. **Ciência Rural**. v. 39, n. 6, p. 1653-1659, 2009.

SHAO-LIN P. et al. Mechanism and active variety of allelochemicals. **Acta Botanica Singapore**. v. 46, p.757-766, 2004.

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**, v. 26, n. 4, p. 632-637, 2010.

SILVA, P.S.S. Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. **Revista Biotemas**, v. 25, n. 3, p. 65-74, 2012.

SILVA, C. P.; CAMARGO, B. F.; ROCHA, A. P. Efeitos alelopáticos de diferentes espécies de plantas do cerrado sul-matogrossense. 2013. Disponível em: <<http://www.aems.com.br>>. Acesso em: 17 set. 2018.

SOUTO, J.S. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de moringa na germinação e no crescimento inicial da alface. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, PB, v. 11, n. 2, p. 56-60, 2015.

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 hidroalcoolicos de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). **Planta Daninha**, MG, v. 20, n. 3, p. 357-364, 2002.

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

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

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

TANVEER, A. et al. Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). **Turk Journal Agriculture**. v. 34, p. 75-81, 2010.

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, 164p. 1994.

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

YOUNG, G. P.; BUSH, J. K. Assessment of the allelopathic potential of *Juniperus ashei* on germination and growth of *Bouteloua curtipendula*. **Journal Chemical Ecology**, v. 35, n. 1, p. 74-80, 2009.

ZHANG, X. et al. Allelopathic effects of decomposed leaf litter from intercropped trees on rape. **Turk Journal Agriculture**. v. 39, p. 898-908, 2015.

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.

ZOHAIB, A. et al. Influence of water soluble phenolics of *Vicia sativa* L. on germination and seedling growth of pulse crops. **Science Agriculture**, v. 8, p. 148-151. 2014.

ZOHAIB, A. et al. Weeds cause losses in field crops through allelopathy. **Science Biological**. v. 8, p. 47-56, 2016.

Atividade alelopática de raízes de plantas daninhas pelo método sanduíche

RESUMO

A alelopatia trata-se de uma ocorrência natural, resultante da liberação de substâncias capazes de estimular ou inibir o desenvolvimento de outras plantas. Objetivou-se neste trabalho avaliar a ação alelopática de raízes de plantas daninhas, pelo método sanduíche sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa*, *Emilia fosbergii*, *Portulaca oleracea* e *Digitaria insularis*, bem como determinar os compostos fenólicos presentes nas raízes das respectivas plantas daninhas estudadas. Para tanto, foi conduzido um experimento com 5 tratamentos e 6 repetições em que: T1: controle (sem material vegetal), T2: 0,01 g; T3: 0,02 g; T4: 0,04 g; e, T5: 0,08 g. As variáveis analisadas foram: percentual de germinação (PG), Comprimento da parte aérea (CPA) e Comprimento primário das Raízes (CPR). Os resultados demonstraram que as diferentes concentrações de raízes das plantas testadas interferiram tanto na germinação como no desenvolvimento inicial das plantas receptoras, seja inibindo ou estimulando os parâmetros estudados. Sendo que a espécie *Paspalum maritimum* se destacou com relação a magnitude dos efeitos nos parâmetros testados. Foram identificados, através de Cromatografia líquida de Alta Eficiência, polifenóis (ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido salicílico, ácido cumárico, cumarina, quercetina, rutina e kaempferol) com potente efeito alelopático já descritos na literatura. Sendo assim, com base nos resultados obtidos, é possível sugerir que compostos alelopáticos (incluindo ou não os compostos detectados) estavam presentes nos extratos das plantas doadoras estudadas e ocasionaram tais efeitos.

Palavras Chaves: Aleloquímicos; germinação; desenvolvimento inicial.

Allelopathic activity of Weed root by the sandwich method

ABSTRACT

Allelopathy is a natural occurrence, resulting from the release of substances capable of stimulating or inhibiting the development of other plants. The objective of this work was to evaluate the allelopathic action of weeds roots by the sandwich method on the germination and initial development of *Lactuca sativa*, *Emilia fosbergii*, *Portulaca oleracea* and *Digitaria insularis*, as well as to determine the phenolic compounds present in the roots of the respective plants studied. For this, an experiment was conducted with 5 treatments and 6 replicates in which: T1: control (without plant material), T2: 0,01 g; T3: 0.02 g; T4: 0.04 g; and, T5: 0.08 g. The analyzed variables were: germination percentage (PG), shoot length (CPA) and primary root length (CPR). The results demonstrated that the different concentrations of roots of the tested plants interfered both in the germination and in the initial development of the recipient plants, either inhibiting or stimulating the studied parameters. As the species *Paspalum maritimum* was highlighted in relation to the magnitude of the effects on the parameters tested. Polyphenols (chlorogenic acid, caffeic acid, salicylic acid, coumaric acid, coumarin, quercetin, rutin and kaempferol) with potent allelopathic effect already identified in the literature were identified through High Performance Liquid Chromatography. Thus, based on the results obtained, it is possible to suggest that allelopathic compounds (including or not detected compounds) were present in the extracts of the donor plants studied and caused such effects.

Keywords: Allochemistry; germination; development.

INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas encontrados na condução das culturas economicamente importantes no Brasil é a elevada infestação de plantas daninhas. Tais espécies são responsáveis por prejuízos econômicos reconhecidos mundialmente (VICENTE et al., 2014). Em termos médios, a redução da produção agrícola no mundo tropical é atribuída à interferência das plantas daninhas (LORENZI, 2008). Essa crescente infestação de plantas daninhas eleva o custo de produção por causar prejuízos às lavouras, com decréscimos acentuados da produtividade, quer pela competição direta por fatores de produção ou pelos compostos alelopáticos liberados no meio (CARVALHO; FONTANÉTTI; CANÇADO, 2002).

Relações de interferência entre espécies ativam os mecanismos de defesa nas plantas, alterando assim, o metabolismo secundário. Uma das respostas é o aumento da produção de aleloquímicos, que são metabólitos secundários produzidos e liberados no ambiente pelas plantas, que afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas receptoras e são liberados no ambiente pela decomposição da matéria orgânica, exsudação radicular ou por substâncias voláteis no ar (SHAH et al., 2016).

Dentre os metabólitos secundários, destacam-se os compostos fenólicos, flavonoides e taninos que são os agentes mais comumente associados com o efeito alelopático (TAIZ; ZEIGER, 2013). Estas substâncias são de baixo peso molecular e são considerados de máximo interesse por se encontrarem ligados à maior parte de fenômenos biológicos, botânicos e taxonômicos (EVARISTO; LEITÃO, 2001). Esses compostos apresentam funções, tais como: inibidores de crescimento, atração de polinizadores, defesas das plantas, proteção contra a radiação ultravioleta e também apresentam mecanismos de proteção ao estresse ambiental (CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007; RIGON et al., 2013).

Conhecer os efeitos alelopáticos e a ação de aleloquímicos é fundamental para compreender as interações entre plantas em sistemas florestais ou agrícolas (CRUZ-SILVA et al., 2015). Além disso, estudos de alelopatia podem auxiliar a encontrar fitotoxinas capazes de controlar plantas daninhas em culturas, reduzindo, dessa maneira, a contaminação do ambiente por herbicidas. Segundo Galon et al. (2016), as substâncias alelopáticas que promovem a inibição da germinação ou do crescimento de plantas apresentam-se como alternativa no manejo integrado de plantas daninhas, pois podem potencialmente ser utilizadas como bioerbicidas.

Dentre as plantas daninhas de difícil controle no Brasil, destacam-se as espécies de falsa-serralha (*Emilia fosbergii*), beldroega (*Portulaca oleracea*) e capim amargoso (*Digitaria insularis*). São plantas anuais, herbáceas e desenvolve-se em beiras de estradas, pastagens e

áreas não agriculturáveis e dali se espalham com facilidade para as lavouras, através de sementes que são facilmente carregadas pelo vento. Estas plantas daninhas são comumente encontradas na região da Zona da Mata e Tabuleiros Costeiros do Estado de Alagoas.

Diante da necessidade de conciliar o controle de plantas daninhas com a manutenção da saúde animal e vegetal, a prospecção da atividade alelopática de espécies vegetais pode ser uma contribuição aos métodos tradicionais de controle de plantas daninhas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Teoricamente, substâncias químicas com atividade alelopática podem ser utilizadas diretamente na formulação de bioerbicidas ou ser modificadas, a fim de aumentar sua atividade biológica (SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

Salienta-se que, estudos que visem o conhecimento da ecofisiologia da germinação das espécies de plantas daninhas podem contribuir para auxiliar na elaboração de novos métodos de controle, designadamente o uso de herbicidas naturais ou mesmo seleção de plantas com alto potencial alelopático o que possibilitaria a diminuição do uso de herbicidas sintéticos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade alelopática de raízes de plantas daninhas sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de alface (*Lactuca sativa* L.), falsa-serralha (*Emilia fosbergii* Nicholson), beldroega (*Portulaca oleracea*) e capim amargoso (*Digitaria insularis* L.), pelo método sanduíche, além de identificar, por cromatografia líquida de alta eficiência, os polifenóis presentes nas raízes das plantas doadoras.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia vegetal, do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), situado em Rio Largo - AL (latitude 9° 27' S, longitude de 35° 27' W e a 127 m de altitude). Como espécies doadoras foram utilizadas as raízes das plantas *Alternanthera tenella*, *Paspalum maritimum*, *Priva bahiensis*, *Richardia grandiflora*, *Scoparia dulcis* e *Solanum paniculatum* para se avaliar a atividade alelopática sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de sementes de *Lactuca sativa* (alface), considerada sensível aos testes de alelopatia (FERREIRA; AQUILA, 2000), e as espécies daninhas, *Digitaria insularis* (capim amargoso), *Emilia fosbergii* (falsa-serralha) e *Portulaca oleracea* (beldroega).

Coleta de material

Em áreas de infestação natural do Centro de Ciências Agrárias foram coletadas as plantas doadoras, em estágio reprodutivo, e separadas posteriormente em parte aérea e parte radicular. Após a coleta, as raízes das plantas foram lavadas com água corrente para retirada das impurezas e levada a estufa de circulação de ar forçada a 60 °C. Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos guardadas em refrigeração até o momento de sua utilização.

As sementes das espécies de plantas daninhas consideradas como receptoras nesse estudo foram coletadas manualmente, também nas áreas de infestações no Centro de Ciências Agrárias, com exceção das sementes da bioindicadora *L. sativa* (alface – cultivar “americana grande”), que foram adquiridas comercialmente. Estas sementes passaram por processo de limpeza e expurgo, sendo que sua assepsia consistiu em lavagem com detergente por dois minutos e, após o enxágue com água destilada foram colocadas no agitador na rotação cinco em 100 mL de hipoclorito de sódio a 1% por 15 minutos. Posteriormente, as sementes foram lavadas com água esterilizadas e introduzidas no meio de cultivo para germinação in vitro.

Bioensaios e delineamento estatístico

Para os bioensaios, seguiu-se a metodologia apresentada por Fujii et al. (2004), depositando 5 mL de solução de agar (0,5%) em placas multidisciplinares de seis poços. Sobre a camada de agar adicionou-se a matéria seca das raízes da planta em estudo nas concentrações de 0,01; 0,02; 0,04 e 0,08 gramas (g), sendo em seguida coberta com mais 5 mL de agar na parte superior da primeira camada. No tratamento controle, não houve adição de material vegetal no agar. Após 24 horas, foi semeado, aleatoriamente, 15 sementes das plantas receptoras desse estudo.

As placas foram vedadas hermeticamente com Parafilm®, etiquetadas e mantidas, sob condições de temperatura (25°C) constantes e luminosidade controlada (fotoperíodo de 12 horas), em sala de germinação, onde foram mantidas por períodos que variaram de acordo com a espécie, a saber: *L. sativa* e *E. fosbergii* (7 dias) e, *P. oleracea* e *D. insularis* (14 dias). Após estes períodos, a porcentagem de germinação e o crescimento das plântulas foram avaliados.

O meio de cultivo utilizado foi a base de agar, preparado com sete gramas de agar em 1 litro de água e submetidos à esterilização em autoclave a 121°C durante 30 minutos. Para tanto foi montado um experimento em delineamento inteiramente casualizado (DIC), as placas multipoços foram separadas em grupos experimentais e controles, contendo 15 sementes de

cada planta em cada poço, com seis repetições para cada grupo experimental (tratados com as raízes das plantas doadoras) e controle negativo (sem material vegetal entre as camadas de agar).

Como critério para avaliação da germinação foi utilizada a protrusão e a curvatura geotrópica da radícula, contabilizando-se como plântulas normais todas que apresentaram as estruturas essenciais do embrião desenvolvidas e com, no mínimo, 2 mm de comprimento de radícula (LABOURIAU, 1983; BRASIL, 2009). No momento da avaliação do percentual de germinação foi retirado seis plântulas consideradas normais e avaliado o comprimento da parte aérea (CPA) e o comprimento da raiz primária (CPR) por meio de régua milimetrada (FUJII et al., 2004).

O monitoramento da germinação das espécies foi realizado de acordo com o recomendado pela literatura para cada espécie. Os dados obtidos foram calculados segundo a porcentagem de germinação (G%), crescimento radicular e crescimento do hipocótilo. Os cálculos da porcentagem de germinação foram obtidos segundo a equação a seguir (FERREIRA; BORGETTI, 2004). $G\% = 100 \times S_{ni}/N$ (Onde: G% = Porcentagem de germinação; S_{ni} = Número de sementes germinadas no i-ésimo dia; N = Número total de sementes colocadas para germinar em cada placa).

Perfil Fitoquímico e obtenção do extrato bruto

Após os bioensaios de pré-emergência, o meio nutritivo (agar) foi submetido a teste de prospecção fitoquímica de acordo com metodologias adaptadas de Costa (1982), Matos (1988), e Matos; Matos (1989). O meio nutritivo, ainda com o material vegetal entre as camadas, foi deixado em processo de maceração em metanol e a cada 48 horas, o material foi filtrado e o solvente rotaveaporado. Este processo foi repetido por três vezes.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), padrões e amostras

Para verificar a existência de compostos fenólicos nas camadas de agar utilizada nos testes de germinação, foram selecionados alguns padrões, adquiridos da Sigma-Aldrich e AcrosOrganics para compará-los com os compostos presentes nas amostras. Os padrões utilizados para a análise cromatográfica dos compostos fenólicos foram o ácido gálico, catecol, ácido vanílico, ácido salicílico, vanilina, seringaldeído, ácido cumárico, ácido clorogênico, cumarina, rutina, quercetina, kaempferol e ácido cafeico.

Todos os solventes utilizados para cromatografia foram de grau analítico; metanol (panreac), ácido fórmico (dinâmica) e água ultrapura obtida de um sistema Milli-Q. A determinação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando-se da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

O equipamento utilizado foi um HPLC Shimadzu, equipado com quatro bombas de alta pressão modelo LC-20AT, degaseificador modelo DGU-20A 5R, interface modelo CBM-20A, injetor automático modelo SIL-20A HT e detector modelo SPD-20A. A coluna cromatográfica empregada em ambas as análises foi uma coluna Agilent - Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm).

Para os padrões e as amostras, foram preparadas soluções-estoque com concentração de 40 mg L⁻¹ em água/álcool a 30%/70%. O método utilizado para a quantificação foi o da padronização externa. Para a construção das curvas analíticas, foram realizadas diluições de uma solução intermediária, contendo uma mistura de todos os padrões, sendo que esta foi obtida por meio da diluição das soluções-estoque previamente preparadas. Nesta solução intermediária, todos os padrões e amostras encontravam-se na concentração de 10 mg L⁻¹. Foram utilizados como fase móvel para a eluição dos compostos analisados a solução de ácido fórmico a 1% em água Milli-Q (Solvente A) e metanol (Solvente B).

As amostras e os padrões foram filtrados em membrana de polietileno de 0,45 µm (Milipore) e injetados diretamente no sistema cromatográfico. Cada injeção foi realizada três vezes no sistema CLAE, com a finalidade de se obter a média das concentrações e dos tempos de retenção. Sendo assim, a identidade dos analitos foi confirmada pelo tempo de retenção, e o perfil dos picos da amostra, comparados aos dos padrões.

As amostras e os padrões foram eluídos de acordo com o gradiente totalizando uma corrida de 80 minutos. O comprimento de onda utilizado foi de 290 nm, numa temperatura de 33°C, fluxo de 0,6 ml min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL.

TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os valores da testemunha para a germinação foram considerados 100% (porcentagem relativa), sendo os resultados de cada tratamento calculados em relação à média da testemunha, utilizando a seguinte fórmula: $G (\%) = 100 * V / T_m$. Onde: G = percentual de germinação; V = tratamento analisado (repetições); T_m = média da testemunha (%). Para as variáveis CPA e CPR, as médias apresentadas, em cm, referem-se aos dados originais. Assim como, as médias apresentadas na análise fitoquímica.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com o auxílio do programa estatístico SISVAR, de acordo com o proposto por Pereira; Santana; Ranal (2009), sendo adotadas as equações polinomiais com maior significância e coeficiente de determinação (R^2).

Sendo significativo o efeito do extrato, para determinar a CL_{50} (concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha - adaptado de CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008), os dados foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo decaimento exponencial, com dois parâmetros, representada pela equação: $f=a*\exp(-b*x)$, utilizando-se o programa Sigmaplot (STREIBIG, 1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Germinação

Neste estudo, todas as regressões das espécies doadoras *A. tenella*, *P. maritimum*, *R. grandiflora* e *S. dulcis* se ajustaram ao modelo Decaimento exponencial (**Tabela 11**), com destaque para as espécies *P. maritimum* que apresentou um comportamento com altos valores do coeficiente de determinação (R^2) maior ou igual a 0,92%. As plantas doadoras *P. bahiensis* e *S. paniculatum* não se ajustaram a este modelo de regressão, ao se avaliar todas as receptoras deste estudo, sendo diferenciada com a regressão polinomial linear¹.

A análise dos efeitos alelopáticos das raízes de plantas doadoras sobre a germinação de sementes das plantas receptoras indicou que a intensidade dos efeitos variou em função da planta avaliada e da quantidade de raízes utilizadas (**Figura 7**). A análise dos dados revelou ainda, com relação a germinação, que a interação entre as espécies receptoras e as concentrações, não foram significativas, para as espécies *A. tenella* e *P. bahiensis*, respectivamente. Entretanto, algumas interações atingiram significância (**Tabela 11**).

Tabela 11. Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo decaimento exponencial com dois parâmetros, para **germinação (G)** de sementes das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes das raízes das plantas doadoras.

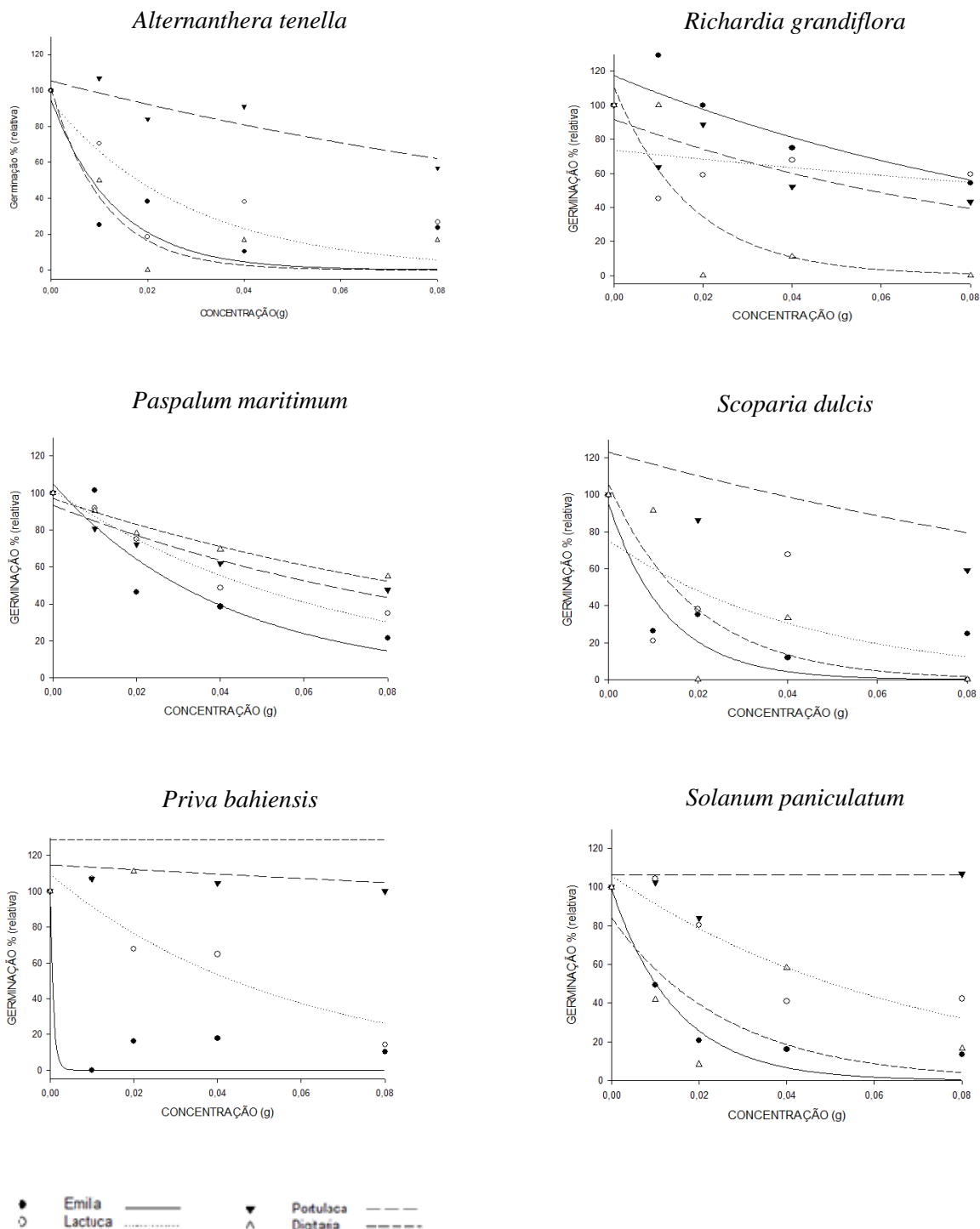
Espécie receptora	<i>Alternanthera tenella</i>			
	A	B	R^2	F
<i>L. sativa</i>	93,99	35,03	0,82	6,1274
<i>D. insularis</i>	101,46	91,27	0,93	19,9516
<i>E. fosbergii</i>	94,97	75,68	0,86	8,6373
<i>P. oleracea</i>	105,31	6,61	0,89	12,3203
<i>Paspalum maritimum</i>				
<i>L. sativa</i>	101,51	15,16	0,98	102,5680
<i>D. insularis</i>	96,85	7,74	0,98	81,5241
<i>E. fosbergii</i>	104,98	24,65	0,92	18,0469

<i>P. oleracea</i>	93,28	9,59	0,96	41,6333
<i>Priva bahiensis</i>				
<i>L. sativa</i>	109,50	17,94	0,93	20,8272
<i>D. insularis</i> ¹	124,72	138,86	0,17	0,0911
<i>E. fosbergii</i>	99,99	1340,61	0,94	25,8217
<i>P. oleracea</i> ¹	114,70	1,12	0,21	0,1516
<i>Richardia grandiflora</i>				
<i>L. sativa</i>	73,62	3,73	0,34	0,4061
<i>D. insularis</i>	110,66	58,37	0,86	9,1620
<i>E. fosbergii</i>	117,20	9,20	0,86	8,5422
<i>P. oleracea</i>	91,57	10,57	0,83	6,8318
<i>Scoparia dulcis</i>				
<i>L. sativa</i>	75,48	22,62	0,62	1,9371
<i>D. insularis</i>	106,03	51,69	0,84	7,5623
<i>E. fosbergii</i>	95,43	77,22	0,86	8,8261
<i>P. oleracea</i>	123,04	5,46	0,51	1,0641
<i>Solanum paniculatum</i>				
<i>L. sativa</i>	105,96	14,93	0,91	15,2084
<i>D. insularis</i>	84,01	37,94	0,63	1,9951
<i>E. fosbergii</i>	98,95	67,84	0,97	53,8378
<i>P. oleracea</i> ¹	100,08	210,73	0,33	0,3750

$f = a \cdot \exp(-b \cdot x)$ e $f = y_0 + a \cdot x$ (regressão linear) ¹

Os resultados demonstraram que *A. tenella*, *P. maritimum*, *P. bahiensis*, *S. dulcis* e *S. paniculatum* reduziram a porcentagem de germinação de *E. fosbergii* em maior magnitude (**Figura 7**). Enquanto que *P. oleracea* não se sensibilizou com os aleloquímicos presentes nas raízes de *P. bahiensis* e *S. paniculatum*. Esses resultados demonstram a alta resistência dessa espécie invasora a fatores adversos, característica fundamental para garantir o sucesso na ocupação de novos habitats, o que explica sua sobrevivência até mesmo nos locais mais inóspitos, como valas de esgoto, beira de rios contaminados, etc. Diferenças de sensibilidade entre espécies receptoras são comuns em trabalhos verificando alelopatia (DELACHIAVE; RODRIGUES; ONO, 1999; HOFFMANN et al., 2007; ALMEIDA et al., 2008; MARINOV-SERAFIMOV, 2010).

Figura 7: Porcentagem de germinação de sementes das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos das raízes das plantas doadoras.



As espécies *P. maritimum* e *S. dulcis* inibiram o percentual de germinação em todas as plantas receptoras, em todas as concentrações estudadas (**Figura 7**). Este resultado é interessante do ponto de vista agrônomo e ecológico porque a inibição da emergência de plantas daninhas pode manter a lavoura livre de competidoras por um período mais prolongado,

reduzindo assim, o número de aplicações de herbicidas sintéticos que podem contaminar o subsolo. Porém, as concentrações crescentes testadas de raízes de *P. bahiensis* apresentaram efeito significativo sobre a redução do percentual de germinação apenas de *E. fosbergii* e *L. sativa*.

As alterações no padrão de germinação podem resultar de diversos efeitos causados em nível primário (GUSMAN; BITTENCOURT; VESTENA, 2008). Dentre elas, Ferreira; Áquila (2000) destacam alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, na ação de mensageiros secundários, na respiração pelo sequestro do oxigênio, na conformação de enzimas e receptores, ou ainda, pela combinação destes fatores. Taveira, Silva e Loiola (2013), mencionaram que os aleloquímicos liberados no ambiente podem interferir positiva ou negativamente sobre a germinação e demais aspectos do desenvolvimento vegetal, fato observado no presente estudo.

Em relação às concentrações (**Figura 7**), os maiores efeitos inibitórios no percentual de germinação foram verificados nas concentrações de 0,04 e 0,08 g, em comparação ao controle, em *E. fosbergii* e *D. insularis*. Sendo, *E. fosbergii*, a espécie que apresentou maior sensibilidade aos aleloquímicos liberados pelas raízes da maioria das plantas doadoras. Rickli et al. (2011), verificaram que o extrato de *Azadirachta indica* sobre a germinação de *Bidens pilosa*, diminuiu a porcentagem de germinação de acordo com o aumento da concentração do extrato, sendo significativo nas concentrações de 80 e 100%, e proporcionaram 7 e 12% de germinação respectivamente.

Do mesmo modo, foi constatada a ação herbicida dos extratos metanólicos de caule e raiz de *Caryocar brasiliense*, popularmente conhecido como pequi, em ensaios de germinação de sementes de *Panicum maximum* (REZENDE et al., 2011).

Nos estudos alelopáticos, a germinabilidade (índice final de sementes germinadas) é um índice muito usado, embora não demonstre outros aspectos do processo de germinação, como atrasos, ignorando períodos de germinação inativa no decorrer do bioensaio (MAULI et al., 2009).

Pelas curvas de dose-resposta, que determina a concentração inibitória equivalente a 50% de efeito em relação à testemunha (CL_{50}), observou-se que a espécie *D. insularis* foi mais sensível aos aleloquímicos presentes nas concentrações crescentes de raízes de *A. tenella*, *R. grandiflora* e *S. dulcis*; e, que *E. fosbergii* se sensibilizou com a menor CL_{50} em *P. maritimum* e *S. paniculatum* (**Tabela 12**).

Tabela 12: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **germinação (G)** de sementes das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes de raízes das plantas doadoras.

ESPÉCIES RECETORAS				
ESPÉCIES DOADORAS	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Digitaria insularis</i>	<i>Emilia fosbergii</i>	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>A. tenella</i>	0,018	0,007	0,008	0,442
<i>P. maritimum</i>	0,047	0,082	0,029	0,065
<i>P. bahiensis</i>	0,043	0,538*	5,17	0,737
<i>R. grandiflora</i>	0,098	0,013	0,094	0,057
<i>S. dulcis</i>	0,017	0,014	0,067	0,166
<i>S. paniculatum</i>	0,050	0,013	0,010	0,237*

*CL₅₀ pelos parâmetros da regressão linear ($f = y_0 + a \cdot x$).

Comprimento da parte aérea (CPA)

Assim como na germinação, as regressões para o parâmetro **Comprimento da parte aérea** se ajustaram ao modelo Decaimento exponencial (**Tabela 13**), com exceção da planta receptora *P. oleracea* que não se ajustou a este modelo quando testada com *P. bahiensis* e *S. paniculatum*; *D. insularis*, quando testada com *P. bahiensis*; e, *L. sativa* quando testada com *R. grandiflora*, sendo diferenciada com a regressão polinomial linear¹.

A partir dos dados de biometria das plântulas, observou-se que as raízes de *P. maritimum*, *R. grandiflora*, *S. dulcis* e *S. paniculatum* apresentaram influências significativas no alongamento do hipocótilo para as concentrações utilizadas, ocorrendo maiores inibições em ordem crescente de concentração em todas as plantas receptoras. Porém, o efeito foi pouco expressivo com relação ao controle. No entanto, as raízes das plantas testes, na concentração 0,08 g influenciaram positivamente o alongamento do hipocótilo da espécie *P. oleracea* (**Figura 10**), enquanto a concentração 0,04 g apresentou efeito inibitório. *L. sativa* também foi fortemente estimulada pelas maiores concentrações de *P. bahiensis*.

Tabela 13. Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo decaimento exponencial com dois parâmetros, para **comprimento de parte aérea (CPA)** de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes das raízes das plantas doadoras.

<i>Alternanthera tenella</i>				
Espécie receptora	Parâmetros			F
	a	b	R²	
<i>L. sativa</i>	0,45	6,38	0,97	46,5591
<i>D. insularis</i>	0,52	28,95	0,53	1,2250
<i>E. fosbergii</i>	0,76	5,07	0,61	1,7855
<i>P. oleracea</i>	0,21	2,37	0,41	0,6262

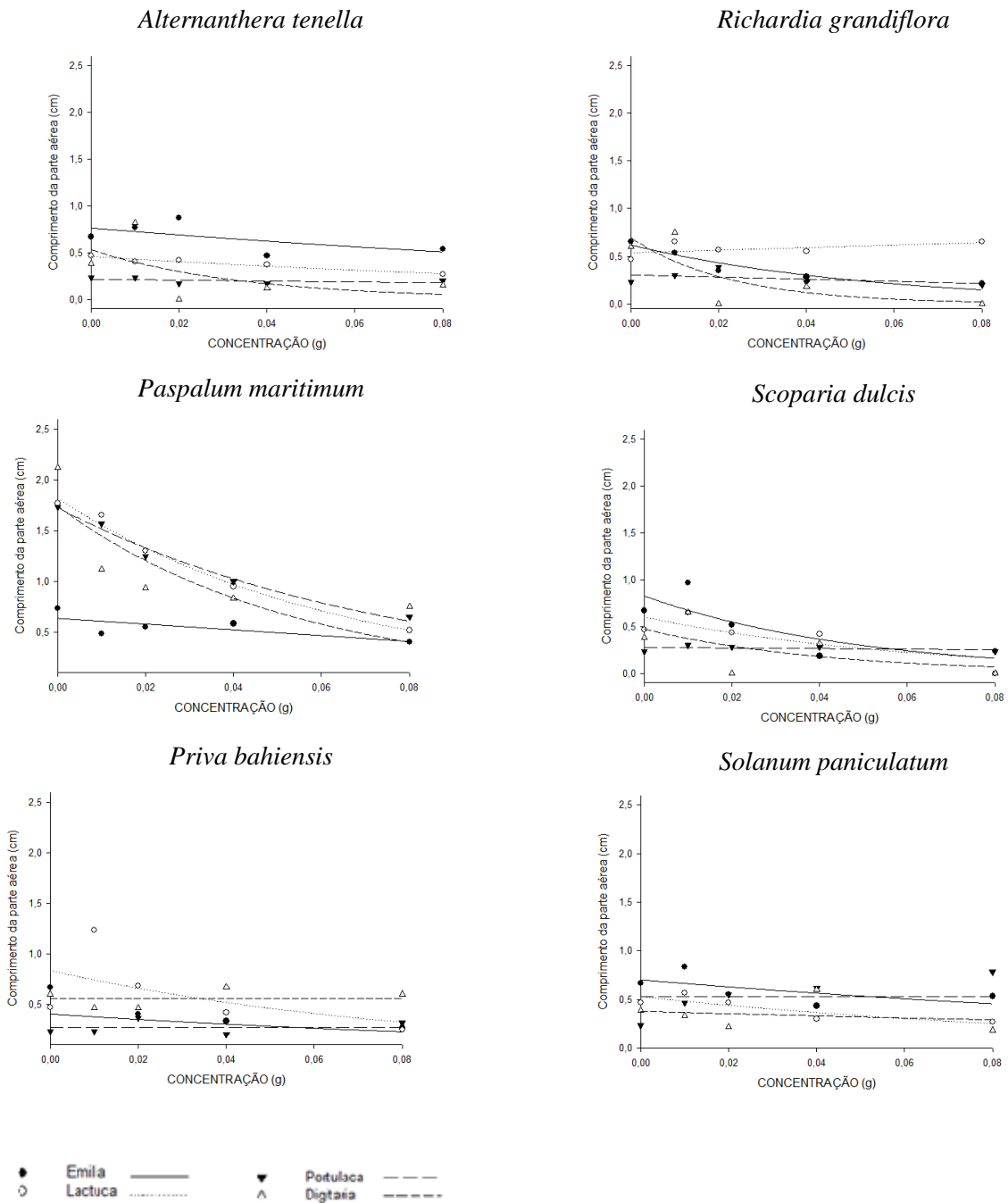
<i>Paspalum maritimum</i>				
<i>L. sativa</i>	1,81	15,72	0,99	239,3646
<i>D. insularis</i>	1,73	18,39	0,80	5,3262
<i>E. fosbergii</i>	0,64	5,55	0,72	3,3263
<i>P. oleracea</i>	1,72	13,06	0,99	195,6574
<i>Priva bahiensis</i>				
<i>L. sativa</i>	0,83	11,86	0,56	1,4270
<i>D. insularis</i> ^l	0,52	1,16	0,41	0,6151
<i>E. fosbergii</i>	0,40	7,14	0,26	0,2199
<i>P. oleracea</i> ^l	0,25	0,62	0,28	0,2671
<i>Richardia grandiflora</i>				
<i>L. sativa</i> ^l	0,53	1,33	0,54	1,2886
<i>D. insularis</i>	0,69	44,02	0,78	4,7534
<i>E. fosbergii</i>	0,61	17,91	0,94	26,6258
<i>P. oleracea</i>	0,30	3,98	0,46	0,8346
<i>Scoparia dulcis</i>				
<i>L. sativa</i>	0,60	16,49	0,82	6,1511
<i>D. insularis</i>	0,47	24,34	0,60	1,7182
<i>E. fosbergii</i>	0,82	20,50	0,79	5,2949
<i>P. oleracea</i>	0,27	1,19	0,32	0,3610
<i>Solanum paniculatum</i>				
<i>L. sativa</i>	0,52	9,27	0,86	8,7557
<i>D. insularis</i>	0,37	3,30	0,22	0,1640
<i>E. fosbergii</i>	0,70	5,39	0,60	1,7179
<i>P. oleracea</i> ^l	0,35	5,87	0,91	15,9004

$f = a \cdot \exp(-b \cdot x) + e$ e $f = y_0 + a \cdot x$ (regressão linear) ¹

Outros autores também já citaram efeito alelopático exercido por uma espécie vegetal sobre outra, não somente inibindo a germinação e impedindo o desenvolvimento normal das plântulas da espécie afetada, mas também como efeito estimulatório em alguma fase (ALMEIDA, 1988). Outros estudos de alelopatia realizados com extratos vegetais relatam que estes diferiram em relação ao CPA de plântulas de alface (SIQUEIRA, 2013; GÖTTERT, 2014; CRUZ-SILVA et al., 2015).

Segundo Baldi; Bucherelli (2005), essa resposta pode ser explicada pela interação entre os metabólitos presentes nos extratos testados e o organismo tratado, de modo que uma dose baixa estimulará a liberação de compostos celulares que atuarão produzindo efeito significativo; todavia, à medida que se elevam as concentrações e, conseqüentemente, as quantidades de metabólitos, ocorrerá maior liberação dessas substâncias que, ao invés de potencializar o efeito, em um mecanismo de feedback podem estimular ou inibir a produção de outra, resultando na perda do efeito atingido nas menores concentrações.

Figura 8: Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos das raízes das plantas doadoras.



A **Figura 8** mostra ainda que as crescentes concentrações de raízes *S. dulcis* testadas influenciaram negativamente o alongamento do hipocótilo das espécies receptoras. Mas a espécie *P. oleracea* não respondeu a esta inibição, sendo que o melhor efeito inibitório foi observado, no alongamento do hipocótilo da espécie *D. insularis* nas concentrações de 0,02, 0,04 e 0,08 g. A inibição ou o estímulo da germinação, ou ainda do crescimento de plântulas,

são evidências da atividade alelopática. Nesse sentido, a alelopatia possui potencial no manejo integrado de plantas invasoras, pela capacidade que as plantas possuem de produzirem aleloquímicos que inibem ou estimulam o crescimento de outras plantas (BUHLER, 2002).

Com exceção da receptora *D. insularis*, as raízes de *A. tenella* e *P. bahiensis* não apresentaram efeitos significativos sobre o comprimento da parte aérea das plântulas das receptoras estudadas. E, com relação a CL_{50} , *E. fosbergii* demonstrou ser a espécie mais sensível aos aleloquímicos presentes nas folhas de *R. grandiflora* (Tabela 14). Os dados obtidos para as demais espécies não se ajustaram ao modelo de regressão, impossibilitando a obtenção da curva de dose-resposta.

Tabela 14: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **Comprimento da parte aérea (CPA)** de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes de raízes das plantas doadoras.

ESPÉCIES RECETORAS				
ESPÉCIES DOADORAS	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Digitaria insularis</i>	<i>Emilia fosbergii</i>	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>A. tenella</i>	0,732	0,156	0,820	2,329
<i>P. maritimum</i>	0,211	0,182	0,785	0,256
<i>P. bahiensis</i>	0,344	42,431*	0,676	79,59*
<i>R. grandiflora</i>	37,107*	0,097	0,013	1,278
<i>S. dulcis</i>	0,268	0,191	0,200	4,350
<i>S. paniculatum</i>	0,488	1,478	0,790	8,450*

* CL_{50} pelos parâmetros da regressão linear ($f = y_0 + a \cdot x$).

Comprimento primário da raiz (CPR)

Neste trabalho, as regressões para o parâmetro também se ajustaram ao modelo Decaimento exponencial (Tabela 15), com exceção de *L. sativa* testada com *A. tenella*; *E. fosbergii*, testada com *R. grandiflora*; e, *P. oleracea* quando testada com *S. paniculatum*, sendo diferenciada com a regressão polinomial linear¹.

O comprimento da radícula das plântulas das espécies receptoras também foi afetado negativamente pelas maiores concentrações de raízes das plantas doadoras analisadas. As plântulas apresentaram comprimento de radícula inferior a 1,0 cm na presença das raízes de *P. maritimum* e *S. dulcis*, na concentração de 0,08g.

Tabela 15. Estimativas do parâmetro a e b do coeficiente de determinação (R^2) do modelo Decaimento exponencial com dois parâmetros para **comprimento primário de raiz (CPR)** de plântulas das espécies receptoras, utilizando extrato crescentes das raízes das plantas doadoras.

<i>Alternanthera tenella</i>				
Espécie receptora	Parâmetros			F
	a	b	R^2	
<i>L. sativa</i> ¹	1,50	5,50	0,31	0,3295
<i>D. insularis</i>	4,25	85,75	0,96	35,1143
<i>E. fosbergii</i>	2,05	11,03	0,79	4,9521
<i>P. oleracea</i>	2,22	20,99	0,59	1,6578
<i>Paspalum maritimum</i>				
<i>L. sativa</i>	2,07	14,00	0,99	167,8057
<i>D. insularis</i>	1,61	9,43	0,87	9,3367
<i>E. fosbergii</i>	0,87	3,17	0,83	6,9869
<i>P. oleracea</i>	2,09	12,98	0,99	158,7596
<i>Priva bahiensis</i>				
<i>L. sativa</i>	2,20	12,75	0,72	3,3328
<i>D. insularis</i>	1,55	4,83	0,64	2,1689
<i>E. fosbergii</i>	1,63	1244,90	0,93	21,4828
<i>P. oleracea</i>	2,29	11,23	0,61	1,8070
<i>Richardia grandiflora</i>				
<i>L. sativa</i>	2,30	0,98	0,15	0,0688
<i>D. insularis</i>	1,72	76,50	0,94	22,7330
<i>E. fosbergii</i> ¹	0,67	2,37	0,67	2,4871
<i>P. oleracea</i>	1,43	37,56	0,77	4,5588
<i>Scoparia dulcis</i>				
<i>L. sativa</i>	1,94	17,88	0,80	5,3237
<i>D. insularis</i>	4,12	70,01	0,86	8,5807
<i>E. fosbergii</i>	1,84	25,26	0,89	12,5403
<i>P. oleracea</i>	2,48	15,31	0,69	2,7497
<i>Solanum paniculatum</i>				
<i>L. sativa</i>	1,56	37,02	0,87	9,4493
<i>D. insularis</i>	4,02	80,96	0,92	16,9258
<i>E. fosbergii</i>	1,65	31,11	0,89	12,5319
<i>P. oleracea</i> ¹	1,27	5,20	0,56	1,4130

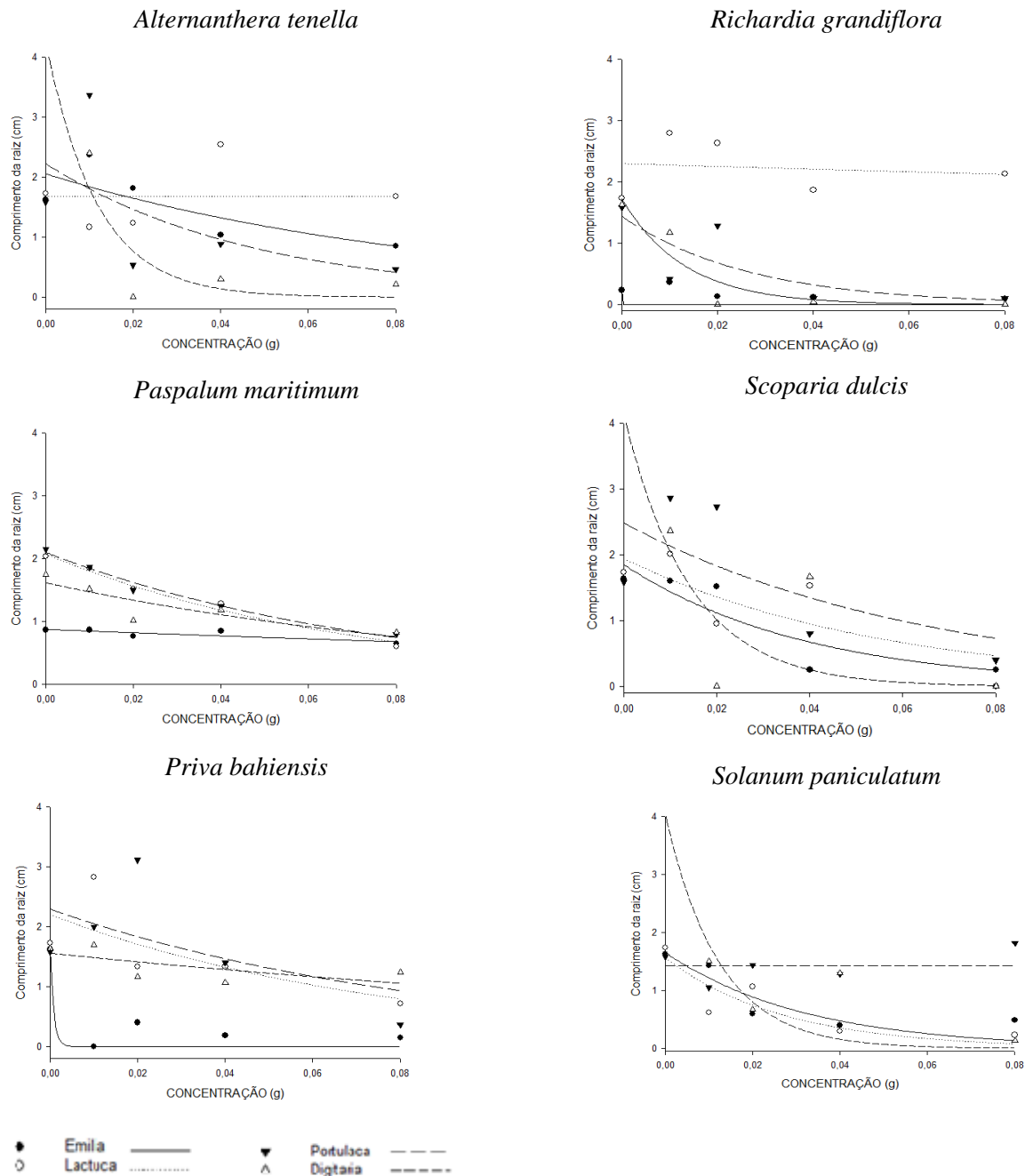
$$f = a \cdot \exp(-b \cdot x) \text{ e } f = y_0 + a \cdot x \text{ (regressão linear)}^1$$

Da mesma forma, as espécies *R. grandiflora* e *S. paniculatum* também apresentaram redução do comprimento primário da raiz inferior a 1,0 cm, com exceção de *L. sativa* e *P. oleracea*, respectivamente. Os tratamentos com *A. tenella* e *P. bahiensis* foi o menos efetivo, resultando em comprimento de radícula próximo de 1,5 cm, embora também diferente do controle, que apresentou comprimento acima de 2,5 cm (**Figura 9**).

O crescimento radicular das espécies consideradas receptoras neste estudo foi reduzido conforme aumentava a concentração de raízes da espécie avaliada. Mas, na concentração de 0,08 g de raízes de *A. tenella* verificou-se (**Figura 9**) um estímulo no crescimento da raiz de *L. sativa* o que sugere que os aleloquímicos liberados pelo sistema radicular dessa espécie

apresenta um efeito favorável ao crescimento e ao desenvolvimento da radícula desta receptora, caracterizando também, efeito alelopático (CARVALHO; FONTANÉTTI; CANÇADO, 2002).

Figura 9: Comprimento primário da raiz (CPR) de plântulas das plantas receptoras em função das concentrações crescentes dos extratos das raízes das plantas doadoras.



Melhorança-Filho et al. (2012), ao estudar os efeitos do extrato de partes aéreas de *Cymbopogon citratus* (DC), reportaram a ocorrência de interferência negativa no desenvolvimento radicular de *L. sativa*, em um efeito concentração dependente. O conceito de alelopatia envolve tanto os efeitos deletérios como os estimulatórios. Aparentemente, estes

últimos estão associados à concentração da substância, manifestando-se em situação de baixas concentrações (RICE, 1984).

Observou-se também, que nas maiores concentrações dos extratos de raízes de *P. bahiensis* houve inibição do crescimento radicular nas plântulas das espécies receptoras, principalmente em *E. fosbergii*. No entanto, na concentração de 0,04 e 0,08 g ocorreu deterioração dos tecidos e, conseqüentemente, a morte das plântulas de *E. fosbergii*. Da mesma forma, o aparecimento de plântulas anormais, com raízes primárias atrofiadas e defeituosas, com ausência de raiz secundária e necrose radicular foi observado em plântulas submetidas aos extratos mais concentrados de *Persea americana* Mill. (BORELLA et al., 2009).

Esses dados demonstram que o escurecimento e o enfraquecimento das raízes são efeitos prejudiciais que podem indicar a ação de substâncias tóxicas nos extratos estudados e que os aleloquímicos das raízes de *P. bahiensis*, que se acumularam em concentrações bioativas testadas, afetaram adversamente o crescimento das raízes das plantas receptoras desse estudo. Compostos químicos que muitas vezes apresentam efeito alelopático também podem ter efeitos genotóxicos e mutagênicos (NUNES; ARAÚJO, 2003).

A **Figura 9** demonstra que as crescentes concentrações de raízes *S. dulcis* estudadas influenciaram negativamente o crescimento radicular das espécies receptoras. Sendo que o melhor efeito inibitório foi observado em *D. insularis* nas concentrações de 0,02, 0,04 e 0,08 g. Os dados disponíveis na literatura mostram que os efeitos alelopáticos dependem, entre outros fatores, da concentração dos aleloquímicos, e quanto mais elevada for a concentração do aleloquímico, maior a sua ação deletéria sobre os processos metabólicos da planta-alvo (RICE, 1984; SMITH, 1989).

Os diferentes tratamentos com raízes de *P. maritimum*, *R. grandiflora* e *S. paniculatum* causaram diminuição do crescimento do sistema radicular das plântulas das espécies receptoras observadas e os maiores efeitos foram verificados nas concentrações 0,04 e 0,08 g de raízes. Os resultados deste trabalho são um indicativo de que, nas maiores doses testadas, as raízes apresentam maior concentração de substâncias potencialmente alelopáticas inibitórias. As raízes de plantas alelopáticas desempenham papel importante no ambiente pois são responsáveis por uma ampla gama de interações dentro das comunidades bióticas através da liberação de exsudatos no solo. Os exsudatos radiculares da planta doadora frequentemente são absorvidos por sementes, plantas daninhas ou plantas cultivadas, e são geralmente responsáveis pelos efeitos nocivos tanto na germinação como no desenvolvimento inicial desses grupos.

Mas, com relação a variável espécie receptora, *P. oleracea* não apresentou sensibilidade aos aleloquímicos liberados pelas raízes das plantas doadoras (**Tabela 16**). E, *E. fosbergii*

apresentou menor desenvolvimento radicular, desse estudo. Sendo, portanto a espécie que apresentou a menor CL₅₀, quando testada com *P. bahiensis*. E, a espécie *D. insularis*, pelas curvas de dose-resposta, foi a que apresentou a menor CL₅₀ quando testada com *A. tenella*, *R. grandiflora*, *S. dulcis* e *S. paniculatum* (Tabela 16).

Tabela 16: Concentração letal a 50% baseada nos parâmetros **a** e **b** do modelo Decaimento exponencial para **Comprimento primário da raiz (CPR)** de plântulas das espécies receptoras, submetidas as concentrações crescentes de raízes das plantas doadoras.

ESPÉCIES RECETORAS				
ESPÉCIES DOADORAS	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Digitaria insularis</i>	<i>Emilia fosbergii</i>	<i>Portulaca oleracea</i>
<i>A. tenella</i>	1,603*	0,028	0,289	0,148
<i>P. maritimum</i>	0,227	0,365	1,278	0,243
<i>P. bahiensis</i>	0,244	0,723	0,002	0,274
<i>R. grandiflora</i>	3,111	0,044	20,769*	0,094
<i>S. dulcis</i>	0,181	0,035	0,130	0,196
<i>S. paniculatum</i>	0,093	0,031	0,109	9,369*

*CL₅₀ pelos parâmetros da regressão linear ($f = y_0 + a \cdot x$).

Análises Fitoquímicas (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

A análise fitoquímica, para a detecção de polifenóis nos extratos das raízes das plantas doadoras deste estudo (*A. tenella*, *P. maritimum*, *P. bahiensis*, *R. grandiflora*, *S. dulcis* e *S. paniculatum*) foi positiva para oito compostos fenólicos. Uma vez que estes compostos fenólicos foram identificados nas raízes das plantas doadoras deste estudo (Tabela 17), é possível supor que tais efeitos inibitórios sobre a germinação de sementes, o comprimento da parte aérea e o desenvolvimento do sistema radicular das plântulas das espécies receptoras se devam em grande parte a essas substâncias, que podem ter atuado sobre a permeabilidade das membranas e/ou sobre o balanço hídrico e a aquisição de nutrientes pelo sistema radicular.

Tabela 17: Quantificação dos Polifenóis presentes nos extratos das raízes das plantas daninhas doadoras deste estudo.

POLIFENOIS (raiz)	<i>Alternanthera tenella</i>	<i>Paspalum maritimum</i>	<i>Richardia grandiflora</i>	<i>Scoparia dulcis</i>	<i>Solanum paniculatum</i>
ácido clorogênico	0,000	0,000	0,000	1,049	0,000
ácido cafeico	2,555	2,581	2,175	2,479	1,965
ácido cumárico	0,000	0,000	0,000	0,000	0,712
Cumarina	0,561	0,633	0,544	0,569	0,492
ácido salicílico	1,027	0,736	0,499	0,997	0,782
Rutina	1,345	0,000	0,000	1,621	1,408
Quercetina	0,685	0,763	0,517	0,685	0,855
Kaempferol	0,641	0,792	0,798	0,729	0,819

As espécies estudadas apresentaram forte presença destes compostos em suas raízes, principalmente, ácido cafeico, cumarina, ácido salicílico, quercetina e kaempferol, que foram detectados nas raízes de todas as plantas doadoras deste estudo. *A. tenella* e *S. paniculatum* ainda apresentaram rutina em suas raízes, enquanto que *S. dulcis*, além de apresentar rutina em sua composição, foi a única dentre as estudadas que se detectou ácido clorogênico, o que pode explicar o fato de ser a espécie que mais inibiu a germinação, o alongamento do hipocótilo e o desenvolvimento radicular nas plantas receptoras estudadas.

Os compostos fenólicos são aleloquímicos bem conhecidos e identificados em outros estudos com plantas consideradas alelopáticas, pois correspondem à classe de metabólitos secundários na qual se encontra a maior parte dos compostos apontados como tendo atividade alelopática (RICE, 1984), afetando a elasticidade da parede celular, além de bloquear a respiração mitocondrial, por exemplo (WEIR; PARK; VIVANCO, 2004); Dentre os compostos fenólicos, encontram-se os ácidos fenólicos que atuam induzindo o aumento da atividade de enzimas oxidativas, contribuindo para a redução do crescimento radicular (FERRARESE et al., 2000). Chon; Kim (2002) observaram que o extrato de *Medicago sativa* L. (Fabaceae) apresentou maior inibição do crescimento radicular e, dentre os compostos identificados, estão o ácido ferúlico e ácido cafeico.

Perez; Moraes (1991), estudando o efeito da cumarina na germinação de sementes de *Prosopis juliflora* (Sw) D.C., também verificaram que a adição deste composto fenólico no meio germinativo acarretou na redução da porcentagem de germinação, corroborando com os resultados do presente estudo.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se ainda, que nas concentrações 0,04 e 0,08 g dos extratos de raízes de *P. bahiensis* ocorreu deterioração dos tecidos e, conseqüentemente, a morte das plântulas de *E. fosbergii*. Esses dados demonstram que compostos químicos que muitas vezes apresentam efeito alelopático também podem ter efeitos genotóxicos e mutagênicos (NUNES; ARAÚJO, 2003). Resultados similares foram encontrados anteriormente por Medeiros; Luckesi (1993), Souza Filho; Rodrigues; Rodrigues (1997) e Souza Filho; Alves (2000). Esses resultados também corroboram com os encontrados por Colpas; Ono; Rodrigues (2003), trabalhando com vários compostos secundários, entre eles, a cumarina, composto presente em *Mikania glomerata*, que evidenciaram forte atividade inibitória sobre a germinação de sementes de soja (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Estes resultados ainda detectaram a presença de flavonoides que têm uma grande variedade de funções fisiológicas nas plantas e, ainda apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir a germinação e o crescimento das plantas (HOAGLAND; WILLIAMS, 2004;

SHIMOJI; YAMASAKI, 2005; BAIS et al., 2006; PEER; MURPHY, 2007). Foi identificado a presença dos flavonoides (kaempferol e quercetina), no extrato de *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae), e houve uma redução da germinação e do crescimento de plântulas de *Sorghum bicolor*, quando submetidas ao extrato contendo esses compostos (FRANCO et al., 2016). Flavonoides (rutina e quercetina) e ácidos fenólicos (ácido clorogênico e ácido cafeico) 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. Portanto, estes resultados são semelhantes aos resultados do presente estudo, pois interferiram, em intensidades variadas nos parâmetros avaliados neste trabalho.

Associando-se os dados da literatura sobre a ação de cada metabólito secundário na planta, com os compostos encontrados neste estudo, é possível inferir que a inibição da germinação e a redução do crescimento de plântulas das espécies receptoras podem ser devidas à interferência dos compostos pertencentes ao grupo dos flavonoides e ácidos fenólicos encontrados nas raízes das plantas doadoras desse estudo, sendo necessários mais estudos para avaliar se eles atuam de forma isolada ou sinergicamente.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, os efeitos potencialmente alelopáticos promovidos pelas raízes das espécies doadoras, neste trabalho, foram verificados nas maiores concentrações, assumindo um aspecto relevante em termos de possibilidade de empregar a alelopatia em estratégia de manejo de plantas daninhas. Com destaque para a espécie *S. dulcis*, que produziu as inibições mais efetivas sobre a germinação das sementes, comprimento da parte aérea e comprimento primário da raiz das plantas receptoras; e, foram detectados em suas raízes a maior quantidade de polifenóis testados neste estudo.

Portanto, com base nos resultados obtidos, é possível sugerir que polifenóis (incluindo ou não os compostos detectados) estavam presentes nos extratos e ocasionaram tais efeitos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F.S. A alelopatia e as plantas. (**Circular Técnica**, 53). Londrina: Iapar, out. 1988.

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.

BAIS, H.P. et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annual Review. **Plant Biology**, v. 57, p. 233–266, 2006.

BALDI, E; BUCHERELLI, C. The inverted “u-shaped” dose-effect relationships in learning and memory: Modulation of Arousal and Consolidation. **Non linearity Biol Toxicologic Medic**, v. 3, p. 9–21, 2005.

BRASIL, 2009. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília.

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.

BUHLER, D. D. Challenges and opportunities for integrated weed management. **Weed Science**, v. 50, p. 273-280, 2002.

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

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

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.

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**, p. 3-30. 2008.

COLPAS, F.T.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Effects of some phenolic compounds on soybean seed germination and on seed-borne fungi. **Brazilian Archives Biology and Technology**, v.46, n.2, p.155-161, 2003.

COSTA, A. F. Farmacognosia. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1982.

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.

CRUZ-SILVA, C.T.A.; NASU, E.G.C.; PACHECO, F.P.; NOBREGA, L.H.P. Allelopathy of *Bidens sulphurea* L. aqueous extracts on lettuce development. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.4, p.679-684, 2015.

EVARISTO, I.M.; LEITÃO, M.C. Identificação e Quantificação por DAD-HPLC, da fração fenólica contida em folhas de *Quercus suber* L. **Lusitana**. v. 9, n. 2, p. 135-141, 2001.

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

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

FRANCO, D.M. et al. Seasonal variation in allelopathic potential of the leaves of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p.157-165, 2016.

FUJII, Y., SHIBUYA, T., NAKATANI, K., ITANI, T., HIRADATE, S., PARVEZ, M. M. Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. **Weed Biology and Management**, v. 4, p. 19-23, 2004.

GALON, L. et al. Manejo biológico de plantas daninhas – breve revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.15, n.1, p.116-125, 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.

GÖTTERT, V. Efeito alelopático e citotóxico de *Phyllanthus niruri* L. sobre a germinação e índice mitótico de *Lactuca sativa* L. Alta Floresta-MT: Universidade do Estado de Mato Grosso, Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), 28p. **Universidade do Estado de Mato Grosso**, Alta Floresta, 2014.

GUSMAN, G. S., BITTENCOURT, A. H. C., VESTENA, S. Alelopatia de *Baccharis dracunculifolia* DC. sobre a germinação e desenvolvimento de espécies cultivadas. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 30, p. 119-125, 2008.

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**, p.315-41, 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.
- LABOURIAU, L. G. A Germinação das Sementes. Washington D.C: **Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos**. 174 p. 1983
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Vol.01. Instituto plantarum de estudos da flora Ltda. 5. ed. **Nova Odessa** – SP, 2008.
- 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. Fortaleza/CE: Edições **UFC**, 1988.
- MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. Farmacognosia. Fortaleza/CE: Edições **UFC**, 1989.
- MAULI, M. M. et al. Alelopatia de Leucena sobre soja e plantas invasoras. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.1, p. 55-62, 2009.
- MEDEIROS, A.R.M.; LUCCHESI, A.A. Efeitos alelopáticos da ervilhaca (*Vicia sativa* L.) sobre a alface em testes de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.1, p.9-14, 1993.
- MELHORANÇA FILHO, A.L.; DA SILVA, J.E. N.; OLIVEIRA E SILVA, R.G. P.; 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**, v. 8, 2012.
- NUNES, A.P.M.; ARAUJO, A.C. Ausência de genotoxicidade de esteviosídeo em *E. coli*. In: SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, **Anais** 10, p.15. 2003.
- PEER, W.A.; MURPHY, A.S. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 556–563, 2007.
- PEREZ, S.C.J.G.A.; MORAES, J.A.P.V. Efeito DA Cumarina e de sua interação com gibberelina na germinação de *Prosopis juliflora* (Sw) D.C. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.9, p.1493-1501, 1991.
- REZENDE, A.A.G.; HERNANDEZ-TERRONES, G.M.; REZENDE, C.L.M.D. Estudo do potencial alelopático do extrato metanólico de raiz e caule de *Caryocar brasiliense* Camb. (Pequi). **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 460-472, 2011.
- RICE, E. L. Allelopathy. Second Edition. London: Academic Press Inc. 423 p. 1984.

- RICKLI, H.C.; FORTES, A.M.T.; SILVA, P.S.S.; PILATTI, D.M.; HUTT, D.R. Efeito alelopático de extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. Em alface, soja, milho, feijão e picão-preto. **Ciências Agrárias**, v.32, p.473-484, 2011.
- RIGON, C.A.G.; SALAMONI, A.T., CUTTI, L.; AGUIAR, A.C.M. Potencial alelopático de extratos de mamoneira sobre a germinação e crescimento de azevém. **Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 7, n. 2, p. 1-7, 2013.
- SHAH, A.N. et al. Allelopathic potential of oil seed crops in production of crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 23, n.15, p.14854-14867, 2016.
- SHIMOJI, H.; YAMASAKI, H. Inhibitory effects of flavonoids on alternative respiration of plant mitochondria. **Biologia Plantarum**, v. 49, p. 117-119, 2005.
- SIQUEIRA, K.L. Utilização de sementes de *Lactuca sativa* L. como ensaio biológico para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de *Genipa americana* L. Monografia – Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 44p. 2013.
- SMITH, A. E. The potential allelopathic characteristics of bitter sneezeweed (*Helenium amarum*). **Weed Science**, v. 37, p. 665-669, 1989.
- SOUZA FILHO, A.P., RODRIGUES, L.R.A., & RODRIGUES, T.J.D. Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, p. 165-170, 1997.
- 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.; ALVES, S.M. (Eds.). Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 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**. 954p. 2013.
- TAVEIRA, L.K.P.D., SILVA, M.A.P. & LOIOLA, M.I.B. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 325-331, 2013.
- VICENTE, J. R. et al. Environment and dispersal paths override life strategies and residence time in determining regional patterns of invasion by alien plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2014.
- WEIR, T.L.; PARK, S.W.; VIVANCO, J.M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Plant Biology**, v. 7, p. 472-479, 2004.

APÊNDICES

Tabela 1: Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da parte radicular (CPR) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) de folhas das plantas doadoras e da interação entre esses fatores (ER*C).

<i>Alternanthera tenella</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CRA
ER	11056,8172**	2,0791**	5,9511**
C	29543,4101**	0,7692**	13,9785**
ER*C	3024,0078**	0,3752**	3,6588**
C.V. (%)	44,07	40,62	37,37

<i>Paspalum maritimum</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CRA
ER	11302,5831 **	13,9313 **	12,3985 **
C	10383,7685 **	1,5855 **	7,4907 **
ER*C	869,0651 **	0,2601 **	1,5772 **
C.V. (%)	9,93	16,24	31,44

<i>Priva bahiensis</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	29064,8727**	0,3389**	2,8672**
C	15113,1830**	0,6786**	9,7592**
ER*C	3763,4729**	0,2819**	16,435**
C.V. (%)	53,05	37,34	36,12

<i>Richardia grandiflora</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	16921,2721**	0,3696**	2,5712 **
C	25262,3200**	1,1057**	8,1754 **
ER*C	5453,4806**	0,3174**	1,5683 **
C.V.(%)	64,93	36,40	47,22

<i>Scoparia dulcis</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	1985,5510**	0,9763**	2,4069**
C	39059,2107**	1,2490**	24,4442**
ER*C	874,1965*	0,1813**	2,4483**
C.V.(%)	56,14	32,63	29,84

<i>Solanum paniculatum</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	25470,6214**	0,9180**	7,7620**
C	12959,8004**	0,5851**	14,2789**
ER*C	2261,0157**	0,4088**	4,3342**
C.V.(%)	37,57	21,92	31,14

Tabela 2: Resumo da análise de variância (valores de F) para porcentagem de germinação (G), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da parte radicular (CPR) de plântulas de espécies receptoras (ER) em função de diferentes concentrações (C) do tratamento com raízes de e da interação entre esses fatores (ER*C).

<i>Alternanthera tenella</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	16626,6103**	1,1825**	0,5749 ^{ns}
C	19839,2645**	0,3155**	13,3142**
ER*C	2083,3410 ^{ns}	0,1718**	6,3368**
C.V.(%)	52,86	31,97	30,98
<i>Paspalum maritimum</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	1494,0264**	3,3080**	3,1443**
C	14994,9973**	3,4759**	3,4325**
ER*C	671,0661**	0,3996**	0,3315**
C.V.(%)	11,07	8,84	7,51
<i>Priva bahiensis</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	59589,4827**	0,8353**	9,2405**
C	4649,7782 ^{ns}	0,0838**	4,9781**
ER*C	6405,8444**	0,4038**	2,6068**
C.V.(%)	59,57	25,39	37,87
<i>Richardia grandiflora</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	12289,0684**	0,5646**	24,3245**
C	14605,3924**	0,3797**	2,9246**
ER*C	4354,7980**	0,2037**	1,6603**
C.V.(%)	50,41	35,44	35,83
<i>Scoparia dulcis</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	29157,1432**	0,4143**	2,7698**
C	21873,8317**	0,9049**	18,4428**
ER*C	5457,9836**	0,1751**	4,7318**
C.V.(%)	44,60	26,02	28,68
<i>Solanum paniculatum</i>			
Fonte de variação	G	CPA	CPR
ER	28140,7291**	0,4060**	4,2322**
C	11966,4466**	0,0547*	9,8377**
ER*C	4032,6271**	0,1969**	3,0939**
C.V.(%)	36,10	27,09	35,51

CROMATOGRAMAS

PADRÃO

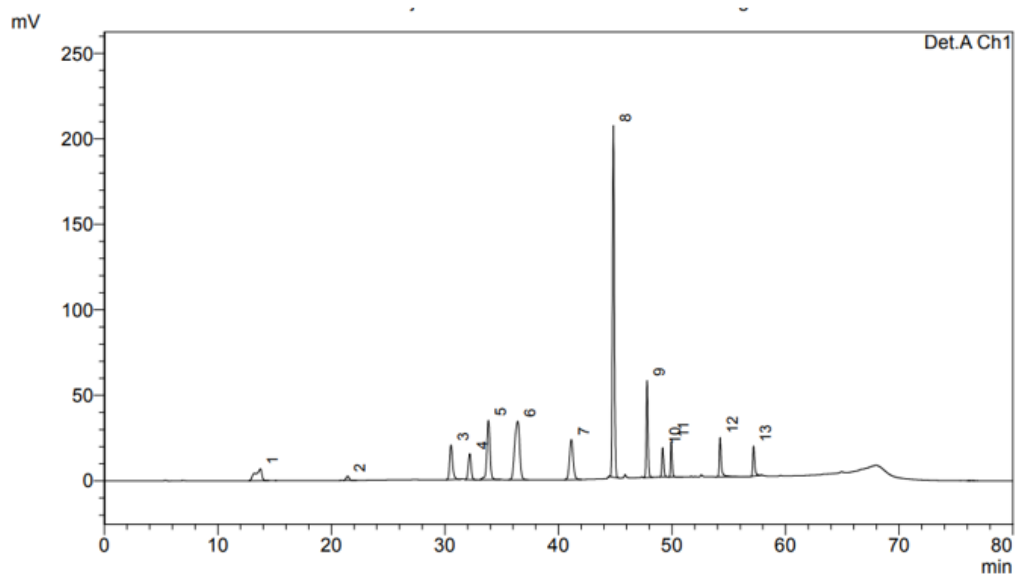
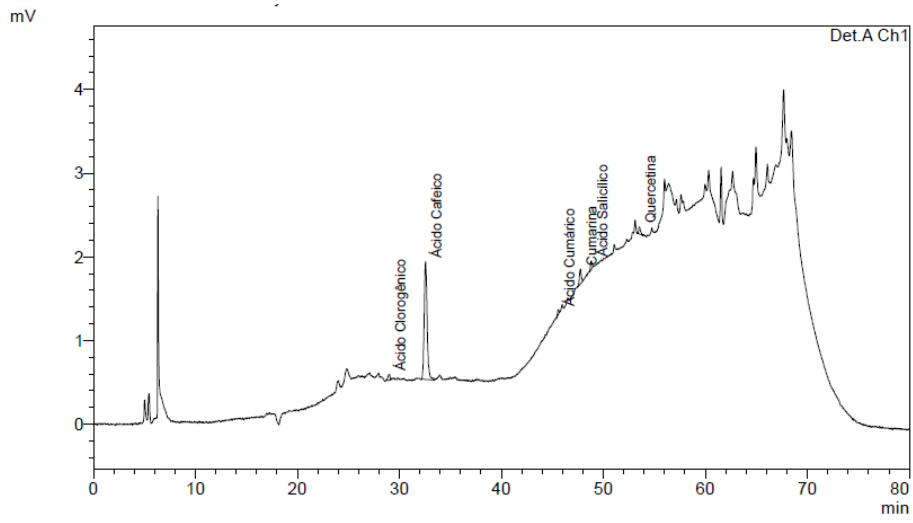


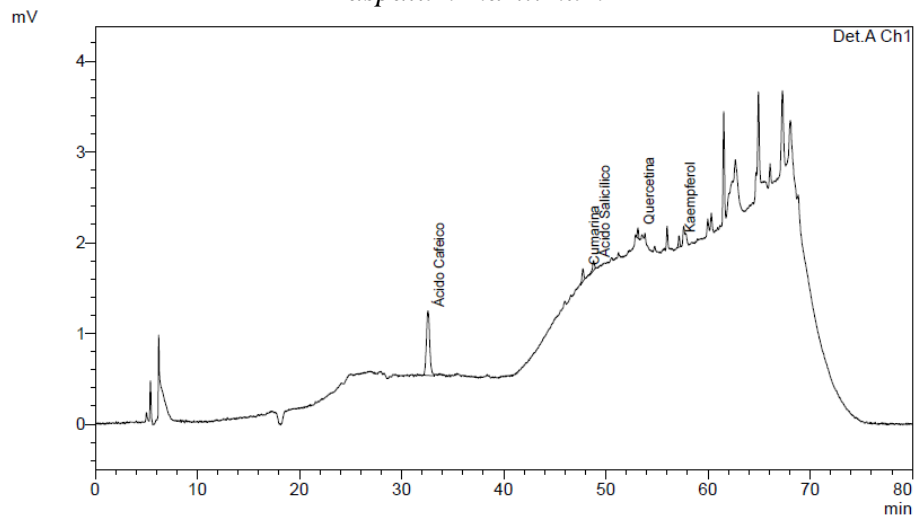
Gráfico 1. Cromatograma da solução de polifenóis com detecção espectrofotométrica de 290 nm. Identificação dos picos: 1= ácido gálico; 2= catecol, 3= ácido clorogênico, 4= ácido vanílico, 5= ácido cafeico, 6= vanilina, 7= seringaldeído, 8= ácido cumárico, 9= cumarina, 10= ácido salicílico, 11= rutina, 12= quercetina; 13= kaempferol.

PARTE AÉREA

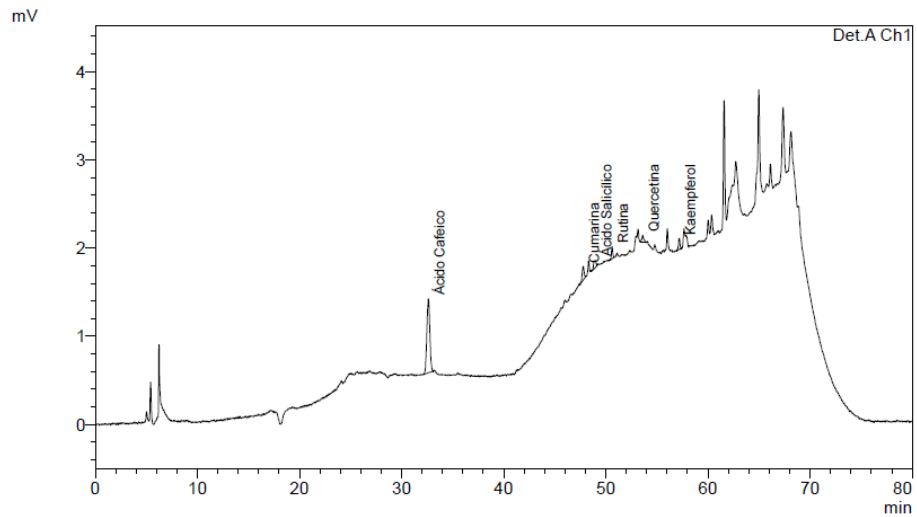
Alternanthera tenella

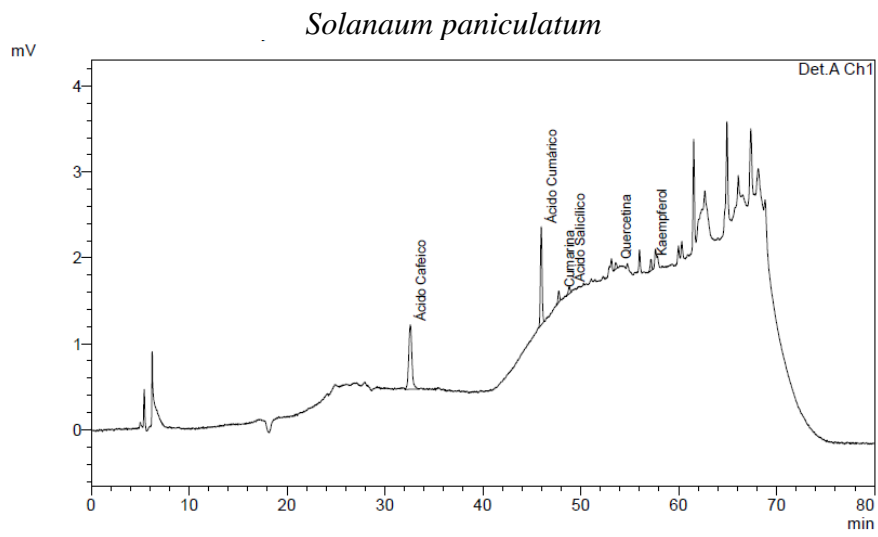
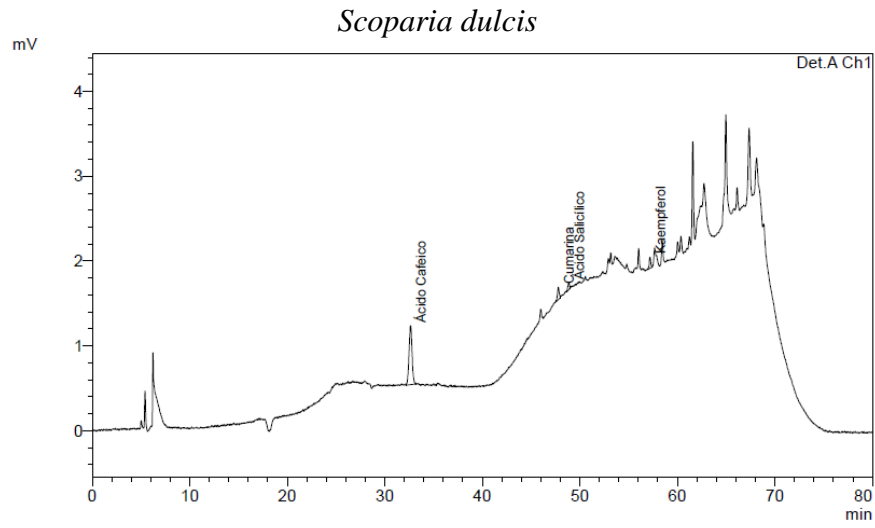
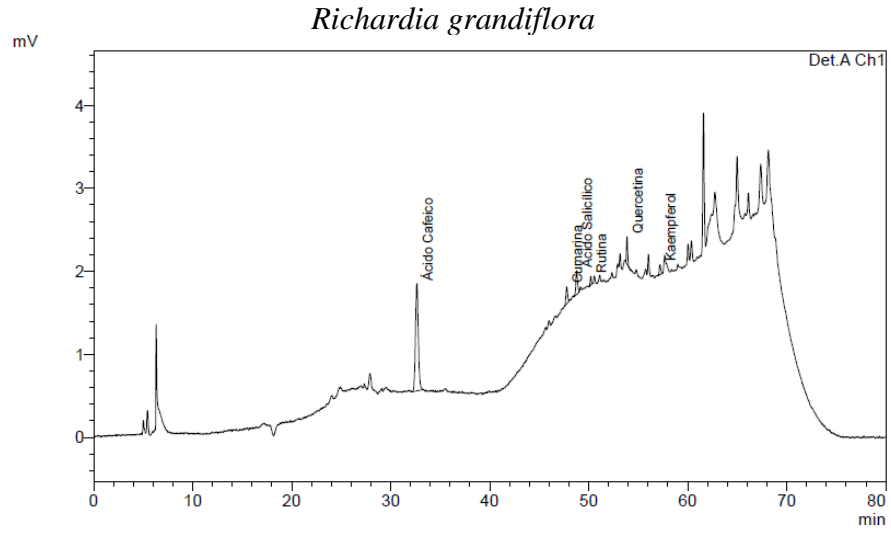


Paspalum maritimum



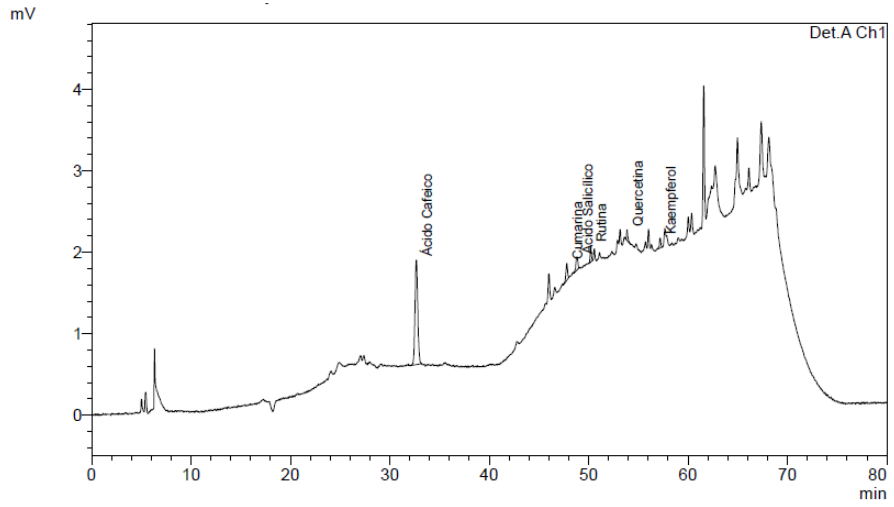
Priva bahiensis



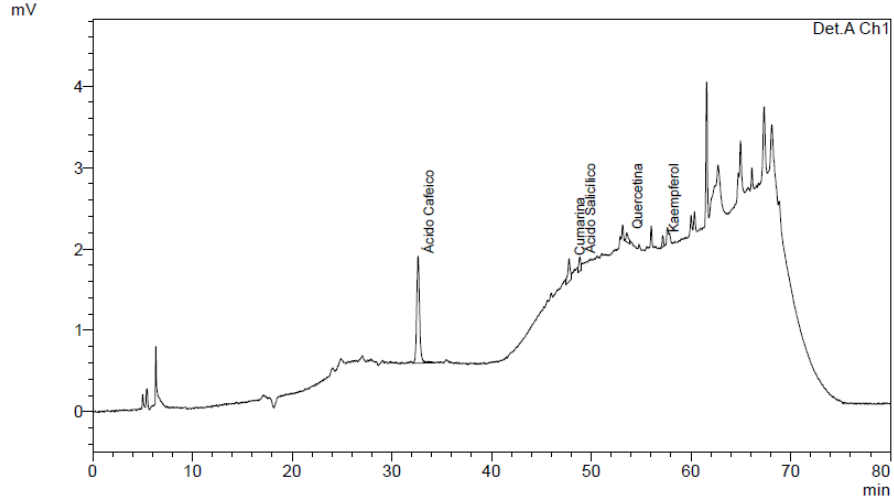


RAIZ

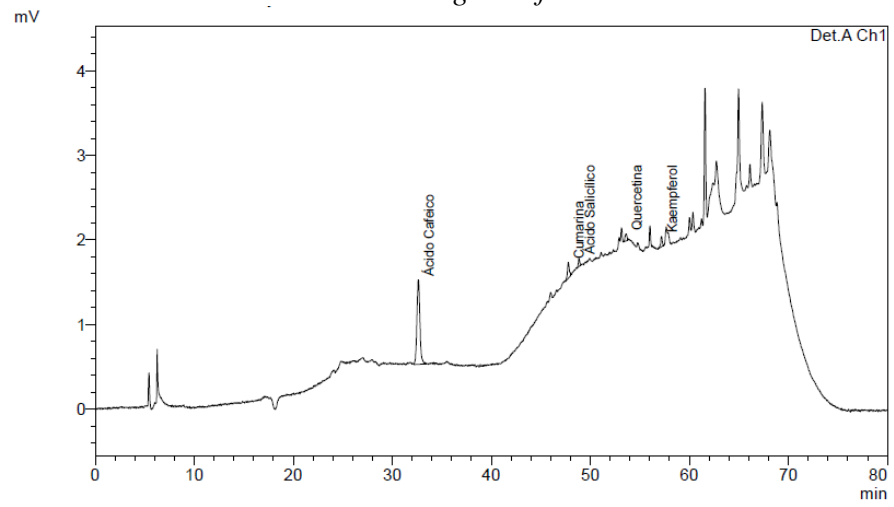
Alternanthera tenella

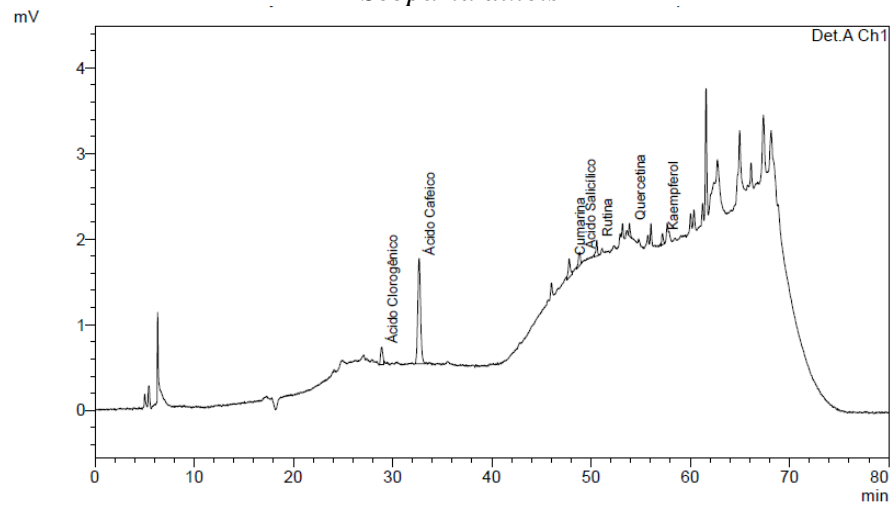


Paspalum maritimum



Richardia grandiflora



Scoparia dulcis*Solanum paniculatum*