

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E ZOOTECNIA**  
**Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical**

**FITOTOXICIDADE E METABOLOMA DE EXTRATOS FOLIARES**  
**AQUOSOS DE ESPÉCIES DO CERRADO**

**SHARMELY HILARES VARGAS**

CUIABÁ-MT

2020

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E ZOOTECNIA**  
**Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical**

**FITOTOXICIDADE E METABOLOMA DE EXTRATOS FOLIARES**  
**AQUOSOS DE ESPÉCIES DO CERRADO**

**SHARMELY HILARES VARGAS**

Engenheira Agrônoma

Orientadora: Profa Dra Elisangela Clarete Camili

Coorientadora: Profa Dra Maria de Fátima Barbosa Coelho

Dissertação apresentada à Faculdade de Agronomia e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

CUIABÁ-MT

2020

### **Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.**

H641f Hilares Vargas, Sharmely.  
FITOTOXICIDADE E METABOLOMA DE EXTRATOS  
FOLIARES AQUOSOS DE ESPÉCIES DO CERRADO /  
Sharmely Hilares Vargas. -- 2020  
101 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Elisangela Clarete Camili.  
Co-orientadora: Maria de Fátima Barbosa Coelho.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato  
Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical,  
Cuiabá, 2020.  
Inclui bibliografia.

1. RMN. 2. alelopatia. 3. planta medicinal. 4. metabolitos.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a).

**Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL  
Av. Fernando C. da Costa, nº 2367 – Cidade Universitária- 78060-900 – Cuiabá – MT.  
Telefone/Fax (65) 3615.8618. E-mail: [agritrop@ufmt.br](mailto:agritrop@ufmt.br)

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título "FITOTOXIDADE E METABOLOMA DE EXTRATOS FOLIARES AQUOSOS DE ESPÉCIES DO CERRADO"

**Autora:** Sharmely Hilares Vargas

**Orientadora:** Dra. Elisângela Clarete Camili

Aprovada em 03 de março de 2020.

Comissão Examinadora:

Dra. Elisângela Clarete Camili  
(Orientadora - UFMT)

Dra. Maria de Fátima Barbosa Coelho  
(Coorientadora - UFMT)

Dra. Olivia Moreira Sampaio  
(Examinadora Interna - UFMT)

Dr. Marcos Antônio Soares  
(Examinador interno – UFMT)

Dra. Maristela Imatomi  
(Examinadora Externa – UFScar)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por estar ao meu lado em todo momento e ser minha força interna, pois, sem ele nada teria sido possível.

À minha orientadora professora Elisangela e minha coorientadora professora Maria de Fátima, obrigada por acreditar em mim, pela amizade, ensinamentos, tempo e paciência durante este árduo processo.

Ao professor Leonardo Vasconcelos do Programa de Química-UFMT, pela confiança, apoio e boa disposição em todo momento. Muito obrigada por contribuir com as análises para caracterização química dos extratos.

Ao professor Marcos, obrigada pelo apoio na realização das análises estatísticas e pelas valiosas sugestões e contribuições dadas a esta dissertação.

Ao PAEC e à Organização dos Estados Americanos por acreditarem no meu potencial e oportunidade de estudar no Brasil.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante o mestrado.

Aos Laboratórios de Sementes e de Química da UFMT pelo apoio técnico e disponibilidade de material para o desenvolvimento dos experimentos.

Sou grata ao PPG em Agricultura Tropical-UFMT pela confiança e a todos os professores que participaram de minha formação, em especial os professores Joadil e Ricardo pela paciência e suporte na análise estatística dos dados.

A todos os meus amigos que participaram da realização dos experimentos, muito obrigada pelo apoio e por estarem sempre presentes na minha vida.

Finalmente agradeço à minha família pelo amor infinito e por acreditarem em mim durante toda minha formação profissional. Este triunfo é para vocês!

## FITOTOXICIDADE E METABOLOMA DE EXTRATOS FOLIARES AQUOSOS DE ESPÉCIES DO CERRADO

**RESUMO-** As plantas com potencial alelopático são promissoras no controle sustentável de ervas daninhas e, a caracterização química dos compostos é importante na identificação do potencial bioativo. Este estudo teve como objetivo realizar a caracterização química a partir da avaliação da atividade fitotóxica de espécies medicinais do Cerrado de Mato Grosso. Para isto o trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo realizou-se uma avaliação fitotóxica em folhas de 12 espécies: *Davilla elliptica*, *Tocoyena formosa*, *Combretum laxum*, *Himatanthus obovatus*, *Rudgea viburnoides*, *Diteryx alata*, *Curatella americana*, *Qualea grandiflora*, *Aspidosperma macrocarpon*, *Caryocar brasiliense*, *Tibouchina candolleana* e *Miconia albicans*, todas coletadas no município de Chapada dos Guimarães/MT. Foi obtido o extrato aquoso para cada espécie a partir da trituração em liquidificador de 50 g de folhas frescas com 500 mL de água destilada. Realizaram-se bioensaios de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) em diferentes concentrações dos extratos: 0, 25, 50, 75 e 100% obtidas por diluição com água destilada. Os resultados indicam que o efeito alelopático variou de acordo com a concentração dos extratos aquosos e a espécie doadora. Os extratos foliares das espécies *T. formosa*, *H. obovatus*, *R. viburnoides* e *T. candolleana* apresentaram índice de resposta alelopático baixo. As espécies *C. laxum*, *D. elliptica*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* apresentaram maior potencial de efeito fitotóxico sobre a germinação das sementes de alface. A partir destes resultados realizou-se uma avaliação preliminar da composição química e grau de toxicidade em nematoides dos extratos das espécies com maior efeito alelopático (*C. laxum*, *D. elliptica*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora*). A técnica de espectroscopia de infravermelho (IVTF) confirma a presença de grupos funcionais com efeito alelopático como: alcanos, alcenos, fenóis e aromáticos. A cromatografia em camada delgada identificou a presença das classes de compostos orgânicos como terpenos, flavonoides, fenóis e alcalóides nas folhas das espécies avaliadas. No segundo capítulo, realizou-se o perfil metabólico das folhas das espécies *Combretum laxum* (Combretaceae), *Davilla elliptica* (Dilleniaceae), *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) e *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae). Inicialmente confirmou-se o efeito alelopático dos extratos em sementes de alface. Em seguida, realizou-se a caracterização química dos extratos mediante a técnica de RMN-<sup>1</sup>H. Identificaram-se 69 metabolitos para *D. elliptica*, 74 para *C. laxum*, 66 para *C. brasiliense* e 65 para *Q. grandiflora*, sendo principalmente compostos primários. O perfil metabólico das folhas sugere que as espécies são diferentes, tanto qualitativamente como quantitativamente. As análises multivariadas de agrupamento hierárquico e discriminante indicam que existe semelhança na composição química e no efeito alelopático entre as espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora* devido, possivelmente, à proximidade filogenética das espécies com relação à ordem.

**PALABRAS CHAVES:** RMN, alelopatia, planta medicinal, metabolitos, filogenia.

## PHYTOOTOXICITY AND METABOLOMA OF AQUEOUS FOLIAR EXTRACTS OF CERRADO SPECIES

### ABSTRACT –

Plants with allelopathic potential are promising in the sustainable control of weeds and the chemical characterization of the compounds is important in identifying the bioactive potential. This study aimed to perform the chemical characterization from the evaluation of the phytotoxic activity of medicinal species from the Cerrado of Mato Grosso. For this, the work was divided into two chapters. In the first chapter, a phytotoxic evaluation of the leaves of 12 species was carried out *Davilla elliptica*, *Tocoyena formosa*, *Combretum laxum*, *Himatanthus obovatus*, *Rudgea viburnoides*, *Diteryx alata*, *Curatella americana*, *Qualea grandiflora*, *Aspidosperma macrocarpon*, *Caryocar brasiliense*, *Tibouchina candolleana* e *Miconia albicans*, collected in the municipality of Chapada dos Guimarães / MT. The aqueous extract for each species was obtained from the grinding in a blender of 50 g of fresh leaves with 500 mL of distilled water. Germination bioassays and initial development of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.) were carried out in different concentrations of the extracts: 0, 25, 50, 75 and 100% obtained by dilution with distilled water. The results indicate that the allelopathic effect varied according to the concentration of the aqueous extracts and the donor species. The leaf extracts of the species *T. formosa*, *H. obovatus*, *R. viburnoides* and *T. candolleana* presented low allelopathic response index. The species *C. laxum*, *D. elliptica*, *C. brasiliense* and *Q. grandiflora* had the greatest potential for phytotoxic effect on the germination of lettuce seeds. From these results, a preliminary evaluation of the chemical composition and degree of toxicity in nematodes of the extracts of the species with the greatest allelopathic effect (*C. laxum*, *D. elliptica*, *C. brasiliense* and *Q. grandiflora*) was carried out. The technique of infrared spectroscopy (IVTF) confirms the presence of functional groups with allelopathic effect such as alkanes, alkenes, phenols and aromatics. Thin layer chromatography identified the presence of classes of organic compounds such as terpenes, flavonoids, phenols and alkaloids in the leaves of the species evaluated. In the second chapter, the metabolic profile of the leaves of the species *Davilla elliptica* (Dilleniaceae), *Combretum laxum* (Combretaceae), *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) and *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) was carried out. Initially, the allelopathic effect of the extracts on lettuce seeds was confirmed. Then, the chemical characterization of the extracts was performed using the <sup>1</sup>H NMR technique. 69 metabolites were identified for *D. elliptica*, 74 for *C. laxum*, 66 for *C. brasiliense* and 65 for *Q. grandiflora*, being mainly primary compounds. The metabolic profile of the leaves suggests that the species are different both qualitatively and quantitatively. Multivariate analyzes of hierarchical and discriminant grouping indicate that there is a similarity in the chemical composition and in the allelopathic effect between the species *C. laxum* and *Q. grandiflora*, possibly due to the phylogenetic proximity of the species with respect to order.

**KEYWORDS:** NMR, phytotoxic, medicinal plant, metabolites, phylogeny

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	10
1.1. REFERENCIAS .....	11
2. CAPITULO 1. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1. Alelopatia .....	12
2.2. Aleloquímicos.....	13
2.3. Caracterização fitoquímica .....	14
2.4. Cerrado.....	15
2.5. Espécies estudadas .....	16
2.5.1. <i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil.....	16
2.5.2. <i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schltld.) K. Schum. ....	17
2.5.3. <i>Combretum laxum</i> Jacq. ....	18
2.5.4. <i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.) Woodson.....	19
2.5.5. <i>Rudgea viburnoides</i> (Cham.) Benth.....	19
2.5.6. <i>Dipteryx alata</i> Vogel.....	20
2.5.7. <i>Curatella americana</i> L.....	21
2.5.8. <i>Qualea grandiflora</i> Mart. ....	21
2.5.9. <i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart. & Zucc. ....	22
2.5.10. <i>Caryocar brasiliense</i> Cambess. ....	23
2.5.11. <i>Tibouchina candolleana</i> (Mart. ex DC.) Cogn. ....	23
2.5.12. <i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana.....	24
2.6. REFERÊNCIAS .....	24
3. CAPÍTULO 2. ATIVIDADE FITOTOXICA DOS EXTRATOS FOLIARES AQUOSOS DE DOZE ESPÉCIES DO CERRADO .....	32
3.1. INTRODUÇÃO.....	34
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.2.1. Coleta do material vegetal .....	36
3.2.2. Preparo dos extratos aquosos .....	37

3.2.3.	Caracterização dos extratos: pH e potencial osmótico.....	38
3.2.4.	Bioensaios.....	38
3.2.5.	Avaliações.....	38
3.2.6.	Análise estatística dos dados.....	39
3.2.7.	Ensaio de toxicidade.....	40
3.2.8.	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF) 41	
3.2.9.	Identificação de classes.....	41
3.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.4.	CONCLUSÕES.....	59
3.5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
4.	CAPITULO 3. METABOLOMA DE EXTRATOS FITOTÓXICOS DE <i>Combretum laxum</i> , <i>Davilla elliptica</i> , <i>Caryocar brasiliense</i> e <i>Qualea grandiflora</i> .....	69
4.1.	INTRODUÇÃO.....	71
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	74
4.2.1.	Fitotoxicidade.....	74
4.2.2.	Metaboloma.....	76
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
4.4.	CONCLUSÕES.....	93
4.5.	REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS.....	94
4.6.	APÊNDICES.....	100

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é considerado um dos maiores produtores e exportadores de alimentos agrícolas (OECD e FAO, 2015). A alta produção implica ao país grande consumo de insumos, ocupando desde 2008 o primeiro lugar no *ranking* de utilização de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças, fato este, que tem ocasionado problemas ambientais e intoxicação humana (Londres, 2011). Na ampla gama de agrotóxicos utilizados, os herbicidas são o grupo de maior crescimento na indústria e representam 48% do mercado (Gupta, 2017).

Em contrapartida, há interesse por novas alternativas de controle sustentável de plantas daninhas (Chaves et al., 2019). Uma das alternativas mais promissoras para reduzir a dependência dos herbicidas sintéticos é o uso de plantas que permitam desenvolver bioherbicidas a partir de compostos com atividade fitotóxica (Jabran et al., 2015; Imatomi et al., 2015; Galon et al., 2016). Neste cenário, existe crescente avanço na procura de novas espécies, tanto cultivadas como nativas, com potencial alelopático, que resultem em trabalhos futuros de prospecção química e isolamento de moléculas e compostos bioativos (Benchaa et al., 2018; Pereira et al., 2018; Anwar et al., 2019).

Em vista desses fatos, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de se conhecer o potencial fitotóxico de espécies nativas do Cerrado de Mato Grosso. O trabalho foi dividido em três capítulos que permitem de forma mais clara e ordenada a apresentação dos resultados obtidos. O primeiro capítulo corresponde à revisão de literatura que contém a ciência da arte sobre alelopatia e as espécies utilizadas neste estudo. O segundo capítulo contém os resultados dos bioensaios com extratos aquosos de doze espécies do Cerrado Mato-Grossense sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface como espécie indicadora; além disso, contém a caracterização química e toxicidade dos extratos das quatro espécies com maior atividade fitotóxica. Por sua vez, o terceiro capítulo trata do estudo metabólico dos extratos das quatro espécies que se destacaram no capítulo anterior quanto à atividade fitotóxica.

## 1.1. REFERÊNCIAS

- ANWAR, T.; QURESHI, H.; PARVEEN, N.; BASHIR, R.; QAISAR, U.; MUNAZIR, M.; YASMINE, S.; BASITF, R.T.; MAHMOODG, B.G. KHANJ, A.A.; QURESHIK, A.A. KHANI, S. Avaliação do potencial de bioherbicida das folhas de *Carica papaya*. Brazilian Journal of Biology, p. 1-9, 2019.
- BENCHAA, S.; HAZZIT, M.; ABDELKRIM, H. Allelopathic effect of eucalyptus citriodora essential oil and its potential use as bioherbicide. Chemistry and Biodiversity, v. 15, n. 8, 2018.
- CHAVES NETO, J.; MAZUTTI, M.; ZABOT, G.; TRES, M. Ação bioherbicida de caldo fermentado de *Phoma dimorpha* em sementes e plantas de *Senna obtusifolia*. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 50, p. 1-8, 2019.
- GALON, L.; MOSSI, A. J.; WILSON, F.; JUNIOR, R.; REIK, G. G. Biological weed management – A short review 1 Manejo biológico de plantas daninhas – Breve revisão Weeds : Control with the Use of Bioherbicides, v. 452, p. 116–125, 2016.
- GUPTA, P.C. Herbicides and fungicides. In: GUPTA, R.S. Reproductive and developmental toxicology, Second Edition. Kentucky: Academic Press, 2017. p. 657-679.
- IMATOMI, M.; NOVAES, P.; AUGUSTA, M.; MACHADO, F.; CRISTINA, S. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of four Myrtaceae species on three weeds. Acta Scientiarum. Agronomy, v.37, n.2, p. 241–248, 2015.
- JABRAN, K.; MAHAJAN, G.; SARDANA, V.; CHAUHAN, B. S. Allelopathy for weed control in agricultural systems. Crop Protection, v. 72, p. 57–65, 2015.
- LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil: uma guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: AS-PTA Assessoria e Serviços a projetos em Agricultura Alternativa, 2011.191p.
- OECD; FAO. 2015. OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2015-2024. Paris: OECD Publishing. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2015-es](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-es)>. Acesso em: 6 nov. 2019.
- PEREIRA, J. C.; PAULINO, C. L. de A.; GRANJA, B. da S.; SANTANA, A. E. G.; ENDRES, L.; DE SOUZA, R. C. Allelopathic potential and identification of secondary metabolites in extracts of *Canavalia ensiformis* L. Revista Ceres, v. 65, n. 3, p. 243–252, 2018.

## 2. CAPITULO 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Alelopatia

A Sociedade Internacional de Alelopatia (IAS) define alelopatia como o processo que envolve metabólitos secundários produzidos por plantas, algas ou microrganismo (bactérias ou fungos) que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas (IAS, 1996). Na definição mais recente de Zimdahl (2018) a alelopatia é considerada uma forma de interferência que ocorre em uma planta quando os compostos químicos inibem o crescimento de outra planta.

As plantas com alto potencial alelopático podem ser usadas nos sistemas de produção agrícola para o manejo de ervas daninhas mediante a aplicação direta de extratos aquosos, cobertura viva ou morta, incorporação de resíduos no solo, e rotação de culturas (Jabran et al., 2015; Lakra et al., 2019). Entre as principais espécies cultivadas alelopáticas amplamente estudadas na literatura encontram-se o sorgo, arroz, centeio, girassol, trigo, cevada e canola. Estas culturas se caracterizam pela exsudação de compostos com forte poder alelopático sobre outras espécies (Jabran et al., 2015).

Os conhecimentos das interações ecológicas planta-planta identificam espécies com potencial alelopático, adequadas para desenhar, programar e executar projetos bem sucedidos de restauração ecológica de áreas afetadas por plantas exóticas invasoras (Novaes et al., 2013; Lopes et al., 2017).

Estudos sobre alelopatia podem ser confundidos com estudos sobre fitotoxicidade, embora os processos empregados na extração dos aleloquímicos e nas condições dos experimentos permitam distinguir um do outro (Reigosa et al., 2013). Os resultados de bioensaios de germinação e desenvolvimento inicial sob condições controladas de laboratório e que não cumpram com os critérios estabelecidos por Inderjet e Weston (2000) para um estudo de alelopatia são considerados como atividade fitotóxica. Assim sendo, para as condições do presente estudo o termo fitotoxicidade será considerado aos resultados inibitórios dos bioensaios, causados pelos extratos aquosos avaliados.

## 2.2. Aleloquímicos

Os metabólitos secundários são compostos orgânicos sintetizados pelas plantas e não estão diretamente envolvidos no crescimento e na reprodução normal de um organismo. Eles desempenham papel importante na defesa contra herbívoros e defesa interespecífica (Frang et al., 2019), em resposta a diversos fatores ambientais e com função ecológica e específica nas plantas, essencialmente relacionadas à sobrevivência (defesa, estresse) e aptidão reprodutiva (Chezem e Clay, 2016). Sendo assim, são caracterizados por estarem restritos a certos táxons (Matsuura et al., 2018; Zahedi et al., 2019).

Existem mais de 100.000 metabólitos secundários identificados e um pequeno grupo são descritos como aleloquímicos bioativos (Ahuja et al., 2012). Estes compostos podem ser encontrados em diferentes concentrações em várias partes das plantas (folha, caule, raiz, semente, flor e pólen) (Gatti et al., 2004) e, são liberados para o ambiente por lixiviação foliar, exsudação de raízes, decomposição de resíduos, volatilização ou incorporação de detritos no solo (Inderjit e Duke, 2003).

Os aleloquímicos são classificados em 14 categorias químicas de acordo com a via biossintética, sendo: (1) derivados do ácido cinâmico, (2) cumarinas, (3) fenóis simples, derivados do ácido benzóico, ácido gálico e ácido protocatecuico, (4) flavonóides, (5) taninos condensados e hidrolisáveis, (6) terpenóides e esteróides, (7) ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia direta, aldeídos alifáticos e cetonas, (8) lactonas simples insaturadas, (9) ácidos graxos de cadeia longa, (10) naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas, (11) aminoácidos e polipeptídeos, (12) alcalóides e cianoidrinas, (13) sulfetos e glicosídeos do óleo de mostarda e, (14) purinas e nucleosídeos (Mandava, 2018).

A atividade alelopática de uma espécie pode ser seriamente influenciada pela mistura de metabólitos presentes no extrato, sendo associada à complexa interação molecular causada por sinergismo ou antagonismo dos compostos bioativos. Assim, um aleloquímico avaliado individualmente pode demonstrar potencial fitotóxico menor do que se avaliado em associação com outros aleloquímicos ou vice-versa (Albuquerque et al., 2011).

Os modos de ação dos aleloquímicos são diferentes de acordo com a composição química e concentração presente no extrato obtido da planta doadora.

Os modos de ação mais descritos na literatura são: alteração da função e permeabilidade da membrana celular, interferência na absorção da água e nutrientes, interferência no processo de respiração, influência no processo de fotossíntese e, alteração dos mecanismos reguladores vegetais (síntese de proteínas e de ácidos nucleicos) (Wink e Latz-Bruning, 1995; Cheng e Cheng, 2015).

Portanto, as “plantas com atividade alelopática” podem ser consideradas como potenciais fontes de novas moléculas com ação herbicida para a indústria química, devido à necessidade constante de se encontrar alternativas sustentáveis para o controle de espécies resistentes às moléculas sintéticas (Albuquerque et al., 2011). No Brasil, o interesse não é só nas interações alelopáticas nos ecossistemas naturais e agrícolas, mas também nos produtos derivados dos aleloquímicos, como reguladores vegetais e herbicidas naturais (Reigosa et al., 2013).

### **2.3. Caracterização fitoquímica**

Os bioensaios são ferramentas úteis e rápidas para se conhecer o potencial fitotóxico dos compostos secundários presentes em espécies estudadas. No entanto, os perfis fitoquímicos desses compostos podem ser de grande valor para se determinar os compostos específicos responsáveis pelos efeitos alelopáticos (Pilatti et al., 2019)

De acordo com Inderjit e Weston (2000) uma demonstração bem sucedida da atividade alelopática tem três componentes: 1. ecológico - efeito fitotóxico; 2. químico - isolamento, identificação e caracterização dos aleloquímicos e; 3. fisiológico - modos de ação.

Os recentes avanços na química de produtos naturais, por meio de métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação, têm contribuído para um maior conhecimento de compostos secundários. Muitos deles são considerados aleloquímicos, e variam em composição, em concentração e localização nas plantas (Borghetti et al., 2013; Maraschin et al., 2017; Latif et al., 2017).

Existem várias técnicas utilizadas na caracterização fitoquímica dos compostos alelopáticos, dependendo do objetivo do estudo, tipo de metabólito secundário, custo e tamanho da amostra disponível. Há técnicas como caracterização por reação colorimétrica (Barbosa et al., 2001); CG (cromatografia gasosa) e CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) associadas ou não a EM

(espectrometria de massas); RMN (ressonância magnética nuclear) e IVTF (infravermelho com transformada de Fourier) (Maraschin et al., 2017).

Segundo D'Abrosca et al. (2013) a abordagem metabolômica baseada em RMN para estudar a alelopatia oferece a possibilidade de superar vários problemas relacionados à avaliação da atividade. A análise por RMN pode ser feita em um tempo relativamente curto, permitindo que grande número de amostras sejam analisadas e, conseqüentemente, as mais variáveis podem ser estudadas ao mesmo tempo. Isso é muito útil tanto na identificação de compostos alelopáticos quanto na elucidação do modo de ação dos aleloquímicos.

Para Macías et al. (2019), o uso da cromatografia líquida em conjunto com a espectrometria de massas tem utilidade para a identificação e quantificação de compostos. O desenvolvimento de técnicas combinadas favorece avanços em estudos aleloquímicos porque permite identificar um maior número de compostos bioativos.

Segundo Latif et al. (2017) a melhor compreensão da produção de compostos aleloquímicos em relação à estratégia de defesa das plantas e sua interação ecológica permitem proteger e gerenciar melhor as culturas em desenvolvimento, limitar a propagação de plantas invasoras, preservar as plantas nativas e criar estratégias para o desenvolvimento e aplicação de aleloquímicos como novos pesticidas.

#### **2.4. Cerrado**

O Cerrado é o segundo maior domínio brasileiro, depois da Floresta Amazônica. Suas características particulares, como clima sazonal, com épocas secas e frias de inverno, acontecimentos naturais de fogo e, solos lixiviados com alto teor de alumínio, propiciam o desenvolvimento de vegetação diversa (herbáceas, arbustivas, gramíneas) com adaptações particulares como cortiça grossa na casca, xilopódio, folhas com cutículas densas e raízes profundas, que permitem interações ecológicas particulares entre espécies ricas em compostos bioativos (Haridasan, 2001; Coutinho, 2002).

Na literatura foram reportados estudos de fitotoxicidade com espécies nativas do Cerrado, como Silva et al. (2006) que estudaram 15 espécies das quais apenas quatro mostraram efeito inibitório em sementes de alface: *Ouratea spectabilis*,

*Pouteria ramiflora*, *Qualea grandiflora* e *Stryphnodendron adstringens*. Souza et al. (2007) estudaram quatro espécies nativas (*Campomanesia adamantinum*, *Eugenia dysenterica*, *Qualea parviflora* e *Caryocar brasiliense*) que mostraram efeito inibitório no comprimento da raiz e da parte aérea de gergelim (*Sesamum indicum*). Gatti et al. (2007) avaliaram 12 espécies e reportaram maior efeito na redução da velocidade de germinação de sementes de alface e gergelim ao utilizarem as espécies nativas *Anadenanthera falcata*, *Davilla elliptica*, *Miconia albicans*, *Siparuna guianensis* e *Xylopia aromatica*. Imatomi et al. (2013) estudaram o efeito alelopático de 15 espécies da família Myrtaceae e reportaram que cada espécie se comporta de maneira distinta em relação à alelopatia.

Segundo Novaes et al. (2013) apenas 32 famílias de espécies do Cerrado (71 espécies) apresentaram bioatividade, sendo que, um número reduzido das espécies estudadas (8 espécies) foi avaliado do ponto de vista fitoquímico, com o objetivo de identificar metabólitos responsáveis por essas interações.

A desvalorização do Cerrado causada pelo desconhecimento generalizado da importância e do potencial das espécies na indústria farmacêutica, da produção de defensivos agrícolas naturais e; da conservação e recuperação de áreas degradadas, gera a necessidade de focar em pesquisas visando preservar a biodiversidade, a partir da descoberta do potencial fitotóxico de novas espécies e aprofundar os estudos da riqueza de novos produtos bioativos que possam estar disponíveis.

## **2.5. Espécies estudadas**

### **2.5.1. *Davilla elliptica* A.St.-Hil.**

A espécie *D. elliptica* (Dilleniaceae) conhecida popularmente como lixeirinha, lixeira, bugre e sambaibinha, é uma árvore decídua (julho a setembro) que atinge 1,5 m de altura, de ocorrência no Cerrado brasileiro, com ampla distribuição neotropical. O período de floração ocorre nos meses de junho a setembro (Silva Júnior, 2005).

O arilo da semente é fonte importante de alimento para a fauna silvestre e, as folhas silicosas são utilizadas como lixa na cultura popular para arear as painéis. As raízes são utilizadas na medicina popular como laxativas, adstringentes, tônicas (Rodrigues e Carvalho, 2001), sedativas para hérnias e hemorróidas (Silva Júnior,

2005). A infusão das folhas é usada no tratamento de inflamações, úlceras, diarreias, inchaços e diurética (Pott e Pott, 1994).

Michelin et al. (2005) verificaram que o extrato das folhas e caule de *D. elliptica* possui propriedades antimicrobianas. Ácidos fenólicos derivados, ácidos gálicos, flavonóides e taninos condensados foram identificados na composição química do extrato metanólico de *D. elliptica*, e são responsáveis pelo potencial antimicrobiano (Michelin et al., 2005; Kushima et al., 2009). Além disso, estudos verificaram o efeito inibitório de diferentes tipos de extratos de folhas de *D. elliptica* na germinação e crescimento inicial de alface (planta indicadora) e espécies invasoras (*Euphorbia heterophylla* e *Panicum maximum*), indicando que os aleloquímicos presentes nos extratos apresentam potencial fitotóxico no controle das espécies avaliadas (Gatti et al., 2007; Candido, 2016).

### **2.5.2. *Tocoyena formosa* (Cham. & Schldl.) K. Schum.**

A espécie *T. formosa* (Rubiaceae) é popularmente conhecida como jenipapo-bravo, jenipapo-do-campo, guamarú e jenipapo-de-cavalo. É uma espécie decídua, lenhosa, de porte arbustivo-arbóreo de ampla distribuição geográfica no Brasil, preferencialmente em fisionomias campestres do Cerrado Sentido Restrito e, eventualmente em áreas de Cerradão (Durigan, 2004). A floração ocorre ao longo do ano e a frutificação nos meses de janeiro a março (Silva Júnior, 2005).

A espécie é adaptada ao fogo e rebrota com vigor depois da queima ou corte. A árvore é considerada ornamental com uso potencial no paisagismo devido às chamativas flores amareladas ou brancas dispostas em inflorescências capitado-cimosas e, pelas folhas geralmente acumuladas no final dos ramos (Sartorelli e Campos, 2017). Na medicina popular, a espécie é comumente utilizada na região Nordeste do Brasil como analgésico para diferentes sintomas de dores, como: dores reumáticas, dor nas costas, mialgia e, múltiplos usos para o tratamento de tosse, torção, cistite, problemas renais e cardíacos (Albuquerque et al., 2007; Cesário et al., 2018).

No estudo realizado por Santos (2013), o autor demonstra que o extrato dos caules e flores de *T. formosa* na concentração de 40% (p/v) apresenta propriedades acaricidas sobre larvas de *Rhipicephalus (Buphilus) microplus*, com atividade

superior a 95%. O extrato do caule de *T. formosa* possui iridóides, saponina triterpênica e flavonóides glicosilados com propriedades antifúngicas (*Cladosporium cladosporioides*) (Bolzani et al., 1996). O extrato hidroetanólico das folhas tem comprovada atividade antinociceptiva (redução da dor), o que respalda as propriedades analgésicas (Cesário et al., 2018).

### **2.5.3. *Combretum laxum* Jacq.**

O gênero *Combretum* possui cerca de 370 espécies (Joly, 2002), das quais 22 ocorrem no Brasil, principalmente entre o Cerrado e a Floresta Estacional Semidecidual nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (Linsingen e Cervi, 2008). A espécie *C. laxum* é um arbusto escandente de 2 até 17 m de altura, conhecido popularmente como “pombeiro-branco” (Bisoli et al., 2008; Linsingen e Cervi, 2008). Florece e frutifica entre setembro a março, como ocorrência natural desde o sul do México até a Argentina (Linsingen e Cervi, 2008).

As espécies do gênero *Combretum* são conhecidas por serem ricas em metabólitos secundários, particularmente triterpenos, flavonóides, fenantrenos, bibencilos, estilbenos, lignanas e outros compostos aromáticos que revelam seu potencial farmacológico ao apresentar atividade antimicrobiana, antibacteriana, anticâncer, antiinflamatória, antihelmíntica, hepatoprotetiva e antitumoral (McGaw et al., 2001; Martini et al., 2004; Facundo et al., 2005; Ogbole et al., 2018).

Estudos de caracterização química já realizados demonstram a presença de triterpenos, miricitrina, mearnsitrina, quercitrina e ácido elágico no extrato da parte aérea de *C. laxum* (Bisoli et al., 2008; Gulbrandsen et al., 2014). Esses mesmos autores demonstraram a atividade antifúngica desta espécie contra *Candida albicans*, *C. krusei* e *Cryptococcus neoformans* estudados em condições de cultivo *in vitro*. O extrato metanólico de folhas de *C. laxum* apresenta atividade herbicida pré-emergente contra *Agrostis stolonifera* e pós-emergente contra *Poa annua* na dose de 2 kg ha<sup>-1</sup> com volume de 200 L ha<sup>-1</sup>, sugerindo que o efeito observado foi devido aos taninos presentes no extrato (Gulbrandsen et al., 2014).

Segundo Dorado-Rodrigues et al. (2015), a espécie *C. laxum* tem potencial de cobrir extensas áreas no Pantanal e torná-las impenetráveis, demonstrando comportamento de planta nativa invasora. Nesse sentido, Silva et al. (2016)

demonstraram o comportamento de *C. laxum* como planta invasora de comunidades herbáceas de pastagens sazonalmente inundadas no Pantanal, o que provoca empobrecimento e simplificação do número de espécies nativas importantes na dinâmica ecológica e econômica.

#### **2.5.4. *Himatanthus obovatus* (Müll. Arg.) Woodson**

*H. obovatus* (Apocynaceae) é uma espécie de ocorrência no Planalto Central, no Cerrado Sentido Restrito e no Cerradão, principalmente nos estados de Mato Grosso e Minas Gerais. É uma árvore decídua e lactescente com 4 a 5 m de altura, comumente conhecida como lírio-do-campo ou pau-de-leite devido à exsudação leitosa abundante de cor branca que produz ao se destacar a folha (Lorenzi, 2009).

Floresce durante quase o ano inteiro, os frutos amadurecem de julho a setembro e, são apreciados pela fauna e população rural. Por ser uma planta de pequeno porte tem potencial ornamental no paisagismo e na recuperação de áreas degradadas (Silva Júnior, 2005; Lorenzi, 2009). Na medicina popular, o chá das folhas é utilizado para manchas na pele, coceiras e como depurativo. A casca serve para febre, cólicas menstruais e hipertensão e, o látex como vermífugo, tratamento de úlceras estomacais e estimular a lactação em mulheres (Silva Júnior, 2005).

As espécies do gênero *Himatanthus* são ricas em metabólitos secundários, principalmente lignanas, terpenos, iridoides, ácidos e glicitol, predominantemente na casca e folhas (Soares et al., 2016). Observou-se atividade antibacteriana (*Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*) do extrato da parte aérea (folhas, casca e caule) da espécie *H. obovatus*, sendo isoladas duas lignanas, três norisoprenoides e duas misturas de terpenos (Lima, 2005). Gonçalves et al. (2015) reportaram efeito fitotóxico do extrato aquoso das folhas de *H. obovatus* no desenvolvimento inicial de plântulas de alface.

#### **2.5.5. *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth.**

Comumente conhecida como casca-branca, cotó e chá-de-bugre, *R. viburnoides* é uma espécie da família Rubiaceae com distribuição no Cerrado e Cerradão, preferencialmente em capoeiras, sobre terrenos bem drenados e de solos arenosos de baixa fertilidade (Lorenzi, 2009). *R. viburnoides* apresenta boa

habilidade de absorver nutrientes de solos pobres e pode hiperacumular alumínio, independentemente da disponibilidade no solo (Malta et al., 2016).

De acordo com Lorenzi (2009), é uma árvore entre 4 a 5 m de altura que floresce mais de uma vez ao ano, principalmente nos meses de agosto e setembro. Os frutos amadurecem predominantemente nos meses de junho e julho e são muito procurados pelos pássaros.

A casca, as raízes e as folhas são bastante reportadas com efeitos medicinais. As folhas são utilizadas na medicina popular como diuréticas, hipotensoras, antirreumáticas e depurativas do sangue. Alves et al. (2004) descreveram a presença de taninos, flavonóides, triterpenos e saponinas na parte aérea de *R. viburnoides*; sendo o último composto responsável pela atividade antifúngica contra *Cladosporium cladosporioides* (Young et al., 1998).

#### **2.5.6. *Dipteryx alata* Vogel**

A espécie *D. alata* conhecida comumente como cumbaru, cumaru, baru, barujo e coco-feijão (Carvalho, 2003), ocorre no Cerrado Restrito, Cerradão mesotrófico e mata seca no território brasileiro (Silva Júnior, 2005). É uma árvore decídua cuja floração ocorre entre os meses de março e fevereiro e a frutificação de janeiro a março

A espécie tem grande importância econômica, ambiental e social devido aos diversos usos dados pela população local; pode-se destacar o emprego na arborização urbana, em sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta e na restauração de áreas degradadas. A madeira é densa e pode ser utilizada na construção civil; as sementes ou amêndoas fornecem um óleo aromatizante usado na medicina tradicional e, junto com a polpa do fruto são altamente energéticos e nutritivos, usados na alimentação humana e animal (Carvalho, 2003; Sano et al., 2004). Na medicina tradicional a casca é utilizada no tratamento de cólicas intestinais; o óleo da semente é utilizado como anti-reumático, revigorante e como estimulante do suor e menstruação (Silva Júnior, 2005).

Silverio (2012) ao testar o efeito alelopático do extrato hexânico das folhas de *D. alata* na germinação de sementes de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), tomate (*Solanum lycopersicum*) e alface encontrou resultados diferenciados de

inibição, dependente da espécie alvo utilizada, sendo o tomate o mais sensível ao extrato foliar (inibição completa), seguido do repolho e, finalmente, da alface.

Na caracterização química de sementes de *D. alata* foram determinados ácidos graxos (oleico e linoleico, ácidos palmítico, lignocérico, esteárico, behênico, gadoleico e araquídico), macronutrientes como potássio, fósforo e enxofre e, micronutrientes como o ferro (Vera et al., 2009).

### **2.5.7. *Curatella americana* L.**

*C. americana* é uma espécie amazônica pertencente à família Dilleniaceae, com ampla distribuição neotropical no território brasileiro, principalmente em ambientes como Cerradão, Cerrado Sentido Restrito, Campo Cerrado e Campo Sujo. É uma árvore decídua caracterizada pela presença de folhas silicosas, utilizadas como lixa, daí o nome comum de lixeira (Silva Júnior, 2005). É particularmente abundante em áreas de matagal que sofreram alterações; produz sementes muito procuradas e consumidas pelas aves (Lorenzi, 2008). De acordo com Silva Júnior (2005) a floração ocorre nos meses de junho a setembro e a frutificação de setembro a dezembro.

Na medicina popular é utilizada para o tratamento de aftas, dores de cabeça, resfriados, problemas de estômago e como cicatrizante (Silva Júnior, 2005). Em estudo desenvolvido por Toledo et al. (2015), foi comprovada a atividade antifúngica do extrato da casca e caule de *C. americana* contra espécies de *Candida*.

As análises físico-químicas das folhas de *C. americana* têm demonstrado a presença de compostos como: flavonóides, terpenos, fenóis, taninos, saponinas e esteróides (Barbosa, 2011), os quais foram também encontrados em outras espécies da família Dilleniaceae (El-Azizi et al., 1980). Barbosa (2011) verificou a atividade fitotóxica do extrato diclorometânico das folhas de *C. americana* na germinação, inibição do crescimento radicular e da parte aérea, em sementes de *Panicum maximum* que evidenciam a presença de compostos químicos com potencial fitotóxico em concentrações semelhantes às dos herbicidas comerciais.

### **2.5.8. *Qualea grandiflora* Mart.**

Pertence à família Vochysiaceae e é conhecida comumente como pau-terra, pau-terra-do-cerrado, ariauá e pau-terra-da-folha-grande. A espécie *Q. grandiflora* é uma árvore decídua, com período de floração de agosto a abril e frutificação de dezembro a setembro (Silva Júnior, 2005). Amplamente dispersa por todo o Cerrado da região Centro-Oeste do Brasil, a espécie apresenta ampla vantagem adaptativa, podendo ocorrer em solo distrófico como mesotrófico, de baixa fertilidade, sendo capaz de acumular altas concentrações de alumínio (Carvalho, 2008).

Na medicina popular brasileira é utilizada a entrecasca como antisséptico, contra a inflamação de úlceras e feridas (Costa et al., 2008). A infusão das folhas é usada para o tratamento de diarreias com sangue, cólicas e amebas (Rodrigues e Carvalho, 2001); ainda, possui efeito analgésico e comporta-se como um potencial anticonvulsivo (Gaspi et al., 2006).

Silva et al. (2006) verificaram o potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Q. grandiflora* na germinação de sementes de alface, sendo observado efeito inibitório na germinação em concentrações maiores que 5 mg mL<sup>-1</sup>. A literatura revela a presença de metabólitos secundários como: saponinas, triterpenos, taninos, compostos fenólicos e esteroides no extrato etanólico da espécie *Q. grandiflora* (Hiruma-Lima, 2006; Costa et al., 2008).

#### **2.5.9. *Aspidosperma macrocarpon* Mart. & Zucc.**

Esta é uma espécie que pertence à família Apocynaceae, conhecida popularmente como guatambu, guatambu-do-cerrado, peroba-cetim, pereira e muirajuçara (Lorenzi, 2008). É uma árvore decídua, com floração e frutificação de julho a outubro, com exsudação leitosa abundante ao se destacar as folhas. Tem ocorrência natural no Cerrado, Cerradão (Brasil) e na Amazônia (Bolívia) (Silva Júnior, 2005). *A. macrocarpon* é uma espécie melífera de uso potencial como planta ornamental e na restauração de áreas degradadas de preservação permanente. A madeira é pesada (densidade de 0,79 g cm<sup>-3</sup>) com usos na construção civil e naval (Lorenzi, 2008).

O extrato etanólico da casca da raiz de *A. macrocarpon* é de particular interesse devido à boa e específica atividade contra o *Plasmodium falciparum*

(malária) (Mesquita et al., 2007). Mitaine et al. (1996) comprovaram a presença de alcalóides nas sementes e na casca do caule de *M. macrocarpon*.

#### **2.5.10. *Caryocar brasiliense* Cambess.**

*C. brasiliense* é conhecida popularmente como pequi, piqui, amêndoa-de-espinho, grão-de-cavalo, pequerin e suari (Lorenzi, 2008). Tem ocorrência natural no Brasil, principalmente no Cerrado, Campo Sujo, Cerrado Sentido Restrito e Cerradão distrófico. A árvore é decídua (julho a setembro) com período de floração de junho a janeiro, sendo polinizada por morcegos (Silva Júnior, 2005).

É uma espécie de importância comercial e cultural, principalmente porque os frutos (furfificação de outubro a fevereiro) são comestíveis e apreciadíssimos pela população local do Brasil Central, sendo parte da gastronomia típica. A polpa possui altos teores de ácidos graxos insaturados (oleico e palmítico) (Lima et al., 2007) e é utilizada para a extração de manteiga, sebo e na produção de licores (Lorenzi, 2008). Na medicina popular são utilizadas diferentes partes da planta como tônicos expectorantes e reguladores de menstruação (Silva Júnior, 2005).

O extrato metanólico das folhas, caule e raiz de *C. brasiliense* apresentou efeito inibitório na germinação e desenvolvimento inicial de capim-colonião (*Panicum maximum*), comprovando assim seu potencial herbicida no controle de plantas daninhas, associado ao sinergismo de seus compostos presentes como alcaloides, cardiotônicos, cumarinas voláteis, flavonóides, taninos e saponinas (Moreira et al., 2008; Rezende et al., 2011).

#### **2.5.11. *Tibouchina candolleana* (Mart. ex DC.) Cogn.**

A espécie *T. candolleana* é uma árvore de 3 a 5 m de altura, conhecida como quaresmeira ou quaresmeira-da-serra, pertencente à família Melastomataceae. É originária do Brasil, sendo encontrada em matas ciliares (Meyer et al., 2010). Trata-se de uma espécie apropriada para reflorestamentos e uso no paisagismo, devido às chamativas flores de cor lilás e rápido crescimento. O período de floração ocorre nos meses de junho a agosto e frutificação de agosto a dezembro (Lorenzi, 2009).

Estudos prévios com espécies do gênero *Tibouchina* evidenciaram a presença de taninos, antocianinas, flavonóides e benzoquinonas no extrato das plantas (Yoshida, 1999; Serna e Martinez, 2015). Santos et al. (2012) realizaram um estudo fitoquímico da espécie *T. candolleana* a partir do extrato das partes aéreas da planta e reportaram b-amyrin, a-amyrin e b-sitosterol como os principais constituintes. Entre os compostos isolados o ácido ursólico apresentou maior efeito inibitório no controle da bactéria endodôntica *Bacteroides fragilis*.

#### **2.5.12. *Miconia albicans* (Sw.) Triana**

*Miconia* é um dos gêneros com maior número de espécies da família Melastomataceae. Ocorre comumente em áreas de vegetação secundária e em clareiras ou bordaduras naturais. A espécie *M. albicans*, conhecida comumente como folha-branca, é uma planta arbustiva entre 1 a 4 metros de altura, floresce entre setembro a novembro, com ocorrência no Cerrado e Floresta Amazônica no Brasil (Cunha et al., 2003). A espécie é acumuladora de alumínio e adaptada a solos ácidos, principalmente latossolos (Haridasan, 1982).

É amplamente utilizada na medicina popular brasileira contra problemas digestivos e como analgésico e anti-inflamatório (Pott e Pott, 1994). Além disso, o extrato das folhas da espécie possui propriedades antidiabéticas utilizadas na medicina tradicional e, apresenta uso potencial na inibição da enzima PTP1B (Lima et al., 2018). Segundo Alves et al. (2000), o extrato das folhas possui propriedades antibacterianas, sendo efetivos contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (Celotto et al., 2003).

Nos estudos de caracterização química da espécie foram identificados polifenóis e triterpenos (Cunha et al., 2003; Pieroni et al., 2011; Lima et al., 2018).

## **2.6. REFERÊNCIAS**

AHUJA, I.; KISSEN, R.; BONES, A.M. Phytoalexins in defense against pathogens. Trends in Plant Science, v.17, n.2, p. 73-90, 2012.

ALBUQUERQUE, M.B.; SANTOS, R.C.; LIMA, L.M.; MELO FILHO, P.A.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; CÂMARA, C.A.G.; RAMOS, A. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. Agronomy for Sustainable Development, v.31, n.2, p. 379–395, 2011.

ALBUQUERQUE, U.P.D.; DE MEDEIROS, P.M.; DE ALMEIDA, A.L.S.; MONTEIRO, J.M.; NETO, E.M.D.F.L.; DE MELO, J.G.; DOS SANTOS, J.P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of ethnopharmacology*, v.114, n.3, p.325-354, 2007.

ALVES, R.M.S.; STEHMANN, J.R.; ISAÍAS, R.M.S.; BRANDÃO, M.G.L. Caracterização botânica e química de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth., (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.14, n.1, p.49-56, 2004.

ALVES, T.M.D.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.D.F.A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.95, n.3, p.367-373, 2000.

BARBOSA, C.A. Avaliação alelopática e caracterização fitoquímica do extrato em diclorometano de folhas de *Curatella americana* L. (Lixeira). 2011. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

BARBOSA, W.L.R.; QUINARD, E.; TAVARES, I.C.C.; PINTO, L.N.; OLIVEIRA, F.Q.; OLIVEIRA, R.M. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. Belém: Universidade Federal do Pará. 2001.

BISOLI, E.; GARCEZ, W.S.; HAMERSKI, L.; TIEPPO, C.; GARCEZ, F.R. Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. *Molecules*, v. 13, n.11, p. 2717-2728, 2008.

BOLZANI, V.D.S.; TREVISAN, L.M.V.; IZUMISAWA, C.M.; YOUNG, M.C.M. Antifungal iridoids from the stems of *Tocoyena formosa*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.7, n.3, p.157-160, 1996.

BORGHETTI, F.; LIMA, E.C.D.; SILVA, L. D.C. R. A simple procedure for the purification of active fractions in aqueous extracts of plants with allelopathic properties. *Acta Botânica Brasílica*, v. 27, n.1, p. 50-53, 2013.

CANDIDO, L.P. Busca de extratos e compostos ativos com potencial herbicida e inseticida nas espécies *Davilla elliptica* St. Hill e *Ocotea pulchella* Nees & Mart. 2016. 176f. Tese (Doutorado em ciências) -Universidade Federal de São Carlos, SP, 2016.

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 593p.

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003.v.1,1039p.

CELOTTO, A.C.; NAZARIO, D.Z.; SPESSOTO, M.D.A.; MARTINS, C.H.G.; CUNHA, W.R. Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.34, n.4, p.339-340, 2003.

CESÁRIO, F.R.A.S.; DE ALBUQUERQUE, T.R.; DE LACERDA, G.M.; DE OLIVEIRA, M.R.C.; RODRIGUES, L.B.; MARTINS, A.O.P.B.; BOLIGON, A.A.; JÚNIOR, L. J.Q.; ARAÚJO, A.A.S.; VALE, M.L.; COUTINHO, H.D.M.; MENEZES,

I.R.A. Phytochemical profile and mechanisms involved in the anti-nociception caused by the hydroethanolic extract obtained from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltldl.) K. Schum (Jenipapo-bravo) leaves in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.97, p.321-329, 2018.

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. 1020, 2015.

CHEZEM, W.R.; CLAY, N.K. Regulation of plant secondary metabolism and associated specialized cell development by MYBs and bHLHs. *Phytochemistry*, v.131, p. 26-43, nov. 2016.

COSTA, E.S.; HIRUMA-LIMA, C.A.; LIMA, E.O.; SUCUPIRA, G.C.; BERTOLIN, A.O.; LOLIS, S.F.; ANDRADE, F.D.P.; VILLEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A.R.M. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. *Phytotherapy Research*, v.22, n.5, p.705–707. 2008.

COUTINHO, L.M. O bioma do cerrado. In: KLEIN, A.L. (Org) *Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois*. Editora da Unesp, São Paulo. 2002. p.79-91.

CUNHA, W.R.; MARTINS, C.; FERREIRA, D.S.; CROTTI, A.E.M.; LOPES, N.P.; ALBUQUERQUE, S. In vitro trypanocidal activity of triterpenes from *Miconia* species. *Planta Medicinal*, v.69, p. 470–472, 2003.

D'ABROSCA, B.; SCOGNAMIGLIO, M.; FIUMANO, V.; ESPOSITO, A.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R.; FIORENTINO, A. Plant bioassay to assess the effects of allelochemicals on the metabolome of the target species *Aegilops geniculata* by an NMR-based approach. *Phytochemistry*, v.93, p.27-40, 2013.

DORADO-RODRIGUES, T.F.; LAYME, V.M.G.; SILVA, F.H.B.; NUNES DA CUNHA, C.; STRUSSMANN, C. Effects of shrub encroachment on the anuran community in periodically flooded grasslands of the largest Neotropical wetland. *Austral Ecology*, v.40, n.5, p. 547–55, 2015.

DURIGAN, G. *Plantas do Cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada*. São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica, 2004. 475p.

EL-AZIZI, M.M.; ATEYA, A.M.; SVOBODA, G.H.; SCHIFF JR, P.L.; SLATKIN, D.J.; KNAPP, J.E. Chemical constituents of *Curatella americana* (Dilleniaceae). *Journal of pharmaceutical sciences*, v.69, n.3, p.360-361, 1980.

FACUNDO, V.A.; RIOS, K.A.; MEDEIROS, C.M.; MILITÃO, J.S.L.T.; MIRANDA, A.L.P.; EPIFANIO, R.A.; CARVALHO, M.P.; ANDRADE, A.T.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Arjunolic acid in the ethanolic extract of *Combretum leprosum* root and its use as a potential multi-functional phytomedicine and drug for neurodegenerative disorders: anti-inflammatory and anticholinesterasic activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, SP, v. 16, n.6b, p.1309–1312, 2005.

FANG, C.; FERNIE, A.; LUOS, J. Exploring the diversity of plant metabolism. *Trends in Planta Science*, v. 24, n.1, p.83-98, 2019.

- GASPI, F.O.G.; FOGLIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; MORENO, R.A. Pharmacological activities investigation of crude extracts and fractions from *Qualea grandiflora* Mart. *Journal of ethnopharmacology*, v.107, n.1, p.19-24, 2006.
- GATTI, A. B.; DE ANDRADE, S. C. J. G.; FERREIRA, A. G. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, n. S2, p.174-176, 2007.
- GATTI, A.B.; PEREZ, S.; LIMA, M. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze e *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, n.3, p. 459–472, 2004.
- GONÇALVES V.D.; CAMILI E.C.; COELHO M.F.B. Allelopathic potential of *Himatanthus obovatus* leaf extract on lettuce germination. *Journal of Global Biosciences*. v.4, p.2985-2989. 2015.
- GULDBRANDSEN, N.; DE MIERI, M.; GUPTA, M.; SEISER, T.; WIEBE, C.; DICKHAUT, J.; REINGRUBER, R.; SORGENFREI, O.; HAMBURGER, M. Screening of Panamanian Plant Extracts for Pesticidal Properties and HPLC-Based Identification of Active Compounds. *Scientia pharmaceutica*, v.83, n.2, p.353-367, 2014.
- HARIDASAN, M. Aluminium accumulation by some Cerrado native species of central Brazil. *Plant and soil*, v. 65, n.2, p. 265-273, 1982.
- HARIDASAN, M. Nutrient cycling as a function of landscape and biotic characteristics in the cerrado of central Brazil. In: MCCLAIN, M.E.; VICTORIA, R.L.; RICHEY, J.E. (eds) *Biogeo- chemistry of the Amazon basin and its role in a changing world*. New York: Oxford University Press. 2001. p.68-83.
- HIRUMA-LIMA, C.A.; SANTOS, L.C.; KUSHIMA, H.; PELLIZZON, C.H.; SILVEIRA, G.G.; VASCONCELOS, P.C.P.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A.R.M. *Qualea grandiflora*, a Brazilian “Cerrado” medicinal plant presents an important antiulcer activity. *Journal of ethnopharmacology*, v.104, n.1-2, p.207-214, 2006.
- IAS – International Allelopathy Society. 1996. Constitution and Bylaw of IAS. Cádiz-Spain, IAS Newsletter.
- IMATOMI, M.; NOVAES, P.; GUALTIERI, S.C.J. Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. *Acta Botanica Brasilica*, v.27, n.1, p. 54-61, 2013.
- INDERJIT; DUKE, S.O. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, v.217, n.4, p. 529–39, 2003.
- INDERJIT; WESTON, L.A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses?. *Journal of Chemical Ecology*, v.26, n.9, p.2111–2118, 2000.
- JABRAN, K.; MAHAJAN, G.; SARDANA, V.; CHAUHAN, B. S. Allelopathy for weed control in agricultural systems. *Crop Protection*, v. 72, p. 57–65, 2015.

JOLY, A.B. Botânica - Introdução à Taxonomia. 13 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002, 778 p.

KUSHIMA, H.; NISHIJIMA, C.M.; RODRIGUES, C.M.; RINALDO, D.; SASSÁ, M.F.; BAUAB, T.M.; STASI, L.C.D.; CARLOS, I. Z.; BRITO, A.R.M.S.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-Helicobacter pylori action. Journal of ethnopharmacology, v.123, n.3, p.430-438, 2009.

LAKRA, K; VERMA, S.K.; MAURYA, A.C.; SINGH, S.B; MEENA, R.S.; SHUKLA, U.N. Enhancing crop competitiveness through sustainable weed management. Sustainable Agriculture, p. 109-168, 2019.

LATIF, S.; CHIAPUSIO, G.; WESTON, L. A. Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. In: G. Becard (Ed.) Advances in botanical research. Academic Press, v. 82, 2017. p. 19-54.

LIMA, A.D.; SILVA, A.D.O.; TRINDADE, R.A.; TORRES, R.P.; MANCINI-FILHO, J.O.R.G.E. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). Revista Brasileira de Fruticultura, v.29, n.3, p.695-698, 2007.

LIMA, R.C.L; KONGSTAD, K.T.; KATO, L.; JOSÉ DAS SILVA, M.; FRANZYK, H.; STAERK, D. High-Resolution PTP1B Inhibition Profiling Combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for Identification of PTP1B Inhibitors from *Miconia albicans*. Molecules, v.23, n.7, p.1755, 2018.

LIMA, V.B.D. Estudo fitoquímico de *Himatanthus obovatus* (Muell. Arg.) Woodson (APOCYNACEAE): isolamento, elucidação estrutural e atividade biológica. 2005. 194f. Tese (doutorado em ciências) -Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2005

LINSINGEN, V.L.; CERVI, A.C. A família Combretaceae R. Brown nas formações de Cerrado do estado do Paraná, Brasil. Revista Pesquisas, n.59, p. 211-222, 2008.

LOPES, P.G.; SALLES, K.A.; OLIVEIRA, S.C.C.; SAMPAIO, A.B.; SCHMIDT, I.B. Evidence of phytotoxicity in a fast-growing shrub useful for savanna restoration in Central Brazil. Brazilian Journal of Botany, v. 40, n. 3, p. 643–649, 2017.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 3. ed. São Paulo: Nova Odessa/Instituto Plantarum. 2009. v.2, 384p.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Nova Odessa/Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2008, v.1, 384p.

MACÍAS, F.A.; MEJÍAS, F.JR.; MOLINILLO, J.M.G. Recent advances in allelopathy for weed control: from knowledge to applications. Pest management science, jan. 2019.

- MALTA, P.G.; ARCANJO-SILVA, S.; RIBEIRO, C.; CAMPOS, N.V.; AZEVEDO, A.A. *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant and soil*, v.408, n.1-2, p.369-384, 2016.
- MANDAVA, N. B. *Handbook of Natural Pesticides: Methods: Volume I: Theory, Practice, and Detection*. Crc Press, 2018. 534 p.
- MARASCHIN, M.; ZEGGIO, A.R.S.; TOMAZZOLI, M.M.; OLIVEIRA, S.K.; RAMLOV, F.; VELEIRINHO, M.B.; ROCHA, M. Metabolômica e Quimiometria como ferramentas para análises químico (bio) diversas. In: RESENDE, R. R. *Biotecnologia Aplicada à Agroindústria: fundamentos e aplicações*. Vol.4. p.17-49. 2017.
- MARTINI, N.D.; KATERERE, D.R.; ELOFF, J.N. Seven flavonoids with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *South Africa Journal of Botany*, v.70, n.2, p. 310–312, 2004.
- MATSUURA, H. N.; MALIK, S.; COSTA, F.D.; YOUSEFZADI, M.; MIRJALILI, M.H.; ARROO, R.; BHAMBRA, A.; STRNAD, M.; BONFILL, M.; FETT-NETO, A.G. Specialized plant metabolism characteristics and impact on target molecule biotechnological production. *Molecular biotechnology*, v.60, n.2, p.169-183, 2018.
- MCGAW, L.J.; RABE, T.; SPARG, S.G.; JÄGER, A.K.; ELOFF, J.N.; VAN STADEN, J. An investigation on the biological activity of *Combretum* species. *Journal of ethnopharmacology*, v.75, n.1, p.45-50, 2001.
- MESQUITA, M.L.D.; GRELLIER, P.; MAMBU, L.; DE PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S. In vitro antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, v.110, n.1, p.165-170, 2007.
- MEYER, F.; GUIMARÃES P.J.; GOLDENBERG, R. *Tibouchina* (Melastomataceae) do estado do Paraná, Brasil. *Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v. 61, n. 4. 2010.
- MICHELIN, D.C.; IHA, S.M.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L.C. D.; VILEGAS, W.; SALGADO, H.R.N. Antimicrobial activity of *Davilla elliptica* St. Hill (Dilleniaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.3, p. 209-211, 2005.
- MITAINE, A.C.; MESBAH, K.; RICHARD, B.; PETERMANN, C.; ARRAZOLA, S.; MORETTI, C.; ZÈCHES-HANROT, M.; LE MEN-OLIVIER, L. Alkaloids from *Aspidosperma* species from Bolivia. *Planta medica*, v.62, n.5, p.458-461, 1996.
- MOREIRA, P.F.S.D.; DE SOUZA, D.R.; TERRONES, M.G.H. Avaliação do potencial alelopático do extrato metanólico obtido das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi) na inibição do desenvolvimento da raiz em sementes de *Panicum maximum*. *Bioscience Journal*, v.24, n.3, p. 74-79, 2008.
- NOVAES, P.; MOLINILLO, J.M.G.; VARELA, R.M.; MACÍAS, F.A. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. *Phytochemistry Reviews*, v. 12, n.4, p. 839–855, 2013.

- OGBOLE, O.O.; AYENI, F.A.; AJAIYEGBA, E.O. In-vitro Antibacterial Screening of Methanol Extracts of three *Combretum* species against seven strains of Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA). Nigerian Journal of Pharmaceutical Research, v.12, n.2, p.149-154, 2018.
- PIERONI, L.G.; REZENDE, F.M.D.; XIMENES, V.F.; DOKKEDAL, A.L. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. Molecules, v.16, n. 11, p.9439-9450, 2011.
- PILATTI, D.M.; FORTES, A.M.T.; JORGE, T.C.M.; BOIAGO, N.P. Comparison of the phytochemical profiles of five native plant species in two different forest formations. Brazilian Journal of Biology, v.79, n.2, p. 233-242, 2019.
- POTT, A.; POTT, V.J. Plantas do pantanal. Brasília: Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária: Embrapa: CPAP: SPI. Corumbá, 1994.
- REIGOSA, M.; GOMES, A.S.; FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. Acta Botanica Brasilica, v.27, n.4, p. 629–646, 2013.
- REZENDE, G. A. A.; TERRONES, M. G. H.; REZENDE, D. M. L. C. Estudo do potencial alelopático do extrato metanólico de raiz e caule de *Caryocar brasiliense* Camb. (Pequi). Bioscience Journal, v.27, n.3, 2011.
- RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.D. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do Cerrado na região do Alto Rio Grande–Minas Gerais. Ciência e Agrotecnologia, v.25, n.1, p.102-123, 2001.
- SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F.; BRITO, M.A. Baru: biologia e uso. Planaltina: Embrapa Cerrados, 52p, 2004.
- SANTOS, F.M.D., SOUZA, M.G.D., CROTTI, A.E.M., MARTINS, C.H., AMBRÓSIO, S.R., VENEZIANI, R., ANDRADE E SILVA, M.L.; CUNHA, W.R. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae), isolated compounds and semi-synthetic derivatives against endodontic bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, v.43, n.2, p.793-799, 2012.
- SANTOS, L.B.D.; SOUZA, J.K.; PAPASSONI, B.; BORGES, D.G.L.; JUNIOR, G.A.D.; SOUZA, J.M.E.D.; CARROLLO, C.A.; BORGES, F.D.A. Efficacy of extracts from plants of the Brazilian Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 22, n. 4, p.532-538, 2013.
- SARTORELLI, P.A.R; CAMPOS FILHO, E.M. Guia de plantas da regeneração natural do Cerrado e da mata atlântica. São Paulo. Agroicone. INPUT- 2017. 2017. 140p.
- SERNA, D.; MARTÍNEZ, J. Phenolics and polyphenolics from Melastomataceae species. Molecules, v. 20, n.10, p. 17818-17847, 2015.
- SILVA JÚNIOR, M.C.D. 100 árvores do Cerrado: guia de campo. Brasília: Rede de sementes do Cerrado, 2005.278 p.

SILVA, F.H.B; ARIEIRA, J.; PAROLIN, P.; NUNES DA CUNHA, C.; JUNK, W.J. Shrub encroachment influences herbaceous communities in flooded grasslands of a neotropical savanna wetland. *Applied vegetation science*, v.19, n.3, p.391-400, 2016.

SILVA, G.B.D., MARTIM, L., DA SILVA, C.L., YOUNG, M.C.M., & LADEIRA, A.M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. *Hoehnea*, v.33, n.3, p.331-338, 2006.

SILVÉRIO M.D.O. Potencial antioxidante, alelopatia e inibidor de tirosinase de Baru (*Dipteryx alata* Vogel). 49f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2012.

SOARES, F.P.; CAVALCANTE, L.F.; ROMERO, N.R.; BANDEIRA, M.A. *Himatanthus* Willd. ex Schult. (Apocynaceae). *Pharmacognosy reviews*, 2016, v.10, n. 19, p. 6-10, 2016.

SOUZA, L.M.D.; CANINI, G.B.; AIRES, S.S.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas de quatro espécies do Cerrado sobre crescimento de gergelim. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, n. 2, p. 540-542, 2007.

TOLEDO, C.E.M.; SANTOS, P.R.; DE MELLO, J.C.P.; DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T. Antifungal properties of crude extracts, fractions, and purified compounds from bark of *Curatella americana* L. (Dilleniaceae) against *Candida* species. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, v.2015. 9 p, 2015.

VERA, R.; SOARES JÚNIOR, M.S.; NAVES, R.V.; SOUZA, E.R.B.D.; BRASIL, E.P.F.; CALIARI, M.; LEANDRO, W.M. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no Cerrado do estado de Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP*, v.31, n.1, p.112-118, 2009.

WINK, M.; LATZ-BRUNING, B. Allelopathic properties of alkaloids and other natural products. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; EINHELLIG, F.A. (Eds.). *Allelopathy: Organisms, processes and applications*. Washington, DC: American Chemical Society. 1995. v. 582, p. 117-126.

YOSHIDA, T.; AMAKURA, Y.; YOKURA, N.; ITO, H.; ISAZA, J.H.; RAMIREZ, S.; PELAEZ, D.P.; RENNER, S.S. Oligomeric hydrolyzable tannins from *Tibouchina multiflora*. *Phytochemistry*, v.52, n.8, p. 1661-1666, 1999.

YOUNG, M.C.; ARAUJO, A.F.; DA SILVA, C.A.; LOPES, M.N.; TREVISAN, L.M.; BOLZANI, V.S. Triterpenes and saponins from *Rudgea viburnoides*. *Journal of Natural Products*, v.61, p.936-938, 1998.

ZAHEDI, S. M.; KARIMI, M.; VENDITTI, A. Plants adapted to arid areas: specialized metabolites. *Natural Product Research*, p.1–18. 2019.

ZIMDAHL, R.L. Allelopathy. In: ZIMDAHL, R.L. *Fundamentals of weed science*. Quinta ed. Colorado: Academic press, 2018. 758p.

### 3. CAPÍTULO 2. ATIVIDADE FITOTÓXICA DOS EXTRATOS FOLIARES AQUOSOS DE DOZE ESPÉCIES DO CERRADO

**RESUMO** - As plantas com atividade fitotóxica são consideradas promissoras para o desenvolvimento de bioherbicidas visando o controle de plantas daninhas. O presente trabalho objetivou avaliar a atividade fitotóxica de extratos aquosos de folhas de doze espécies nativas do Cerrado de Mato Grosso: *Davilla elliptica*, *Tocoyena formosa*, *Combretum laxum*, *Himatanthus obovatus*, *Rudgea viburnoides*, *Diteryx alata*, *Curatella americana*, *Qualea grandiflora*, *Aspidosperma macrocarpon*, *Caryocar brasiliense*, *Tibouchina candolleana* e *Miconia albicans*, sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.). Os extratos aquosos de cada espécie foram obtidos a partir da trituração em liquidificador de 50 g de folhas frescas com 500 mL de água destilada. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com cinco concentrações de cada extrato: 0, 25, 50, 75 e 100% e, quatro repetições de 25 sementes de alface em cada. Os bioensaios foram conduzidos em condições controladas de temperatura e luminosidade (20 °C e 12 h de fotoperíodo) durante sete dias. Os extratos foram caracterizados quanto ao pH e potencial osmótico (PO). Avaliou-se a porcentagem (PG) e o índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de plântulas anormais (PA), índice de resposta ao efeito alelopático (IR), comprimento da parte aérea (CA), comprimento da raiz (CR) e massa seca das plântulas (MS). Determinou-se o grau de toxicidade dos extratos a partir de ensaio de toxicidade como o nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans*. O efeito alelopático variou de acordo com a concentração dos extratos aquosos e a espécie estudada. Verificou-se que os extratos foliares das espécies *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* apresentaram maior atividade fitotóxica sobre a germinação das sementes de alface que variou entre 96 e 17% e o índice de resposta ao efeito alelopático que ficou entre -0,4 e -0,9 na máxima concentração de 100%. A espectroscopia de IVTF dos extratos aquosos destas quatro espécies (*C. laxum*, *D. elliptica*, *Q. grandiflora* e *C. brasiliense*) confirmam a presença de grupos funcionais inibidores de germinação e desenvolvimento inicial das plantas como alcanos, alcenos, fenóis e aromáticos. Também foram reportadas as classes de compostos como: fenóis, alcalóides, flavonoides e terpenos com propriedades fitotóxicas. Os resultados dos experimentos com os extratos aquosos indicam atividade fitotóxica e descartam toxicidade para animais.

**Palavras-chave:** alelopatia, aleloquímicos, bioensaios, inibição, *Lactuca sativa* L.

### 3. CHAPTER 2. PHYTOTOXIC ACTIVITY OF AQUEOUS FOLIAR EXTRACTS OF TWELVE SPECIES OF THE CERRADO

**ABSTRACT-**Plants with phytotoxic activity are considered promising for the development of bioherbicides aiming to control weeds. The present work aimed to evaluate the phytotoxic activity of aqueous extracts of leaves of twelve native species from the Cerrado of Mato Grosso: *Davilla elliptica*, *Tocoyena formosa*, *Combretum laxum*, *Himatanthus obovatus*, *Rudgea viburnoides*, *Diteryx alata*, *Curatella americana*, *Qualea grandiflora*, *Aspidosperma macrocarpon*, *Caryocar brasiliense*, *Tibouchina candolleana* e *Miconia albicans*, on the germination and initial development of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.). The aqueous extracts of each species were obtained from the grinding in a blender of 50 g of fresh leaves with 500 mL of distilled water. A completely randomized design was used, with five concentrations of each extract: 0, 25, 50, 75 and 100% and four replicates of 25 lettuce seeds each. The bioassays were conducted under controlled conditions of temperature and light (20 ° C and 12 h of photoperiod) for seven days. The extracts were characterized for pH and osmotic potential (PO). The percentage (PG) and the germination speed index (IVG), percentage of abnormal seedlings (PA), response rate to the allelopathic effect (IR), length of the aerial part (CA), root length (CR) were evaluated ) and seedling dry mass (DM). The degree of toxicity of the extracts was determined from a toxicity test such as the free-living nematode *Caenorhabditis elegans*. The allelopathic effect varied according to the concentration of aqueous extracts and the species studied. It was found that the leaf extracts of the species *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* and *Q. grandiflora* showed greater phytotoxic activity on the germination of lettuce seeds that varied between 96 and 17% and the response rate to the allelopathic effect which was between -0.4 and -0.9 at the maximum concentration of 100%. IVTF spectroscopy of aqueous extracts from these four species (*D. elliptica*, *C. laxum*, *Q. grandiflora* and *C. brasiliense*) confirms the presence of functional groups that inhibit germination and early plant development such as alkanes, alkenes, phenols and aromatics. Classes of compounds such as phenols, alkaloids, flavonoids and terpenes with phytotoxic properties have also been reported. The results of experiments with aqueous extracts indicate phytotoxic activity and discard toxicity for animals.

**Key-words:** allelopathy, allelochemicals, bioassays, inhibition, germination, *Lactuca sativa* L.

### 3.1. INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é a Savana tropical com maior diversidade do mundo e, o segundo domínio com maior extensão do Brasil, depois da Floresta Amazônica, ocupando aproximadamente 24% de território nacional (IBGE, 2019). Possui cerca de 12.700 espécies de plantas das quais 50% são endêmicas (IBGE, 2020), sendo considerado um dos 25 *hotspot* mundiais de biodiversidade devido à riqueza em espécies, grau de endemismo e ameaça (Mittermeier et al., 2011; Oliveira et al., 2019).

O Cerrado é o ambiente mais fragmentado do Brasil, principalmente pela ocupação por pastagens cultivadas e culturas agrícolas (Strassburg et al., 2017). A redução acelerada das áreas do Cerrado somada à perda de diversidade pela presença de espécies exóticas invasoras tem originado múltiplos estudos e programas de recuperação ecológica, visando entender as complexas interações ecológicas e bioquímicas que ocorrem entre espécies; e assim conservar melhor a diversidade do Cerrado (Klink e Machado, 2005; Veldman et al., 2015; Lopes et al., 2017; Schmidt et al., 2019).

A alelopatia é uma interação bioquímica bastante estudada, definida como a influência geralmente prejudicial, de uma planta sobre outra, devido a compostos químicos tóxicos presentes nos tecidos vivos da planta que são liberados no ambiente (Zimdahl, 2018).

Um dos principais enfoques da alelopatia é encontrar compostos bioativos como potencial fonte de moléculas orgânicas de ação herbicida, devido aos crescentes casos de espécies invasoras resistentes aos sítios de ação dos herbicidas comerciais (Albuquerque et al., 2011). De acordo com Heap (2019) foram reportadas 258 espécies resistentes a 23 dos 26 sítios de ação dos herbicidas sintéticos comerciais, sendo necessária a procura de novas alternativas sustentáveis de controle de plantas daninhas a partir da descoberta de novos compostos fitotóxicos.

Os aleloquímicos são compostos provenientes do metabolismo secundário sintetizados pelas plantas como subprodutos de processos fisiológicos que podem influenciar no comportamento biológico e ecológico de outras espécies vizinhas (Cheng e Cheng, 2015). O comportamento dos aleloquímicos observado sob

condições controladas de laboratório pode ser distinto ao observado no campo, devido à natureza orgânica e à complexidade das estruturas (Inderjit e Callaway, 2003). Contudo, o uso de bioensaios de fitotoxicidade são úteis para direcionar a identificação e isolamento de novos compostos bioativos (Leather e Einhellig, 1986; Inderjit e Weston, 2000). Os bioensaios consistem em avaliar o efeito do extrato de determinada planta doadora na germinação e desenvolvimento inicial de uma espécie alvo, em condições controladas de laboratório (Albuquerque et al., 2011).

Os extratos são comumente obtidos a partir das folhas da espécie doadora, devido a maior biomassa disponível (serapilheira) (Reigosa et al., 2013), coleta não destrutiva da planta e por ser metabolicamente mais ativa devido ser o órgão da planta onde se realizam as transformações bioquímicas (Mckean, 1993). No entanto, é possível utilizar outras partes como caule, raiz, flor e semente (Silva et al., 2018). Existem várias técnicas de extração dos compostos alelopáticos de uma planta; normalmente são extraídos de partes da planta trituradas em água (extrato aquoso) ou via solventes orgânicos (extrator orgânico) com diferentes solventes (metanol, etanol, acetona, outros), obtendo-se, após a filtragem, o extrato com os compostos alelopáticos (Medeiros, 1989; Pérez-Leal et al., 2005). Os extratos aquosos são bastante utilizados neste tipo de ensaio por se assemelharem às condições ocorridas no campo (Silva et al., 2018). De acordo com Reigosa (2013) a alface (*Lactuca sativa* L.) é a planta, indicadora, mais utilizada no Brasil nestes experimentos, pois apresenta homogeneidade genética, germinação rápida e, desenvolvimento inicial uniforme, além de ser considerada uma espécie bastante sensível aos aleloquímicos.

Embora diversos estudos fitotóxicos já tenham sido realizados com espécies nativas do Cerrado (Silva et al., 2006; Gati et al., 2007; Imatomi et al., 2013); existe uma enorme riqueza de novos produtos bioativos que permanecem quase inexplorados do ponto de vista fitoquímico; assim, as descobertas permitirão não só entender as complexas interações entre espécies, como também servirão de base para a produção de novos herbicidas para o manejo sustentável de plantas daninhas.

Espécies de alta ocorrência no Cerrado, como *Diteryx alata*, *Himatanthus obovatus*, *Tibouchina candolleana*, *Aspidosperma macrocarpon*, *Combretum laxum*, *Qualea grandiflora*, *Davilla elliptica*, *Curatella americana*, *Tocoyena formosa*,

*Miconia albicans*, *Caryocar brasiliense* e *Rudega viburnoides*, apresentam propriedades medicinais e uso popular em Mato Grosso. É sabido que as plantas medicinais são fontes ricas em compostos bioativos. De acordo com Zahedi et al. (2019) as plantas medicinais adaptadas a zonas áridas incrementam a produção de metabólitos especializados quando expostas a situações de estresse, pois, estes metabólitos ajudarão a planta a sobreviver na época seca (Verma e Shukla, 2015). Assim, espécies coletadas em área propensa a queimadas repentinas na época seca possuem importantes reservas de compostos com potencial bioativo que precisam ser explorados quanto à toxicidade, além das propriedades medicinais.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial fitotóxico dos extratos aquosos de doze espécies nativas do Cerrado Mato-grossense, mediante bioensaios de germinação das sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*L. sativa* L.).

### **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi dividido em duas etapas: a primeira consistiu na avaliação dos extratos aquosos de doze espécies nativas do Cerrado quanto ao efeito alelopático na inibição da germinação de sementes e, quanto ao desenvolvimento inicial de plântulas de alface. Na segunda etapa, caracterizou-se quimicamente e avaliou-se o grau de toxicidade dos extratos das espécies que apresentaram maior potencial alelopático na primeira etapa do estudo.

#### **3.2.1. Coleta do material vegetal**

Para a realização do presente estudo foram utilizadas folhas de 12 espécies nativas do Cerrado, coletadas de indivíduos adultos no município de Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brasil. As coordenadas geográficas do local de coleta são: 15°10' - 15°30' latitude Sul e 55°40' - 56°00 longitude Oeste, correspondente a uma área de Cerrado de regeneração natural. O clima do local é o Aw segundo a classificação de Köppen, com temperatura média anual de 21,5 a 22,5 °C; precipitação média anual de 1.800 a 2.000 mm (ICMBIO, 2009) e o solo é classificado como Latossolo vermelho (Salomão et al., 2012).

A coleta foi realizada no período seco, entre os meses de agosto e setembro de 2018; no horário da manhã, entre 08h00min e 10h00min horas, em condições de

pleno sol. O material coletado foi transportado em sacos de polietileno, devidamente identificados, para serem armazenados em câmara refrigerada ( $18 \pm 2$  °C) até o preparo dos extratos aquosos (2 dias).

As doze espécies avaliadas correspondem a oito famílias distintas de angiospermas. A exsicata de cada uma das espécies coletadas foi depositada no Herbário Central da UFMT e o código correspondente é apresentado na Tabela 1.

**TABELA 1.** Espécies nativas do Cerrado Mato-Grossense utilizadas neste estudo com o respectivo código da exsicata depositada no Herbário Central da UFMT. Chapada dos Guimarães/MT.

N°	Espécies	Famílias	Exsicatas
1	<i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil. <i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schltld.)	Dilleniaceae	UFMT 44313
2	K. Schum.	Rubiaceae	-
3	<i>Combretum laxum</i> Jacq. <i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.)	Combretaceae	UFMT 44312
4	Woodson	Apocynaceae	UFMT 44362
5	<i>Rudgea viburnoides</i> (Cham.) Benth.	Rubiaceae	-
6	<i>Dipteryx alata</i> Vogel	Fabaceae	UFMT 44376
7	<i>Curatella americana</i> L.	Dilleniaceae	UFMT 44363
8	<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	Vochysiaceae	UFMT 44366
9	<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart. & Zucc.	Apocynaceae	UFMT 44364
10	<i>Caryocar brasiliense</i> Cambess. <i>Tibouchina candolleana</i> (Mart. ex	Caryocaraceae	UFMT 44365
11	DC.) Cogn.	Melastomataceae	UFMT 44315
12	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Melastomataceae	UFMT 44314

### 3.2.2. Preparo dos extratos aquosos

O trabalho de preparo dos extratos aquosos foi conduzido no Laboratório de Sementes da Faculdade de Agronomia e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Campus Cuiabá/MT. As folhas frescas de cada espécie foram previamente lavadas e desinfetadas em solução com hipoclorito de sódio a 2,5% por 5 minutos. Em seguida, foram enxaguadas com água destilada e secas delicadamente com papel toalha. As folhas foram trituradas em liquidificador por 1 minuto na proporção de 50 g de folhas para 500 mL de água destilada em temperatura ambiente (Pires e Oliveira, 2011).

Os extratos aquosos brutos, equivalentes às concentrações de 100%, foram peneirados (malha de 1 mm) e armazenados a 18 °C em frascos de vidro âmbar,

previamente identificados, até a utilização nos bioensaios (2 dias). A partir dos extratos aquosos brutos foram obtidas as concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100% pelo método de diluição em água destilada.

### **3.2.3. Caracterização do pH e potencial osmótico dos extratos**

A determinação do pH foi feita em pHmetro modelo Instruterm pH-2000 e, a condutividade elétrica (CE) com condutivímetro modelo Digimed DM-32. A partir dos valores da CE determinou-se o potencial osmótico (PO) de acordo com a fórmula proposta por Ayers e Westcot (1976), onde potencial osmótico em atmosfera (atm) =  $-0,36 \cdot CE$ , sendo CE em  $dS\ m^{-2}$ . Os dados em atm foram transformados para megapascal (MPa).

### **3.2.4. Bioensaios**

Para a realização dos bioensaios de germinação e de crescimento inicial foram utilizadas sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivar Veneranda adquirida no comércio local (marca Feltrin). Os bioensaios com os extratos aquosos de cada espécie foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, constituídos pelas concentrações dos extratos foliares obtidas por diluição 0% – controle, 25, 50, 75 e 100%, com quatro repetições de 25 sementes de alface em cada.

As sementes foram colocadas em caixas plásticas transparentes, tipo gerbox (11 x 11 x 3 cm), sobre duas folhas de papel mata-borrão umedecidas, com os respectivos tratamentos, na quantidade de 2,5 vezes a massa do substrato seco. As caixas foram tampadas e vedadas com filme plástico para reduzir a perda de umidade, e mantidas em câmara de germinação tipo BOD, durante sete dias, com temperatura constante de 20 °C e fotoperíodo de 12 horas, segundo as Regras Para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

### **3.2.5. Avaliações**

As sementes foram avaliadas a cada 24 horas até a estabilização da germinação, sendo consideradas germinadas aquelas que apresentaram 2 mm de protrusão radicular de acordo com o conceito de germinação fisiológica citado por Marcos Filho (2015).

Obeve-se a porcentagem de germinação (PG) e o índice de velocidade de germinação (IVG). A porcentagem de germinação foi calculada pela expressão:  $PG = (N/A) \cdot 100$ , onde: N = número de sementes germinadas, A = número total de sementes colocadas para germinar.

Para se calcular o IVG, foi utilizado o registro das contagens diárias do número de sementes germinadas e aplicada a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = (G1/N1) + (G2/N2) + \dots + (Gn /Nn)$$

Onde:

G1, G2, e Gn= número de sementes germinadas na primeira contagem, na segunda e na última contagem, respectivamente.

N1, N2, Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem, respectivamente.

Ao final do experimento, aos sete dias, avaliou-se a porcentagem de plântulas anormais (PA) (Brasil, 2009). As plântulas normais foram avaliadas quanto ao comprimento da parte aérea (CA): região de transição da raiz até a inserção dos cotilédones e, comprimento da raiz (CR): região de transição da parte aérea até o ápice da maior raiz, com o auxílio de uma régua graduada em centímetros, sendo os resultados expressos em cm plântula<sup>-1</sup>. Para se determinar a biomassa seca, as plântulas medidas foram colocadas em cápsulas de alumínio, previamente identificadas e, secas em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C, onde permaneceram 72 horas ou até atingirem massa constante. Após esse período, as amostras foram colocadas para resfriar em dessecadores, por aproximadamente 60 minutos e, pesadas em balança semi-analítica (0,001 g), sendo os resultados de biomassa seca expressos em mg plântula<sup>-1</sup>.

O índice de resposta ao efeito alelopático (IR) sugerido por Williamson e Richardson (1988) foi calculado de acordo com a fórmula:

$$IR = 1 - C/T \quad (T \geq C) \quad \text{ou} \quad IR = T/C - 1 \quad (T < C)$$

Onde:

C = velocidade de germinação do controle (0%) e T = velocidade de germinação do tratamento.

### **3.2.6. Análise estatística dos dados**

Para atendimento dos pressupostos da análise de variância, os dados foram avaliados em função da homogeneidade de variância (Levene) e normalidade

(Shapiro-Wilk), para cada variável e espécie doadora correspondente, sendo realizada a transformação dos dados quando necessário, adotando-se a transformação angular arco-seno para porcentagem (PG, PA).

Com os dados paramétricos foi realizada a análise de variância (ANOVA) para o extrato de cada espécie. Quando as diferenças foram significativas ( $p < 0,05$ ) realizou-se análise de regressão, sendo ajustadas regressões polinomiais e, a escolha baseada na significância ( $p < 0,05$ ) e no coeficiente de determinação ( $R^2$ ). As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2010). Paralelamente foi realizado teste Duncan ( $p < 0,05$ ) para comparação de médias dos dados paramétricos e, para os dados não paramétricos foi realizado o teste de Mann-Whitney com auxílio do programa estatístico SPSS versão 22.

### **Análise da toxicidade e composição química**

A partir dos resultados das doze espécies estudadas na primeira etapa, foram escolhidas quatro com maior efeito alelopático, tanto em relação à inibição da germinação das sementes, quanto ao crescimento inicial das plântulas de alface. Assim, os extratos aquosos das espécies *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* foram avaliados em função da toxicidade e da composição química a partir da seguinte metodologia:

#### **3.2.7. Ensaio de toxicidade**

Para o ensaio de toxicidade dos extratos foi utilizado o nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans* N2 nos estágios L4 (adultos) sincronizados (Porta-de-la-Riva et al., 2012). Foram utilizados extratos aquosos (metodologia descrita anteriormente) das espécies *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* previamente liofilizados e diluídos em água ultrapura na concentração de  $4 \text{ mg mL}^{-1}$ , e o meio controle negativo (tampão). Em uma placa de 96 poços foram adicionados  $80 \text{ } \mu\text{l}$  de cada extrato ( $4 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e  $20 \text{ } \mu\text{l}$  de meio K contendo 15-20 nematoides por poço. A placa foi selada e incubada em BOD por 24 horas, a  $20 \text{ } ^\circ\text{C}$ . Foram avaliadas nove repetições por tratamento (poço). A sobrevivência dos nematoides foi contabilizada utilizando uma lupa (Motic SMZ-168) e, quando necessário, foi empregado estímulo físico para observação de movimento corporal.

Os dados não atenderam os supostos de normalidade e homogeneidade de variância, assim, análise estatística não paramétrica foi realizada utilizando a prova Kruskal-Wallis com o auxílio do programa estatístico SPSS versão 22.

### **3.2.8. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF)**

Identificaram-se os grupos funcionais presentes nos extratos aquosos das quatro espécies com maior efeito alelopático (*C. laxum*, *D. elliptica*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora*). Os espectros de infravermelho das quatro espécies selecionadas foram obtidos utilizando-se pastilha de brometo de potássio (KBr), seco em estufa por 24 horas, preparada no laboratório com o auxílio de uma prensa hidráulica na proporção de 100 mg de KBr para 1 mg dos extratos aquosos liofilizados (Kumirska et al., 2010) sendo inicialmente realizado o procedimento de *background* da pastilha de KBr. As análises foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu Irapaffinity-1 (Modelo IRAffinity-1; Cat.No. 206-73500-38; Serial NO. A21374902249S1; Marca: Shimadzu Corporation) e a obtenção dos espectros de IVFT foi via software IRSolution (Versão: 1.50), utilizando os seguintes parâmetros de aquisição: Modo de Medida (% Transmittância); Apodizaiton (Happ\_Genzel); Número de Scans (200); Resolução (16); Range (400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ); Gain (1). As análises foram realizadas em triplicata para cada um dos extratos das espécies estudadas.

### **3.2.9. Identificação de classes**

As classes dos metabólitos secundários foram identificadas por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando como adsorvente sílica gel 60 0,20 mm F<sub>254</sub> e como eluente acetato: metanol 90:20 (v/v), com adição de uma gota de DMF (dimetilformamida). As revelações foram realizadas com os seguintes reveladores: vanilina para terpenos; cloreto férrico para compostos fenólicos (Wagner e Bladt, 2001); cloreto de alumínio para flavonóides (Jork et al, 1990) e reagente Ehrlich para alcalóides (Molyneux e Roitman, 1980).

## **3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados do pH e potencial osmótico (PO) dos extratos de cada espécie encontram-se na Tabela 2. Segundo Gatti et al. (2004) soluções com potencial

osmótico menores ou próximos de -0,2 MPa não interferem na germinação de sementes de alface. Por sua vez, Wandscheer et al. (2011) demonstraram que os parâmetros da germinação de alface não são alterados quando expostos a soluções com pH entre 3 e 11.

Todos os extratos estudados apresentaram valores dentro dos acima citados, sendo que o valor máximo de potencial osmótico obtido foi de -0,04 MPa correspondente às espécies *H. obovatus* e *A. macrocarpon*. Os valores de pH dos extratos foliares das espécies avaliadas ficaram entre 3,71 e 5,17 (Tabela 2).

**TABELA 2.** Potencial osmótico (PO) e potencial hidrogeniônico (pH) dos extratos aquosos obtidos de folhas de espécies nativas do Cerrado Matogrossense, Chapada dos Guimarães /MT, 2018.

<b>Espécies</b>	<b>pH</b>	<b>PO (MPa)</b>
<i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil.	4,63	-0,03
<i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schtdl.) K. Schum	5,00	-0,02
<i>Combretum laxum</i> Jacq.	5,06	-0,02
<i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.) Woodson	4,71	-0,04
<i>Rudgea viburnoides</i> (Cham.) Benth.	5,00	-0,02
<i>Dipteryx alata</i> Vogel	5,17	-0,02
<i>Curatella americana</i> L.	4,76	-0,03
<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	3,92	-0,01
<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart. & Zucc.	3,71	-0,04
<i>Caryocar brasiliense</i> Cambess.	3,72	-0,03
<i>Tibouchina candolleana</i> (Mart. ex DC.) Cogn.	4,08	-0,02
<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	4,22	-0,01
Água (controle)	6,64	0,00

Para Ferreira e Áquila (2000), o controle do pH e da concentração osmótica dos extratos brutos é essencial nos testes de germinação em laboratório, pois, podem existir nos extratos substâncias osmoticamente ativas que alteram com o pH, como aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos, inibindo a germinação e mascarando o efeito alelopático. Portanto, os resultados observados nos bioensaios correspondem ao efeito dos metabólitos secundários presentes nos extratos e não por ação do potencial osmótico ou pH.

A Tabela 3 apresenta os resultados dos bioensaios de germinação das sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de alface para os doze extratos avaliados, nas cinco concentrações testadas. Os resultados são apresentados tanto no modelo de regressão ajustado como de teste de médias para cada variável e espécie estudada.

**TABELA 3.** Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) sob diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas de espécies do Cerrado. Chapada dos Guimarães /MT, 2018.

Variáveis	Concentrações					Equações de regressão	Valor P	CV	R <sup>2</sup>
	0	25	50	75	100				
<i>Davilla elliptica</i> A.St-Hil									
PG	92,0 a	91,0 a	88,0 a	91,0 a	73,0 b	$\hat{Y}=90,6+0,1680x-0,0032x^2$ **	0,000	5,6	0,79
IVG	16,6 a	16,1 a	15,4 a	14,0 a	9,4 b	$\hat{Y}=17,6-0,0661x$ **	0,003	16,0	0,81
PA	10,0 c	40,0 b	80,0 a	99,0 a	100,0 a	-	-	17,2	-
CA	2,8 a	1,5 b	1,3 b	-	-	$\hat{Y}=2,5875-0,0295x$ **	0,003	13,6	0,84
CR	2,2 a	2,6 a	2,7 a	-	-	$\hat{Y}=2,48$	0,598	29,5	-
MS	0,5 a	0,4 a	0,1 b	-	-	$\hat{Y}=0,5625-0,0085x$ **	0,018	32,0	0,91
<i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schltdl.) K. Schum									
PG	99,0 a	95,0 b	93,0 b	96,0 ab	98,0 ab	-	-	3,9	-
IVG	23,9 a	22,5 a	22,3 a	21,5 a	22,4 a	$\hat{Y}=22,5$	0,205	6,1	-
PA	1,0 ab	5,0 a	7,0 a	4,0 ab	2,0 ab	-	-	98,9	-
CA	1,8 a	1,6 ab	1,3 b	1,3 b	1,3 b	$\hat{Y}=1,770-0,0058x$ **	0,049	19,1	0,88
CR	3,7 a	1,8 b	1,9 b	2,0 b	1,9 b	$\hat{Y}=3,4557-0,0556x+0,0004x^2$ **	0,000	12,2	0,80
MS	0,5 a	0,7 a	0,6 a	0,6 a	0,5 a	$\hat{Y}=0,608$	0,164	17,8	-
<i>Combretum laxum</i> Jacq.									
PG	92,0 a	83,0 a	68,0 b	48,0 c	17,0 d	$\hat{Y}=98,60-9,74x$ **	0,000	12,0	0,95
IVG	16,6 a	10,0 b	6,4 c	3,7 d	1,1 e	$\hat{Y}=15,02-0,1491x$ **	0,000	12,0	0,96
PA	10,0 d	20,0 d	39,0 c	62,0 b	91,0 a	$\hat{Y}=3,600+0,8160x$ **	0,000	19,1	0,97
CA	2,8 a	2,6 a	2,3 ab	1,9 b	-	$\hat{Y}=2,8075-0,0107x$ **	0,031	14,3	0,97
CR	2,2 b	2,3 ab	3,2 a	3,2 a	-	$\hat{Y}=2,12+0,0153x$ **	0,006	15,2	0,86
MS	0,5 a	0,3 b	0,3 b	0,3 b	-	$\hat{Y}=0,4425-0,0033x$ *	0,023	40,3	0,60
<i>Himatanthus obovatus</i> (Müll, Arg.) Woodson									
PG	99,0 a	98,0 a	98,0 a	99,0 a	97,0 a	$\hat{Y}=98,20$	-	2,6	-
IVG	23,9 a	23,6 a	23,3 a	23,9 a	22,6 a	$\hat{Y}=23,46$	-	5,0	-
PA	1,0 a	2,0 a	2,0 a	1,0 a	3,0 a	$\hat{Y}=1,5$	-	143,4	-
CA	1,8 ab	2,0 a	1,6 b	1,5 b	1,2 c	$\hat{Y}=1,9805-0,0071x$ **	0,000	12,3	0,80
CR	3,7 a	2,1 b	1,9 b	1,4 c	1,2 c	$\hat{Y}=3,5586-0,0508x+0,0002x^2$ **	0,000	12,7	0,95
MS	0,5 a	0,6 a	0,6 a	0,6 a	0,6 a	$\hat{Y}=0,53$	-	9,5	-

<i>Rudgea viburnoides</i> (Cham.) Benth									
PG	99,0 a	96,0 ab	98,0 ab	95,0 b	98,0 ab	-	-	3,3	-
IVG	23,9 a	22,9 a	22,5 a	21,7 a	22,4 a	$\bar{Y}=22,69$	0,356	6,6	-
PA	1,0 b	4,0 ab	2,0 ab	5,0 a	2,0 ab	-	-	113,6	-
CA	1,8 a	1,7 a	1,8 a	1,6 a	1,7 a	$\bar{Y}=1,74$	0,717	13,3	-
CR	3,7 a	1,2 b	1,2 b	1,0 b	0,9 b	$\hat{Y}=3,410-0,0754x+0,0005x^2$ **	0,000	13,9	0,86
MS	0,5 a	0,5 a	0,6 a	0,5 a	0,6 a	$\bar{Y}=0,56$	0,145	14,8	-
<i>Dipteryx alata</i> Vogel.									
PG	99,0 a	99,0 a	98,0 a	92,0 a	96,0 a	-	-	3,8	-
IVG	23,9 a	18,3 bc	21,5 ab	15,1 cd	12,7 d	$\hat{Y}=23,4291-0,1028x$ **	0,000	12,0	0,79
PA	1,0 a	1,0 a	2,0 a	8,0 a	4,0 a	$\bar{Y}=3,2$	-	114,1	-
CA	1,8 a	1,9 a	1,8 a	1,6 a	1,5 a	$\bar{Y}=1,73$	0,163	12,6	-
CR	3,7 a	1,3 b	1,4 b	1,6 b	1,5 b	$\hat{Y}=3,4056-0,0710x+0,0005x^2$ **	0,000	12,3	0,81
MS	0,5 a	0,5 a	0,6 a	0,5 a	0,5 a	$\bar{Y}=0,54$	0,233	12,4	-
<i>Curatella americana</i> L.									
PG	99,0 a	98,0 ab	98,0 ab	96,0 b	96,0 b	-	-	2,3	-
IVG	23,9 a	15,2 b	13,0 b	11,5 c	11,0 d	-	-	6,1	-
PA	1,0 b	2,0 ab	2,0 ab	4,0 a	4,0 a	-	-	86,6	-
CA	1,8 a	1,7 ab	1,4 bc	1,3 c	1,3 c	$\hat{Y}=1,8165-0,0058x$ **	0,014	15,1	0,89
CR	3,7 a	1,0 b	0,9 b	0,9 b	1,0 b	$\hat{Y}=3,4075-0,0876x+0,0006x^2$ **	0,000	12,4	0,88
MS	0,5 a	0,6 a	0,5 a	0,5 a	0,6 a	$\bar{Y}=5,6$	0,068	11,7	-
<i>Qualea grandiflora</i> Mart.									
PG	(1,4)	(1,3)	(1,2)	(1,0)	(1,0)	$\hat{Y}=1,3920-0,0042x$ **	0,001	9,3	0,98
IVG	96,0 a	91,0 ab	87,0 bc	74,0 cd	68,0 d	$\hat{Y}=13,6550-0,0717x$ **	0,000	12,4	0,95
PA	13,6 a	11,9 b	10,1 b	8,3 c	6,5 c	$\hat{Y}=8,20-0,860x$ **	0,000	22,5	0,92
CA	19,0 a	23,0 a	38,0 a	76,0 a	100,0 a	$\hat{Y}=2,1948-0,0123x$ **	0,001	12,4	0,96
CR	2,3 a	1,8 b	1,5 bc	1,3 c	-	$\hat{Y}=3,9221-0,030x$ **	0,000	16,4	0,87
MS	4,2 a	2,6 b	2,6 b	1,8 c	-	$\hat{Y}=0,5256+0,0026x$ **	0,017	13,7	0,64
MS	0,5 b	0,6 ab	0,6 b	0,8 a	-				
<i>Aspidosperma macrocarpon</i>									
PG	(1,4)	(1,3)	(1,2)	(1,0)	(1,0)	$\hat{Y}=1,392-0,0043x$ **	0,001	9,3	0,98
IVG	96,0 a	91,0 ab	87,0 bc	74,0 cd	68,0 d	$\hat{Y}=13,5607-0,0925x+0,0005x^2$ **	0,000	9,7	0,98
PA	13,6 a	11,5 b	10,6 bc	9,4 c	9,9 c	-	-	46,9	-
CA	19,0 b	21,0 ab	30,0 a	36,0 a	47,0 a	$\hat{Y}=2,1759-0,0190x+0,0001x^2$ *	0,000	11,2	0,87
CR	2,3 a	1,6 b	1,6 b	1,5 b	1,4 b	$\hat{Y}=3,96-0,0669x+0,0005x^2$ **	0,000	15,5	0,99
CR	4,2 a	2,1 c	2,2 bc	2,6 bc	2,8 b				

MS	0,5 b	0,6 b	0,6 b	0,6 ab	0,8 a	$\hat{Y}=0,5121+0,0021x^{**}$	0,036	15,6	0,85
<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.									
PG	(1,4) 96,0 ab	(1,4) 97,0 a	(1,2) 85,0 c	(1,3) 90,0 b	(1,2) 86,0 c	$\hat{Y}=96,20-0,1080x^{**}$	0,011	5,7	0,59
IVG	13,5 a	11,5 b	9,8 c	10,4 bc	9,2 c	$\hat{Y}=12,8450-0,0393x^{**}$	0,000	9,9	0,82
PA	19,0 c	38,0 c	50,0 bc	80,0 b	100,0 a	-	-	21,9	-
CA	2,3 a	1,7 b	1,2 c	1,4 bc	-	$\hat{Y}=2,2784-0,0343x+0,0002x^2^{**}$	0,000	12,4	0,99
CR	4,2 a	1,9 c	2,5 bc	3,0 b	-	$\hat{Y}=4,0834-0,0963x+0,0011x^2^{**}$	0,000	17,2	0,84
MS	0,5 c	0,6 b	0,7 ab	0,8 a	-	$\hat{Y}=0,5339+0,0037x^{**}$	0,002	11,0	0,97
<i>Tibouchina candolleana</i> (Mart. ex DC.) Cogn									
PG	96,0 a	90,0 a	93,0 a	90,0 a	84,0 a	$\bar{Y}=90,6$	0,066	5,9	-
IVG	13,6 a	11,3 a	13,0 a	12,7 a	13,6 a	$\bar{Y}=12,81$	0,261	12,1	-
PA	(0,4) 19,0 b	(0,5) 25,0 b	(0,6) 28,0 b	(0,4) 20,0 b	(1,0) 66,0 a	$\hat{Y}=0,5013-0,0053x+0,00009x^2^*$	0,000	28,7	0,66
CA	2,3 a	2,4 a	2,2 a	2,2 a	1,7 a	$\bar{Y}=2,15$	0,070	14,0	-
CR	4,2 a	3,4 b	2,9 b	1,3 c	1,7 c	$\hat{Y}=4,1255-0,0284x^{**}$	0,000	20,1	0,87
MS	0,5 c	0,6 bc	0,6 bc	0,7 b	0,8 a	$\hat{Y}=0,4938+0,0029x^{**}$	0,000	12,1	0,90
<i>Miconia albicans</i> (SW.) Triana									
PG	(1,3) 92,0 a	(1,2) 84,0 a	(1,1) 80,0 a	(1,1) 79,0 a	(1,2) 84,0 a	$\bar{Y}=1,169$ $\bar{Y}=83,8$	0,222	10,66 9,58	- -
IVG	16,6 a	13,9 ab	9,7 c	11,3 bc	12,4 bc	$\hat{Y}=16,8935-0,1967x+0,0015x^2^{**}$	0,001	14,7	0,90
PA	10,0 d	42,0 c	96,0 a	76,0 b	100,0 a	-	-	11,0	-
CA	2,8 a	1,8 b	-	1,2 c	-	$\hat{Y}=2,5678-0,0192x^{**}$	0,000	14,0	0,85
CR	2,2 a	1,9 a	-	1,2 a	-	$\bar{Y}=1,74$	0,054	29,3	-
MS	0,5 a	0,6 a	-	0,4 a	-	$\bar{Y}=0,5$	0,122	20,6	-

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) ou pelo teste Duncan ( $p < 0,05$ ).

CV: coeficiente de variação (%);  $R^2$ : coeficiente de determinação (%); \*\*, \*: significativo aos níveis de 1 e 5%, respectivamente, pelo teste F.

PG: porcentagem de germinação (%); IVG: índice de velocidade de germinação; PA: porcentagem de plântulas anormais (%); CA: comprimento da parte aérea (cm); CR: comprimento da raiz (cm); MS: massa seca (mg plântula<sup>-1</sup>).

( ): Dados transformados

Para a variável porcentagem de germinação houve diferença entre as concentrações dos extratos de *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. americana*, *Q. grandiflora*, *A. macrocarpon* e *C. brasiliense*, variando entre 79 e 99% de germinação. Os extratos das espécies *C. laxum*, *Q. grandiflora*, *A. macrocarpon* e *C. brasiliense* reduziram a germinação das sementes de alface, sendo os dados ajustados ao modelo de regressão linear, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) entre 59 e 98%.

Para *D. elliptica* a diferença na porcentagem de germinação é representada pelo modelo de regressão quadrática, com  $R^2$  de 79% e, só houve inibição da germinação na máxima concentração (100%). No caso da espécie *C. americana* houve diferença na porcentagem de germinação entre as concentrações ao compará-las com o controle (0%), sendo maior a inibição na maior concentração do extrato.

Na maioria dos casos a alelopatia não afeta a porcentagem de germinação, por ser considerado o parâmetro menos sensível à ação dos aleloquímicos; porém, pode interferir no vigor das sementes, atuando na velocidade do processo de germinação (Ferreira e Áquila, 2000; Borghetti e Ferreira, 2004). Nesse sentido, os resultados do índice de velocidade de germinação (Tabela 3) demonstram que os extratos das espécies estudadas neste trabalho causaram redução significativa na velocidade de germinação das sementes de alface de maneira inversamente proporcional à concentração dos extratos, com exceção de *H. obovatus*, *R. viburnoides* e *T. candolleana*, variando de 1,1 a 23,9; sendo que os maiores valores de índice de velocidade de germinação indicam maior rapidez e, portanto, menor interferência no processo de germinação da semente.

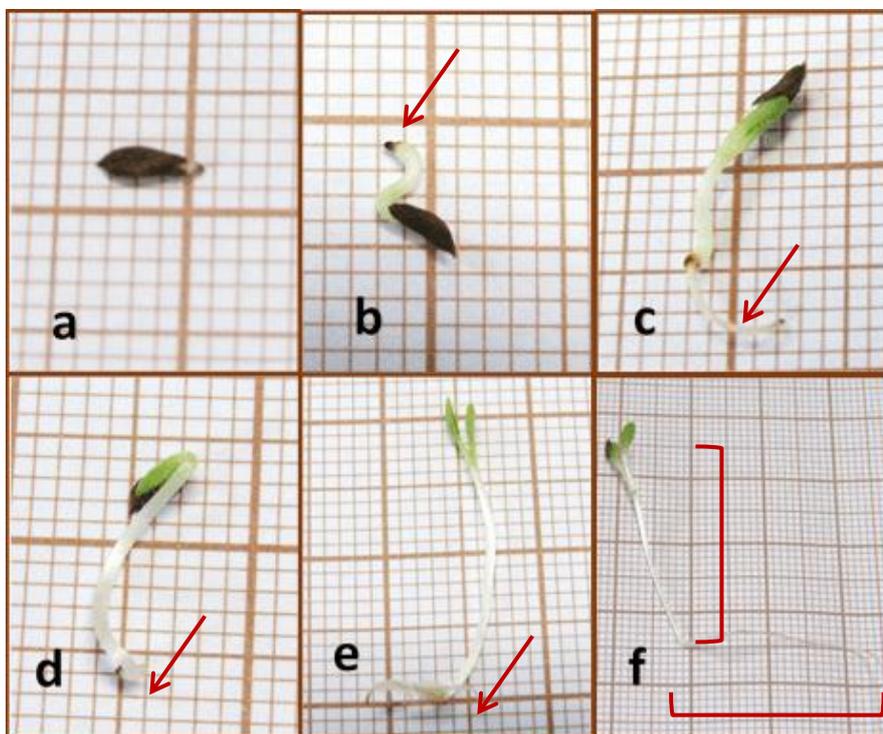
Os resultados do índice de velocidade de germinação seguiram modelos polinomiais de primeiro e segundo grau com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) acima de 79%. De acordo com o teste de médias os resultados indicam redução da velocidade de germinação conforme se incrementa as concentrações dos extratos.

Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Gatti et al. (2007) e Gonçalves (2016) que não encontraram diferenças na porcentagem de germinação de sementes de alface com extratos aquosos de folhas de

espécies nativas do Cerrado; porém, os autores relatam redução significativa no índice de velocidade de germinação.

Do ponto de vista ecológico, sementes que germinam mais lentamente podem apresentar um desenvolvimento inicial reduzido e, portanto, ficam mais susceptíveis às condições de estresse e, são menos capazes de competir por recursos como água e nutrientes (Jefferson e Pennachio, 2003).

As substâncias alelopáticas podem induzir a formação de plântulas anormais e, a raiz é a estrutura que responde mais drasticamente (Grisi et al., 2011), sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns (Ferreira e Áquila, 2000). Neste estudo avaliou-se a porcentagem de plântulas anormais, seguindo os critérios morfológicos apresentados na figura 1. As porcentagens de plântulas anormais de alface variaram de 1 a 100%, aumentando com a concentração dos extratos para a maioria das espécies estudadas (Tabela 3).



**FIGURA 1.** Semente e plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) consideradas anormais: a) germinação incompleta, b) ausência de raiz e ponta queimada, c) raiz fraca e desproporcional, d) ausência de raiz, e) ausência de raiz primária e presença precoce de raízes secundárias e, f) plântula normal.

Neste trabalho, as plântulas de alface classificadas como anormais (Tabela 3) apresentaram características como: ausência de raízes secundárias, necrose no ápice da raiz, escurecimento e endurecimento da raiz, geotropismo negativo, ausência ou atrofia da raiz primária, raízes pequenas ou desproporcionais em relação à parte aérea e ausência de raiz. Estes efeitos variaram em intensidade dependendo da espécie e concentração estudadas, podendo as plântulas apresentarem no mesmo tratamento mais de uma destas características.

De acordo com Aloni et al. (2006), quando existe uma lesão na coifa, os níveis de citocinina que controlam a curvatura geotrópica da raiz são reduzidos e induzem a inversão gravitrópica da mesma. Essa inversão gravitrópica pode ser útil para as plântulas, atrasando o contato das raízes secundárias com o extrato (Imatomi et al., 2015). Por outro lado, uma redução da citocinina combinada com outros hormônios vegetais pode estimular a produção precoce de raízes secundárias (Fukaki e Tasaka, 2009), as quais são pequenas e finas e, comprometem o desenvolvimento normal das plantas.

A parte aérea das plântulas de alface foi menos sensível ao efeito dos aleloquímicos, sendo as alterações mais comuns a redução do comprimento, dano e clorose dos cotilédones. A aparência clorótica das plântulas é um sintoma da degradação das moléculas de clorofila ou da inibição da sua síntese, ambos devido à ação dos aleloquímicos (Einhellig, 1986).

Os resultados dos parâmetros do bioensaio de crescimento das plântulas de alface incluindo comprimento da parte aérea (CA), comprimento da raiz (CR) e massa seca (MS), são apresentados na Tabela 3. Os extratos foliares das espécies *D. elliptica*, *T. formosa*, *C. laxum*, *H. obovatus*, *C. americana*, *Q. grandiflora* e *M. albicans* reduziram o comprimento da parte aérea das plântulas de alface com o incremento das concentrações dos extratos aquosos, representados por modelo de regressão polinomial de primeiro grau, com  $R^2$  acima de 80%. Para os extratos aquosos foliares das espécies *A. macrocarpon* e *C. brasiliense* a redução do comprimento da parte aérea das plântulas de alface também foi dependente das concentrações dos extratos aquosos, no entanto, expressas por modelo de regressão polinomial de segundo grau com  $R^2$  de 87 e 99%, respectivamente.

De acordo com Fariba et al. (2007) os aleloquímicos podem estimular ou inibir o crescimento das plântulas dependendo da concentração. Resultados similares de inibição foram encontrados por Souza et al. (2007) ao avaliarem o desenvolvimento inicial de plântulas de gergelim (*Sesamum indicum*) em substrato formado pela mistura de triturado de folhas secas de *C. brasiliense* e solo em diferentes concentrações (0,1 e 3% massa/massa).

No caso das espécies *D. elliptica*, *T. formosa*, *C. americanae* e *A. macrocarpon* não houve diferença no comprimento da raiz das plântulas de alface entre as concentrações dos extratos aquosos, mas sim em relação ao controle. Portanto, de acordo com os resultados do teste de médias, o efeito inibitório dos extratos foliares das espécies não é intensificado com o incremento das concentrações.

Apenas os extratos foliares das espécies *D. elliptica* e *M. albicans* não apresentaram efeitos fitotóxicos no sistema radicular das plântulas de alface. Assim, modelos de regressão polinomial de segundo grau com  $R^2$  acima de 80% foram ajustados para a maioria das espécies avaliadas. Quanto maior a concentração dos extratos, maior o efeito inibitório de *T. candolleana*, *H. obovatus* e *Q. grandiflora*. Por outro lado, as espécies *R. viburnoides*, *C. americana*, *Dipteryx alata* e *T. formosa* não apresentaram diferença entre as concentrações quanto ao efeito alelopático inibitório, não existindo diferença no comprimento da raiz para a concentração mínima de 25% e a máxima de 100%, embora diferindo do tratamento controle.

Houve redução de cerca de 71% no comprimento da raiz na concentração mínima do extrato de *C. americana* (25%) quando comparada com o tratamento controle (0%). Resultados similares foram reportados por Barbosa (2011) que avaliou o efeito alelopático do extrato diclorometânico de *C. americana* no desenvolvimento de *Panicum maximum*, sendo que a 100 ppm houve redução de mais de 50% no desenvolvimento radicular e da parte aérea.

Contudo, o comprimento da parte aérea da alface foi reduzido em apenas 28% na máxima concentração (100%) do extrato de *C. americana*. Nesse sentido, os resultados concordam com os obtidos por Lopes et al. (2017) que reportaram um maior efeito alelopático do extrato aquoso de *Lepidaploa aurea* (Asteraceae) no comprimento da raiz do que na parte aérea das

espécies alvo (*Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., *Solanum lycopersicum* L. e *Sorghum bicolor* L. Moench.). Gonçalves et al. (2015) em bioensaio com extratos de *H. obovatus* verificaram que a germinação de sementes de alface não foi afetada, no entanto, reduziu drasticamente o comprimento da raiz com proporção bastante menor da parte aérea.

Chung et al. (2001) sugerem que essa diferença é devido ao contato direto e mais prolongado da raiz com o meio que contém os compostos aleloquímicos comparados com as outras partes da plântula. Magiero et al. (2009) reportam que a raiz é o órgão mais sensível ao efeito dos aleloquímicos, pois, seu alongamento depende da divisão celular que, se inibida, compromete consideravelmente o desenvolvimento normal da plântula.

O extrato foliar aquoso de *D. elliptica* proporcionou anormalidade em 100% das plântulas de alface nas concentrações de 75 e 100%, portanto, não se obteve resultado dos parâmetros comprimento da parte aérea, comprimento da raiz e massa seca, restando apenas três concentrações (0, 25 e 50%) para a análise dos dados.

Tanto a variável comprimento da parte aérea quanto a massa seca foram afetadas pelas concentrações do extrato aquoso, sendo representadas por modelos de regressão linear de primeiro grau com  $R^2$  acima de 84%.

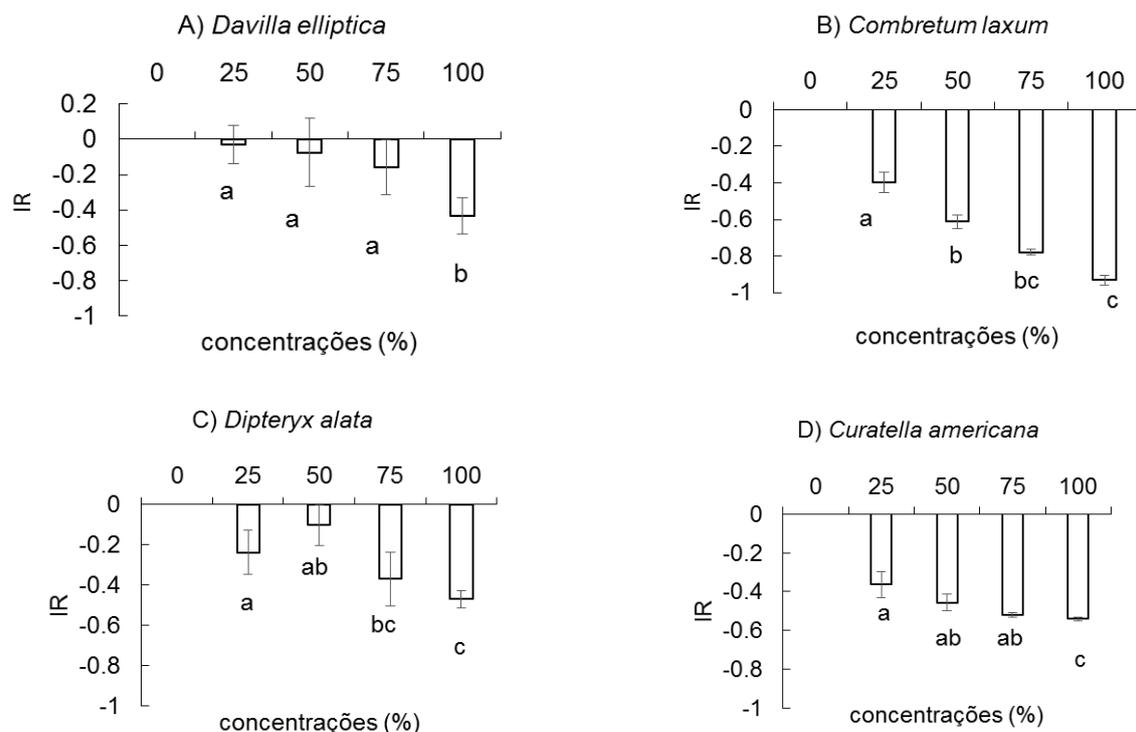
Para o comprimento da raiz não houve diferença entre as concentrações de 0, 25 e 50%. Contrariamente a estes resultados Gonçalves (2016) reportou que o extrato aquoso de *D. elliptica* inibiu mais de 50% o comprimento da raiz de alface nas concentrações de 50, 75 e 100%.

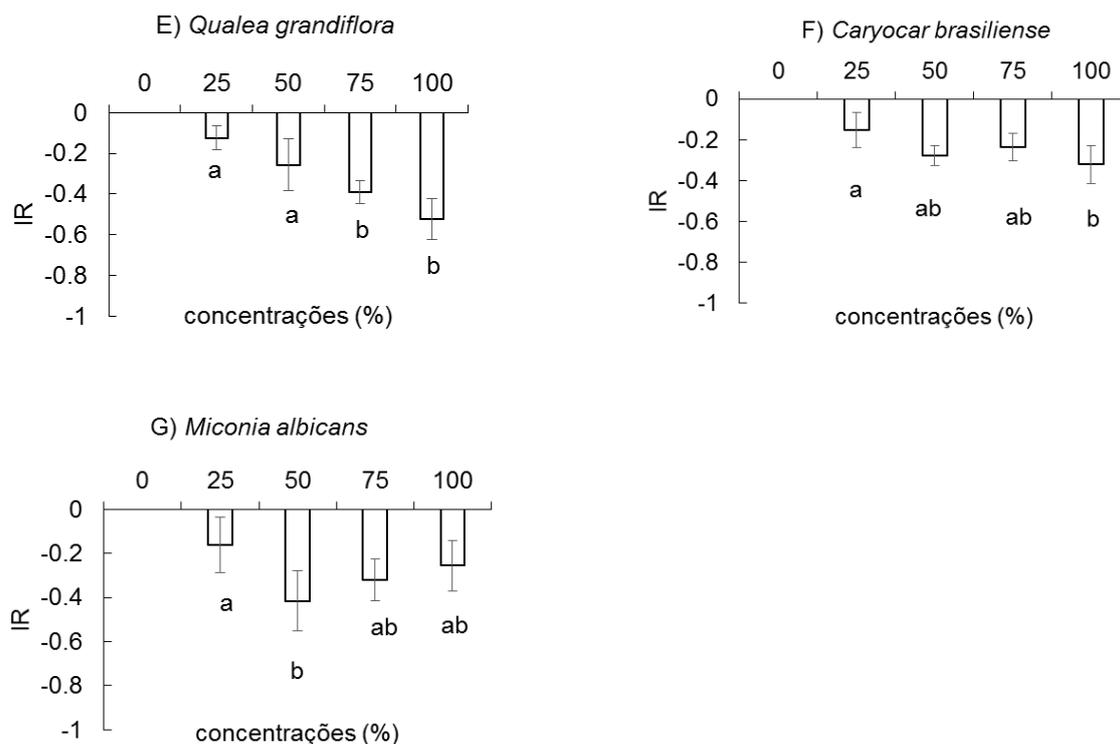
Em relação a variável massa seca, houve efeito fitotóxico dependente das concentrações apenas para as espécies *D. elliptica* e *C. laxum* ajustado à equação de regressão polinomial de primeiro grau. Os aleloquímicos causam fitotoxicidade nas plantas que é refletido na redução da massa seca das plântulas de alface expostas aos extratos aquosos. Estudos realizado por Carmo et al. (2007), reportaram redução da massa seca de plântulas de sorgo (*Sorghum granífero*) sob tratamento com extrato de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vel.) Rowher) na concentração de 10%. A redução da massa seca pode ser devido à inibição de mecanismos de hidrólise ou à danificação da estrutura celular (Hong et al., 2004).

Segundo Reigosa et al. (1999), os aleloquímicos podem afetar simultaneamente diferentes processos fisiológicos e os efeitos são dependentes da concentração e do aleloquímico presente, considerado o efeito de “dente de serra”; assim, uma concentração pode afetar de maneiras opostas (positiva ou negativa) determinados processos.

Os resultados dos bioensaios realizados por Imatomi et al. (2013) com 15 espécies da família Myrtaceae comprovaram que cada espécie doadora se comporta distintamente em relação à atividade alelopática, variando o grau do efeito fitotóxico, independente da família botânica da qual se obteve o extrato.

O índice de resposta alelopática (IR) é um importante indicador dos efeitos alelopáticos. No presente estudo os valores de IR foram sempre negativos (Figura 2), o que significa que os efeitos alelopáticos dos extratos aquosos foram inibitórios em sementes de alface e, na maioria dos casos dose dependentes. Diversos estudos demonstram IR negativo à germinação das sementes de espécies-alvo, proporcional à concentração dos extratos (Gao et al., 2009; Quispe et al., 2010; Borella et al., 2011; Gonçalves, 2016).





**FIGURA 2.** Índice de resposta alelopática (IR) de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) a diferentes concentrações de extratos aquosos foliares de espécies do Cerrado. Chapada dos Guimarães /MT, 2018. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras verticais representam o erro-padrão da média.

O extrato aquoso foliar da espécie *C. americana* apresentou IR de -0,36 na menor concentração do extrato aquoso testado (25%) (Figura 2D), indicando um maior efeito alelopático em comparação às demais espécies estudadas. No entanto, a espécie *C. laxum* teve IR próximo a -1,0 na máxima concentração (100%) (Figura 2B), demonstrando forte efeito alelopático negativo.

Em relação aos extratos aquosos das espécies *T. formosa*, *H. obovatus*, *R. viburnoides*, *A. macrocarpon* e *T. candolleana* o índice de resposta alelopática foi negativo, mas, sem diferença entre as concentrações; portanto, a resposta alelopática baseada na velocidade de germinação não é melhor com o incremento da concentração dos extratos destas espécies.

Resultados similares quanto ao índice de resposta alelopática foram reportados por Grisi et al. (2011) indicando que o extrato de frutos de *Sapindus saponaria* exerce efeito inibitório sobre o processo de germinação de alface, cebola (*Allium cepa*), capim-arroz (*Echinochloa crus-galli*) e corda-de-viola (*Sapindus saponaria*), em diferentes concentrações.

De acordo com os resultados dos bioensaios, das doze espécies medicinais estudadas foram selecionadas as espécies *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* devido ao maior efeito alelopático observado a partir da inibição nos parâmetros germinativos (PG, IVG; IR) e de desenvolvimento inicial da plântula indicadora (CA, CR).

### **Toxicidade em *Caenorhabditis elegans***

Os resultados de toxicidade indicam que os extratos aquosos das folhas de *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* não foram tóxicos para *C. elegans* N2 depois de 24 horas de tratamento (0% mortalidade). Porém, houve diferença significativa na mortalidade entre o controle negativo e o extrato aquoso das folhas da espécie *Q. grandiflora*, sendo a mortalidade média de  $10 \pm 5\%$ , indicando baixa toxicidade para *C. elegans*.

Não existem relatos na literatura sobre a toxicidade dos extratos das espécies *D. elliptica*, *C. laxum* e *Q. grandiflora* em nematoides. Por outro lado, Ribeiro et al. (2012), demonstraram efeito nematicida do extrato aquoso da casca e mesocarpo do fruto de *C. brasiliense* para a espécie de nematoide *Meloidogyne javanica*. É comprovado em vários estudos que a composição química de uma espécie varia dependendo da parte da planta analisada, influenciando na atividade biológica (Oliveira et al., 2012; Garcia et al., 2017), assim, é demonstrado neste estudo que os constituintes presentes nas folhas de *C. grandiflora* apresentam baixa toxicidade para *C. elegans*.

A vida média dos aleloquímicos pode variar desde algumas horas até meses (Demuner et al., 2005; Cecchi et al., 2004), de tal modo, a persistência dos aleloquímicos pode influenciar na química e microflora do solo (Smith, 2016; Xiao et al., 2017). Portanto, estudos de toxicidade utilizando nematoides de vida livre como organismo padrão, permitem evitar que os extratos aquosos com atividade fitotóxica afetem a vida do solo ao serem aplicados diretamente no campo.

De acordo com os resultados é possível afirmar que o efeito inibitório observado nos bioensaios corresponde, especificamente, à atividade fitotóxica e não ao grau de toxicidade dos compostos químicos presentes nas folhas.

### **Composição química**

O espectro infravermelho com transformada de Fourier (IVTF), baseado nos valores de bandas de absorção na região de infravermelho, foi obtido para identificar os grupos funcionais dos compostos ativos presentes nos extratos aquosos foliares das espécies com maior potencial alelopático (*D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora*) fundamentado em valores de bandas de absorção na região do infravermelho. Os resultados (bandas de absorção) obtidos via IVTF e grupos funcionais identificados são apresentados na Tabela 4. O espectro IVTF confirma a presença de álcoois, fenóis, alcanos, alcenos, aromáticos, hidroxilas, ácido carboxílico e aminas nos extratos aquosos foliares destas quatro espécies nativas do Cerrado.

A banda larga centrada em  $\sim 3.300\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao alongamento da ligação -OH nas proteínas, ácidos graxos, carboidratos e lignina, presentes nas plantas. O alongamento de -OH também pode ser atribuído à presença de água adsorvida na amostra (Amorim et al., 2016). Em todos os espectros, a banda -OH ficou muito longa, encobrendo estiramentos importantes de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  que auxiliariam na identificação de outros grupos funcionais no espectro IV dos extratos.

Os grupos funcionais como alcanos, alcenos, fenóis e aromáticos encontrados nos extratos foliares das espécies estudadas, são estruturalmente similares aos reportados na literatura; estes inibem a germinação de sementes, o desenvolvimento inicial das plantas, afetam a fotossíntese e a absorção de água e nutrientes (Zhang et al., 2007; Djurdjevicm et al., 2008; Zhang et al., 2010). Os fenóis apresentam forte atividade fitotóxica que afeta a estrutura das plantas e é um dos grupos funcionais mais profundamente estudados (Macías et al., 2019). A presença do grupo fenol no extrato de *C. laxum* (Tabela 5) reforça os resultados do potencial alelopático obtido a partir dos bioensaios (Tabela 3).

**Tabela 4.** Bandas de absorção IVTF e grupos funcionais presentes nos extratos aquosos de folhas de *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*. Chapada dos Guimarães, 2019.

Grupos funcionais	<i>D. elliptica</i>	<i>C. laxum</i>	<i>C. brasiliense</i>	<i>Q. grandiflora</i>	Tipo de vibração
	Banda (cm <sup>-1</sup> )				
Alcoóis	1.042-1.072	1.034-1.111	1.042-1.103	1.042	Estiramento C-O <sup>1;9</sup>
Fenol	1.234	1.204	1.227	1.211	Estiramento C-O <sup>2;8;9</sup>
Aminaaromática	1.366	1.335	1.343	1.335	Estiramento C-N <sup>1</sup>
Amina	1.512	-	1.520	1.504	Estiramento assimétrico e deformação tesoura N-H <sup>5</sup>
Alceno	1.620	1.605	1.612	1.612	Estiramento C=C ligação cis <sup>4</sup>
Aromático	1.443	1.443	-	-	Estiramento simétrico C=C <sup>6</sup>
Alcanos	2.924	2.855-2.924	1.450	1.366-1.450	Estiramento C-H com hibridização sp <sup>3</sup> metileno; deformação angular simétrico de CH <sub>3</sub> <sup>3-5;7;8</sup>
Hidroxila	3.372	3.271	3.332	3.325	Estiramento O-H com ligação de hidrogênio <sup>1;3;8</sup>
Ácido carboxílico	-	-	1.697	1.697	Estiramento C=O <sup>6;7</sup>
Aromático	764-826	-	640-818	763-918	Deformação angular C-H fora do plano <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Jemilugba et al., (2019); <sup>2</sup>Oliveira et al. (2016); <sup>3</sup>Eassa et al., (2018); <sup>4</sup>Khan et al., (2018); <sup>5</sup>Pavia et al., (2010); <sup>6</sup>Kpemissi et al., (2019); <sup>7</sup>Ujowundu et al., (2017); <sup>8</sup>Ponou et al., (2008); <sup>9</sup>Traversa et al., (2010)

É importante salientar que a atividade inibitória de aleloquímicos, como terpenóides, fenóis e ésteres na supressão de plantas daninhas alvo, pode ser regulada pela presença de substâncias menos alelopáticas, como heterocíclicos, álcoois, éteres, etc. Embora estes compostos sejam considerados menos alelopáticos são também produzidos por plantas e podem interagir com os outros metabólitos e, assim aumentar ou diminuir o efeito conjunto das substâncias (sinergismo ou antagonismo) (He et al., 2005).

Os extratos aquosos das folhas de *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* foram avaliados quanto à presença de diferentes classes de compostos secundários como fenóis, alcalóides, flavonóides e terpenos. Os resultados mostram que as espécies *D. elliptica* e *Q. grandiflora* apresentaram as quatro classes estudadas. Esses resultados concordam com os descritos na literatura ao nível de gênero e/ou espécie (Tabela 5).

**Tabela 5.** Identificação das classes de compostos secundários nos extratos aquosos foliares de *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*.

<b>Classe</b>	<b><i>Davilla elliptica</i></b>	<b><i>Combretum laxum</i></b>	<b><i>Caryocar brasiliense</i></b>	<b><i>Qualea grandiflora</i></b>
Fenóis	+ <sup>1,2</sup>	+ <sup>4,6,7</sup>	+ <sup>9</sup>	+ <sup>10</sup>
Alcalóides	+ <sup>3</sup>	+ <sup>5-7</sup>	+ <sup>8,9</sup>	- <sup>10</sup>
Flavonóides	+ <sup>1-3</sup>	-	+ <sup>8,9</sup>	- <sup>10</sup>
Terpenos	+ <sup>1</sup>	+ <sup>6,7</sup>	+ <sup>9</sup>	+ <sup>10</sup>

(-) ausente; (+) presente

<sup>1</sup>Michelin et al. (2005); <sup>2</sup>Kushima et al. (2009); <sup>3</sup>Rodrigues et al. (2019); <sup>4</sup>Touré et al. (2011); <sup>5</sup>Ujowundu et al. (2010); <sup>6</sup>Ayuba Abdul et al. (2015); <sup>7</sup>Bokhad e Rothe (2012); <sup>8</sup>Rezende et al., 2011; <sup>9</sup>Carvalho et al. (2015); <sup>10</sup>Costa et al. (2008)

Os resultados indicam que o extrato foliar aquoso da espécie *C. laxum* não apresenta flavonoides na composição química; no entanto, foi reportado presença de flavonoides em outros estudos de espécies do gênero *Combretum* (Ujowundu et al., 2010; Ayuba-Abdul et al., 2015). Os flavonoides são compostos solúveis em água devido à presença de açúcares ligados à estrutura, esta característica aumenta seu potencial na produção de futuros herbicidas (Macías et al., 2019).

Os flavonóides são uma classe característica das espécies do gênero *Combretum* (Martini et al., 2004); porém, neste estudo não foram identificados

no extrato aquoso das folhas da espécie *C. laxum* (Tabela 5). Os resultados de infravermelho da espécie confirmam a presença do grupo funcional fenol (Tabela 4), importante na estrutura molecular dos flavonóides junto aos anéis aromáticos unidos a um grupo hidroxila; portanto, possivelmente a não identificação da classe, utilizando cromatografia em camada delgada, pode ser devido à baixa sensibilidade da técnica utilizada ou à baixa concentração no extrato aquoso. Sugere-se o uso de outros reveladores, como por exemplo, acetato de chumbo (II) e solventes orgânicos como etanol no momento da extração dos aleloquímicos de *C. laxum*, que permitam a identificação de flavonóides (Bokhad e Rothe, 2012).

Os compostos fenólicos têm sido estudados extensivamente e, pesquisas indicam que interferem significativamente em várias enzimas vegetais importantes ligadas aos processos fisiológicos das plantas. Alguns compostos fenólicos com reconhecida atividade alelopática são ácido ferúlico, ácido caféico, ácido gálico e quercetina (Latif et al., 2017).

Os alcalóides formam o grupo mais importante entre os aleloquímicos que contêm nitrogênio na composição; a maioria deles são derivados dos aminoácidos, mas podem ser sintetizados via terpenóides. São o terceiro aleloquímico mais estudado nos últimos doze anos, depois dos fenóis e flavonóis (Macías et al., 2019).

Os grupos funcionais e as classes de compostos reportados nos extratos aquosos avaliados exibem propriedades fitotóxicas significativas que sustentam a importância dessas plantas no desenvolvimento de alternativas sustentáveis no controle de plantas daninhas.

Alguns autores concordam que os bioensaios em laboratório (condições controladas) são ferramentas importantes para estudo prévio sobre o possível potencial alelopático das espécies, pois, demonstram apenas evidência de fitotoxicidade na espécie alvo; no entanto, não recomendam extrapolar os dados encontrados em laboratório para condições de campo (Inderjit e Weston, 2000; Blum, 2011; Reigosa et al., 2013).

Os efeitos dos extratos aquosos das folhas das espécies estudadas sobre as sementes e plântulas de alface possivelmente são resultado da ação

dos aleloquímicos presentes nos extratos, visto que, de fato foram confirmados efeitos fitotóxicos (inibitórios) na germinação e crescimento inicial das plântulas. No entanto, é necessária a caracterização fitoquímica a partir de técnicas avançadas de análise química para obtenção de informações detalhadas e completas dos constituintes dos extratos, que facilitem na identificação dos aleloquímicos responsáveis pela ação alelopática.

Assim, o conhecimento detalhado dos aleloquímicos dos extratos aquosos das folhas das espécies estudadas pode servir como base para a realização de estudos mais aprofundados que visem avaliar o potencial alelopático destas espécies em condições de campo, utilizando como espécies-alvo espécies invasoras e resistentes a herbicidas.

### 3.4. CONCLUSÕES

Em condições de laboratório, das doze espécies avaliadas, os extratos aquosos foliares de *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora* apresentaram maior atividade fitotóxica na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L.

A análise preliminar da composição química dos extratos aquosos indica a presença de grupos funcionais como álcoois, fenóis, alcanos, aminas, alcenos, aromáticos, hidroxila, ácido carboxílico; e das classes de compostos secundários com atividade fitotóxica como fenóis, alcalóides, flavonóides e terpenos.

Os extratos aquosos de folhas das espécies *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora* não exibiram toxicidade para animais.

### 3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M.B.; SANTOS, R.C.; LIMA, L.M.; MELO, P. de A.F.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; CÂMARA, C.A.G.; RAMOS, A. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v.31, n.2, p.379–395, 2011.

ALONI, R.; ALONI, E.; LANGHANS, M.; ULLRICH, C.I. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Annals of Botany*, v.97, n.5, p.883-893, 2006.

ALVES, R. M. S.; STEHMANN, J. R.; ISAÍAS, R. M. S.; BRANDÃO, M. G. L. Caracterização botânica e química de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth. (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.14, n.1, p.49-56, 2004.

AMORIM, D.J.; REZENDE, H.C.; OLIVEIRA, É.L.; ALMEIDA, I.L.S.; COELHO, N.M. M.; MATOS, T.N.; ARAÚJO, C.S.T. Characterization of Pequi (*Caryocar brasiliense*) shells and evaluation of their potential for the adsorption of PbII ions in aqueous systems. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.27, n.3, p.616–623, 2016.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. Water quality for agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 1976, v.29, 97p.

AYUBA-ABDUL, M.J.; ADELANWA, M.A.; ALAO, S.E.L.; ANAMAYI, S.E. Antifungal potential and phytochemical screening of *Combretum molle* leaves and stem bark against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, v.6, p.716-721, 2015.

BARBOSA, C.A. Avaliação alelopática e caracterização fitoquímica do extrato em diclorometano de folhas de *Curatella americana* L. (Lixeira). 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

BLUM, U. Plant–plant allelopathic interactions. In: *Plant-Plant Allelopathic Interactions: Phenolic Acids, Cover Crops and Weed Emergence*. Springer, Dordrecht, 2011. p.1-7.

BOKHAD, M. N.; ROTHE, S. P. Preliminary phytochemical investigation of *Combretum albidum* G. Don; An ignored medicinally important liana. *Journal of experimental sciences*, v.3, n.3, p.1-4, 2012.

BORELLA, J.; MARTINAZZO, E.G.; AUMONDE, T.Z. Atividade alelopática de extratos de folhas de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. *Revista Brasileira de Biociências*, v.9, n.3, p.398-404, 2011.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.) *Germinação do básico ao aplicado*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.209-222.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

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

CARVALHO, L.S.D.; PEREIRA, K.F.; ARAÚJO, E.G.D. Características botânicas, efeitos terapêuticos e princípios ativos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*). *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, v.19, n.2, 2015.

CECCHI, A.M.; KOSKINEN, W.C.; CHENG, H.H.; HAIDER, K. Sorption? desorption of phenolic acids as affected by soil properties. *Biology and Fertility of Soils*, v.39, n.4, p.235–242, 2004.

CESÁRIO, F.R.A.S.; DE ALBUQUERQUE, T.R.; DE LACERDA, G.M.; DE OLIVEIRA, M.R.C.; RODRIGUES, L.B.; MARTINS, A.O.P.B.; BOLIGON, A.A.; JÚNIOR, L. J.Q.; ARAÚJO, A.A.S.; VALE, M.L.; COUTINHO, H.D.M.; MENEZES, I.R.A. Phytochemical profile and mechanisms involved in the anti-nociception caused by the hydroethanolic extract obtained from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltl.) K. Schum (Jenipapo-bravo) leaves in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.97, p.321-329, 2018.

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.1020, 2015.

CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Crop protection*, v. 20, n. 10, p.921-928, 2001.

COSTA, E.S.; HIRUMA-LIMA, C.A.; LIMA, E.O.; SUCUPIRA, G.C.; BERTOLIN, A.O.; LOLIS, S.F.; ANDRADE, F.D.P.; VILLEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A.R.M. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. *Phytotherapy Research*, v.22, n.5, p.705–707. 2008.

DEMUNER, A.J.; BARBOSA, L.C.A.; CHINELATTO, L.S.; REIS, C.; SILVA, A.A. Sorption and persistence of sorgoleone in red-yellow latosol. *Quimica Nova*, v.28, p.451–455, 2005.

DJURDJEVIĆ, L.; POPOVIĆ, Z.; MITROVIĆ, M.; PAVLOVIĆ, P.; JARIĆ, S.; OBERAN, L.; GAJIĆ, G. Dynamics of bioavailable rhizosphere soil phenolics and photosynthesis of *Arum maculatum* L. in a lime beech forest. *Flora*, v.203, n.7, p.590–601, 2008.

EASSA, S.M.H.; BALAH, A.M.; AFIAH, S.A.; EL-HADIDY, A.E. Allelopathic activity of Sorghum bicolor root parts and exudates on *Bipolaris sorokiniana*. *Journal of Crop Protection*, v.7, n. 3, p. 259–271, 2018.

EINHELLIG, F.A. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: Putnam, A.R.; Tang, C.H.-S. (eds.). *The Science of Allelopathy*. Nova York, John Wiley and Sons, 1986. p. 171-188.

FARIBA, M.; JAVAD, K.; MOHAMMAD, A.B. Allelopathic potential of *Trifolium resupinatum* L. and *Trifolium alexandrinum* L. *Weed Biology Management*, v.7, n. 3, p.178–183, 2007.

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, D.F. 2010. Programa computacional Sisvar versão 5,6. UFLA: Lavras, Brasil.

FUKAKI, H.; TASAKA, M. Hormone interactions during lateral root formation. *Plant Molecular Biology*, v.69, n.4, p. 437-449, 2009.

GAO, X.; LI, M.; GAO, Z.; LI, C.; SUN, Z. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata* on the germination and growth of wheat, sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. *Weed Biology and Management*, v.9, n.3, p.243–249, 2009.

GARCÍA, L.T.; LEAL, A.F.; MORENO, É.M.; STASHENKO, E.E.; ARTEAGA, H.J. Differential anti-proliferative effect on K562 leukemia cells of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils produced under diverse growing, collection and extraction conditions. *Industrial Crops and Products*, v.96, p.140-148, 2017.

GATTI, A.B.; PEREZ, S.C.D.A.; FERREIRA, A.G. Avaliação da atividade alopatóica de extratos aquosos de folhas de espécies de Cerrado. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, n.S2, p.174-176, 2007.

GATTI, A.B.; PÉREZ, S.C.J.G.D.; 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, n.3, p.459-472, 2004.

GONÇALVES, V.D. Potencial alelopático de extratos foliares de espécies do cerrado. 2016. 51f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) -Faculdade de Agronomia e Zootecnia, UFMT, Cuiabá, 2016.

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.

HE, H.B.; LIN, W.X.; CHEN, X.X.; HE, H.Q.; XIONG, J.; JIA, X.L.; LIANG, Y.Y. The differential analysis on allelochemicals extracted from root exudates in different allelopathic rice accessions. In *Proceedings of the Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the Scientific Base"*. Wagga Wagga, Australia, p.517-520, 2005.

HEAP, I. *The International Survey of Herbicide Resistant Weeds*. 2019. Available em: <[www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)>. Acesso em: 15 de agosto 2019.

HIRUMA-LIMA, C.A.; SANTOS, L.C.; KUSHIMA, H.; PELLIZZON, C.H.; SILVEIRA, G.G.; VASCONCELOS, P.C.P.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A.R.M. *Qualea grandiflora*, a Brazilian "Cerrado" medicinal plant presents an important antiulcer activity. *Journal of ethnopharmacology*, v.104, n.1-2, p.207-214, 2006.

HONG, N.H.; XUAN, T.D., EIJI, T.; KHANH, T.D. Paddy weed control by higher plants from Southeast Asia. *Crop Protection*, v.23, n.3, p.255-261, 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. Mapa de Biomas e Sistemas Costeiro-Marinho do Brasil. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: marzo 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2020. Conheça o Brasil-Território Biomas Brasileiros. Disponível em: <<https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/territorio/18307-biomas-brasileiros.html>>. Acessado em: marzo 2020.

ICMBIO. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2009. Plano de Manejo do Parque Nacional da Chapada dos Guimarães. Disponível

em: <<http://www.icmbio.gov.br/paraguimaraes/downloads.html>>. Acessado em: junho de 2019

IMATOMI, M.; NOVAES, P.; GUALTIERI, S.C.J. Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. *Acta Botanica Brasilica*, v.27, n.1, p.54-61, 2013.

IMATOMI, M.; NOVAES, P.; MIRANDA, M.A.F.M.; GUALTIERI, S.C.J. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of four Myrtaceae species on three weeds. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.37, n.2, p.241-248, 2015.

INDERJIT; CALLAWAY, R.M. Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant and Soil*. v.256, p.1–11, 2003.

INDERJIT; WESTON, L.A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses ?. *Journal of Chemical Ecology*, v.26, n.9, p.2111–2118, 2000.

JEFFERSON, L.V.; PENNACHIO, M. Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. *Journal of Arid Environments*, v.55, n.2, p.275-285, 2003.

JEMILUGBA, O.T.; SAKHO, E.H.M.; PARANI, S.; MAVUMENGWANA, V.; OLUWAFEMI, O.S. (FTIR) Green synthesis of silver nanoparticles using *Combretum erythrophyllum* leaves and its antibacterial activities. *Colloids and Interface Science Communications*, v.31, p. 100191, 2019.

JORK, H.; FUNK, W.; FISCHER, W.; WIMMER, H. Thin-Layer Chromatography Reagents and Detection Methods, Vol. 1. In: *Physical and Chemical Detection Methods: Fundamentals, Reagents*. Weinheim: VHC, 1990. 496p.

KHAN, S.; SHINWARI, M.I.; HAQ, A.; ALI, K.W.; RANA, T.; BADSHAH, M.; KHAN, S. A. Fourier-transform infrared spectroscopy analysis and antifungal activity of methanolic extracts of *Medicago parviflora*, *Solanum Nigrum*, *Melilotus alba* and *Melilotus indicus* on soil-borne phytopathogenic fungi. *Pakistan Journal of Botany*, v. 50, n.4, p. 1591–1598, 2018.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, v.1, n.1, p.147-155. 2005.

KPEMISSI, M.; EKLUGA-DEGBE, K.; VEERAPUR, V.P.; POTÂRNICHE, A.V.; ADI, K.; VIJAYAKUMAR, S.; BANAKAR, S.M.; THIMMAIAH, N.V.; METOWOGO, K.; AKLIKOKOU, K. (FTIR) Antioxidant and nephroprotection activities of *Combretum micranthum*: A phytochemical, in-vitro and ex-vivo studies. *Heliyon*, v. 5, n. 3, 2019.

KUMIRSKA, J.; CZERWICKA, M.; KACZYŃSKI, Z.; BYCHOWSKA, A.; BRZOZOWSKI, K.; THÖMING, J.; STEPNOWSKI, P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Marine drugs*, v.8, n.5, p.1567-1636. 2010.

KUSHIMA, H.; NISHIJIMA, C. M.; RODRIGUES, C. M.; RINALDO, D.; SASSÁ, M. F.; BAUAB, T. M.; STASI, L.C.D.; CARLOS, I. Z.; BRITO, A.R.M.S.;

VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-Helicobacter pylori action. *Journal of ethnopharmacology*, v.123, n.3, p.430-438, 2009.

LATIF, S.; CHIAPUSIO, G.; WESTON, L. A. Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. In: Becard, G. *Advances in botanical research: How plants communicate with their biotic environment*. v.82. Castanet-Tolosan: Academic Press. 2017. p.19-54.

LOPES, P.G.; SALLES, K.A.; OLIVEIRA, S.C.C.; SAMPAIO, A.B.; SCHMIDT, I.B. Evidence of phytotoxicity in a fast-growing shrub useful for savanna restoration in Central Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, v.40, n.3, p.643–649, 2017.

MACÍAS, F.A.; MEJÍAS, F.J.R.; MOLINILLO, J.M.G. Recent advances in allelopathy for weed control: from knowledge to applications. *Pest management science*, jan. 2019.

MAGIERO, E.C.; ASSMANN, J.M.; MARCHESE, J.A.; CAPELIN, D.; PALADINI, M.V.; TREZZI, M.M. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n 3, p. 317-324, 2009.

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

MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

MARTINI, N. D.; KATERERE, D. R.; ELOFF, J. N. Seven flavonoids with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *South African Journal of Botany*, v. 70, n. 2, p. 310-312, 2004.

McKean, S. J. *Manual de análisis de suelos y tejido vegetal: una guía teórica y practica de metodologías*. Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, Documento de Trabajo n° 129, 1993.

MEDEIROS, A.R.M. Determinação de potencialidades aleopáticas em agroecossistemas. 1989. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MICHELIN, D.C.; IHA, S.M.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L.C. D.; VILEGAS, W.; SALGADO, H.R.N. Antimicrobial activity of *Davilla elliptica* St. Hill (Dilleniaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.3, p. 209-211, 2005.

MITTERMEIER, R.A.; TURNER, W.R.; LARSEN, F. W.; BROOKS, T. M.; GASCON, C. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. In *Biodiversity hotspots*. Berlin: Springer. 2011. p.3-22.

MOLYNEUX, R.J.; ROITMAN, J.N. Specific detection of pyrrolizidine alkaloids on thin-layer chromatograms. *Journal of Chromatography A*, 1980, vol. 195, no 3, p. 412-415.

OLIVEIRA, A.K.; COELHO, M.; MAIA, S.S.S.; DIOGENES, F.E.; MEDEIROS FILHO, S. Allelopathy of extracts of different organs of coral tree on the germination of lettuce. *Horticultura Brasileira*, v.30, n.3, p.480-483, 2012.

OLIVEIRA, R.N.; MANCINI, M.C.; OLIVEIRA, F.C.S.D.; PASSOS, T.M.; QUILTY, B.; THIRÉ, R.M.D.S.M.; MCGUINNESS, G.B. FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. *Matéria (Rio de Janeiro)*, v.21, n.3, p.767-779, 2016.

OLIVEIRA, S.R.; LIMA-RIBEIRO, M.S.; DE SOUZA, A. O.; DOS SANTOS, C. E.; SILVA, K. V.; ZÓRTEA, M.; GUILLERME, F.A.G.; DE MELO, F.R.; CARNEIRO, S.E.S.; SILVA, W.V.; MORAIS, A. R. Are protected areas effective in preserving anurans and promoting biodiversity discoveries in the Brazilian Cerrado?. *Journal for Nature Conservation*, v.52, p.125734, 2019.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. Espectrometria de massas. Introdução à Espectroscopia. 4a ed. São Paulo: Cengage Learning. 2010. 700p.

PÉREZ-LEAL, R.; GARCÍA-MATEOS, M.R.; VÁSQUEZ-ROJAS, T.R.; COLINAS-LÉON, M.T. Allelopathic potential of *Petiveria alliacea* L. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 25, n. 2, p. 177–182, 2005.

PIRES N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JR. R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas*. Curitiba: Omnipax, 348p. 2011, p.95-123.

PONOU, B.K.; BARBONI, L.; TEPONNO, R.B.; MBIANTCHA, M.; NGUELEFACK, T. B.; PARK, H.J.; LEE, K.T.; TAPONDJOU, L.A. (FTIR) Polyhydroxyoleanane-type triterpenoids from *Combretum molle* and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry Letters*, v.1, n. 4, p. 183–187, 2008.

PORTA-DE-LA-RIVA, M.; FONTRONDA, L.; VILLANUEVA, A.; CERÓN, J. *Caenorhabditis elegans* methods: Synchronization and observation. *Journal of Visualized Experiments*, v.64, p.1–9, 2012.

PUEBLA, P.; OSHIMA-FRANCO, Y.; FRANCO, L. M.; SANTOS, M. G. D.; SILVA, R. V. D.; RUBEM-MAURO, L.; FELICIANO, A. S. Chemical constituents of the bark of *Dipteryx alata* Vogel, an active species against *Bothrops jararacussu* venom. *Molecules*, v.15, n.11, p.8193-8204. 2010.

QUISPE, F.E.; RUÍZ, R.E.; ISIDRÓN, M.P; GARCÍA; M.R.; SANTANA, R.C. Efecto alelopático de los extractos acuosos de *Tectona grandis* L. y *Tagetes erecta* L. sobre la germinación de cultivos de interés agrícola. *Centro Agrícola*, v.37, n.1, p.61-66, 2010.

REIGOSA, M.; GOMES, A.S.; FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 27, n. 4, p. 629–646, 2013.

Reigosa, M.J.; Sánchez-Moreiras, A.; Gonzáles, L. Ecophysiological Approach in Allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 18, n. 5, p.577-608, 1999.

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

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

RIBEIRO, H.B.; RIBEIRO, R.C.F.; XAVIER, A.A.; CAMPOS, V.P.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; MIZOBUTSI, E.H. Resíduos de frutos de pequi no controle do nematoide das galhas em tomateiro. *Horticultura Brasileira*, v.30, n.3, p.453-458, 2012.

RODRIGUES, D.; PEREIRA, G.; SILVA, A.; SANTOS, M.; DEMUNER, A.; OLIVEIRA, P. Perfil Fitoquímico de Plantas Daninhas de Pastagens do Cerrado Brasileiro. *Planta Daninha*, v.37, 2019.

SALOMÃO, F. X. T.; MADRUGA, E.L.; MIGLIORINI, R. B. Carta geotécnica do perímetro urbano da Chapada dos Guimarães: subsídios ao plano diretor. *Geologia USP. Série Científica*, v. 12, n. 1, p. 5 - 15, 2012.

SANTOS, F.M.D.; SOUZA, M.G.D.; CROTTI, A.E.M.; MARTINS, C.H.; AMBRÓSIO, S.R.; VENEZIANI, R.; SILVA, M.L.A.; CUNHA, W.R. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of *Tibouchina candolleana* (Melastomataceae), isolated compounds and semi-synthetic derivatives against endodontic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.43, n.2, p.793-799. 2012.

SCHMIDT, I.B.; URZEDO, D.I.D.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VIEIRA, D.L.M.; DE REZENDE, G.M.; SAMPAIO, A.B.; JUNQUEIRA, R.G.P. Community-based native seed production for restoration in Brazil – the role of science and policy. *Plant Biology*, v. 21, n. 3, p. 389–397, 2019.

SILVA, E.S.; SANTOS, C.A.; DIAS, K.S.; SOUZA, M.A.; SANTOS, A.F. D.; SILVA JÚNIOR, J.M. Cenário das pesquisas sobre alelopatia no Brasil e seu potencial como estratégia na diminuição da utilização de pesticidas que provocam poluição ambiental: uma revisão integrativa. *Diversitas Journal*, v.3, n.2, p.442-454, 2018.

SILVA, G.B.D.; MARTIM, L.; SILVA, C.L.D.; YOUNG, M.C.M.; LADEIRA, A.M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. *Hoehnea*, v. 33, n. 3, p. 331–338, 2006.

SMITH, J. Influence of GM crops, aromatic crops, allelopathy and litter decomposition on species assemblages of meso-arthropods in cultivated soils of the Free State Province, South Africa. 2016. Dissertacao (Mestrado em Entomology). University of the Free State, South Africa. 2016.

SOUZA, L.M.D.; CANINI, G.B.; AIRES, S.S.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas de quatro espécies do Cerrado sobre crescimento de gergelim. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, n.2, p.540-542, 2007.

STRASSBURG, B. B.; BROOKS, T.; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A.; CROUZEILLES, R.; LOYOLA, R.; LATAWIEC, A.E.; OLIVEIRA FILHO, F.J.B.; SCARAMUZZA, C.A.M; SCARANO, F.R.; SOARES-FILHO, B.; BALMFORD, A. Moment of truth for the Cerrado hotspot. *Nature Ecology & Evolution*, v.1, n.4, p.1-3, 2017.

TOURÉ, A.; XU, X.; MICHEL, T.; BANGOURA, M. In vitro antioxidant and radical scavenging of Guinean kinkeliba leaf (*Combretum micranthum* G. Don) extracts. *Natural product research*, v.25, n.11, p.1025-1036, 2011.

TRAVERSA, A.; LOFFREDO, E.; GATTULLO, C.E.; SENESI, N. Water-extractable organic matter of different composts: A comparative study of properties and allelochemical effects on horticultural plants. *Geoderma*, v.156, n.3-4, p.287-292, 2010.

UJOWUNDU, C.O.; OKAFOR, O.E., AGHA, N.C.; NWAOGU, L.A.; IGWE, K.O.; IGWE, C.U. Phytochemical and chemical composition of *Combretum zenkeri* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, v.4, n.10, p. 965-968, 2010.

UJOWUNDU, F.N.; OJIAKO, A.O.; NWAOGUIKPE, R.N.; UJOWUNDU, C.O. International Journal of Drug Development Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Infra-Red Studies of Bioactive Phytoorganic Components of *Combretum dolichopentalum* Leaves. *International Journal of Drug Development and Research*, v.9, n.2, p.10-15, 2017.

VELDMAN, J.W.; BUISSON, E.; DURIGAN, G.; FERNANDES, G.W.; LE STRADIC, S.; MAHY, G.; NEGREIROS, D.; OVERBECK, G.E.; VELDMAN, R.G.; ZALOUMIS, N.P.; PUTZ, F.E.; BOND, W.J. Toward an old-growth concept for grasslands, savannas, and woodlands. *Frontiers in Ecology and the Environment*, v.13, n.3, p.154-162, 2015.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v.2, n.4, p.105-113, 2015.

WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Second Ed. Alemania: Springer, 2001. 384p.

WANDSCHEER, A.C.D.; BORELLA, J.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. Atividade alelopática de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica*, v.25, n.1, p.25-30, 2011.

WILLIAMSON, G.B.; RICHARDSON, D. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls. *Journal of chemical ecology*, v.14, n.1, p.181-187, 1988.

XIAO, Z.; LE, C.; XU, Z.; GU, Z.; LV, J.; SHAMSI, I.H. Vertical leaching of allelochemicals affecting their bioactivity and the microbial community of soil. *Journal of agricultural and food chemistry*, v.65, n.36, p.7847-7853, 2017.

ZAHEDI, S. M.; KARIMI, M.; VENDITTI, A. Plants adapted to arid areas: specialized metabolites. *Natural Product Research*, p.1–18. 2019.

ZHANG, D.J.; ZHANG, J.; YANG, W.Q.; WU, F.Z. Potential allelopathic effect of *Eucalyptus grandis* across a range of plantation ages. *Ecological Research*, v.25, n.1, p. 13-23, 2010.

ZHANG, J.H.; MAO, Z.Q.; WANG, L.Q.; SHU, H.R. Bioassay and identification of root exudates of three fruit tree species. *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 49, n.3, p.257–261, 2007.

ZIMDAHL, R.L. Allelopathy. In: ZIMDAHL, R.L. *Fundamentals of weed science*. Quinta ed. Colorado: Academic press, 2018. 758p.

#### 4. CAPÍTULO 3. METABOLOMA DE EXTRATOS FITOTÓXICOS DE *Combretum laxum*, *Davilla elliptica*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*

**RESUMO-** O estudo químico e biológico de uma planta permite a identificação de compostos bioativos, bem como a potencial síntese de novos produtos de uso agrícola mais sustentável. Neste estudo avaliou-se o efeito alelopático e a composição fitoquímica de extratos aquosos foliares das espécies nativas do Cerrado *Combretum laxum* (Combretaceae), *Davilla elliptica* (Dilleniaceae), *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) e *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae). Os extratos aquosos das plantas selecionadas foram avaliados quanto ao efeito alelopático em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) como espécie indicadora. Foram realizados bioensaios de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas com cinco concentrações de cada extrato (0, 25, 50, 75 e 100%). Realizou-se a caracterização química dos extratos mediante a técnica de RMN-<sup>1</sup>H. Os resultados dos bioensaios indicam que a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de alface foram significativamente inibidos pelos extratos. A composição química dos extratos foliares sugere que existe diferença qualitativa e quantitativa de metabólitos entre as quatro espécies estudadas. Análises multivariadas de agrupamento hierárquico e discriminatório indicam que existe similaridade na composição química e na atividade alelopática entre as espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora*, possivelmente devido à proximidade filogenética das espécies.

**PALAVRAS-CHAVE:** Metabólitos, pequi, pau-terra, lixeirinha, pombeiro-branco

#### 4. CHAPTER 3. METABOLOMA OF PHYTOTOTIC EXTRACTS OF *Combretum laxum*, *Davilla elliptica*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*

**ABSTRACT-** The chemical and biological study of a plant allows the identification of bioactive compounds, as well as the potential synthesis of new products for more sustainable agricultural use. In this study, the allelopathic effect and phytochemical composition of aqueous leaf extracts from native Cerrado species were evaluated: *Combretum laxum* (Combretaceae), *Davilla elliptica* (Dilleniaceae), *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) and *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae). The aqueous extracts of the selected plants were evaluated for the allelopathic effect on lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.) as an indicator species. Germination and initial seedling development bioassays were carried out with five concentrations for each extract (0, 25, 50, 75 and 100%). The chemical characterization of the extracts was carried out using the <sup>1</sup>H NMR technique. The results of the bioassays indicate that the germination and initial development of lettuce seedlings were significantly inhibited. The chemical composition of leaf extracts suggests that there is a qualitative and quantitative difference in metabolites between the four species studied. Multivariate analyzes of hierarchical and discriminant grouping indicate that there is similarity in chemical composition and in allelopathic activity between *C. laxum* and *Q. grandiflora* species, possibly due to the phylogenetic proximity of the species.

**KEYWORDS:** Metabolites, allelopathy, FTIR, pequi, pau-terra, lixeirinha, pombeiro-branco.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas são as principais responsáveis pela redução de rendimento das culturas agrícolas, com média de 34% (Oerke, 2006). O uso excessivo e inadequado dos herbicidas tem ocasionado problemas de poluição ambiental, riscos à saúde humana e resistência de plantas daninhas aos diferentes sítios de ação dos produtos sintéticos (Annett et al., 2014; Lakara et al., 2019).

Com o aumento da população mundial e a diminuição dos recursos disponíveis, o manejo de plantas daninhas é um trabalho ainda mais importante e desafiador na produção de alimentos. Nesse sentido, a alelopatia tem significado relevante para sistemas de manejo ecológico, sustentável e integrado de plantas daninhas (Jabran et al., 2015).

Diferentes alternativas de manejo utilizando espécies alelopáticas demonstram respostas satisfatórias de controle mais sustentável de plantas daninhas (Tabaglio et al., 2013). O número é crescente de produtos naturais obtidos a partir de compostos bioativos de plantas alelopáticas (Ogata et al., 2008; Miyake, 2009); assim, o papel dos bioherbicidas é destacado como alternativa realista na implementação de programas de controle de plantas daninhas. Potenciais herbicidas naturais como, por exemplo, os obtidos a partir de óleo volátil de *Eucalyptus citriodora* (Batish et al., 2004), óleo essencial de *Artemisia scoparia* (Kaur et al., 2010), extrato aquoso de *Eucalyptus globulus* (Puig et al., 2018) e, extratos aquoso, etanólico e metanólico de *Cynara cardunculus* (Scavo et al., 2020) interferem no crescimento e processo fisiológico de algumas espécies.

A alelopatia é apresentada como a habilidade de um organismo de sintetizar e empregar um ou vários aleloquímicos para interferir sobre a germinação, crescimento e/ou reprodução de outros organismos (Ooka e Owens, 2018). Os aleloquímicos são principalmente metabólitos secundários de baixo peso molecular como alcalóides, fenóis, flavonóis, terpenos e glucosinolatos produzidos pela planta alelopática durante o crescimento, mas, não são utilizados para suprir necessidades primárias (El-Hadary e Chung, 2013).

Segundo Schandry e Becker (2020) os aleloquímicos podem variar quanto à via de síntese, estrutura química e atividade biológica; contudo a definição envolve principalmente um processo biológico e não uma classe específica de metabólitos.

Os efeitos causados pela ação dos aleloquímicos presentes em determinada espécie são diferenciados em relação ao tipo e concentração do extrato, parte da planta doadora e espécie alvo utilizada nos bioensaios, bem como o parâmetro avaliado, sendo a porcentagem de germinação uma variável pouco sensível e, o comprimento da raiz o parâmetro mais sensível ao efeito inibitório dos metabólitos devido ao maior contato com o extrato fitotóxico (Chung et al., 2001)

Os bioensaios de germinação e desenvolvimento inicial de uma espécie alvo submetida a diferentes concentrações de aleloquímicos é a técnica mais comum utilizada para determinar o potencial alelopático de uma espécie; no entanto, os perfis fitoquímicos dos extratos podem ser de grande valia para determinar os compostos específicos responsáveis pelos efeitos observados (Pilatti et al., 2019).

O isolamento e a identificação de aleloquímicos podem levar à produção de novos pesticidas de base biológica através do fornecimento de estruturas complementares para futuras sínteses e, como ajuda no desenvolvimento de novos sítios moleculares-alvo que contribuiriam no manejo de pragas com caráter mais ecológico (Latif et al., 2017; Macías et al., 2019).

De acordo com Cheng e Cheng (2015), o rápido avanço tecnológico na análise química de produtos naturais tornou possível isolar e identificar quantidades mínimas de compostos químicos e realizar análises estruturais sofisticadas dessas moléculas. Por outro lado, o perfil metabólico tem provado ser uma ferramenta útil e importante para se estudar a coleção total de produtos primários e secundários produzidos por uma planta (Latif et al., 2017).

A técnica de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) é uma ferramenta bastante completa e empregada na identificação qualitativa e quantitativa dos constituintes de uma planta (Kato-Noguchi, 2003; Oliveira et al., 2011; D'Abrosca et al., 2013). O uso da técnica de RMN é bastante recomendado na

construção do perfil metabólico das plantas pela ampla gama de constituintes químicos vegetais. Diversos estudos respaldam a utilização desta técnica em áreas ligadas à metabolômica das plantas (Alcantara et al., 2007). A vantagem da RMN sobre outras técnicas cromatográficas lidera na rapidez, não seletividade, reprodutibilidade e estabilidade (Maraschin et al., 2017).

Fatores que influenciam a natureza alelopática de um composto podem estar relacionados aos modos de liberação e ação fitotóxica, bem como à concentração bioativa, persistência e destino no meio ambiente (Inderjit e Duke, 2003). Porém, condições de estresse abiótico e biótico podem alterar significativamente o conteúdo dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas (Gobbo-Neto e Lopes, 2007). As características climáticas, edafológicas e ecológicas do Cerrado influenciam na ocorrência de plantas ricas em compostos bioativos com propriedades fitotóxicas, moluscicida, inseticida, fungicida e bactericida (Novaes et al., 2013).

O Cerrado possui uma grande diversidade de plantas de alta importância ecológica, econômica e cultural, destacando entre elas as espécies *Davilla elliptica* (Dilleniaceae), *Combretum laxum* (Combretaceae), *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) e *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae). Estas espécies conhecidas como lixeirinha, pombeiro-branco, pau-terra e pequi, respectivamente, são utilizadas na medicina popular brasileira para o tratamento e alívio de diferentes doenças devido ao alto potencial em compostos ativos (Silva Júnior, 2005; McGaw et al., 2001; Costa et al., 2008). Além disso, foram demonstrados efeitos bactericidas, fungicidas e inseticidas em diversos estudos realizados com estas espécies (Kushima et al., 2009; Ogbole et al., 2018; Breda et al., 2016; Candido, 2016). Porém, são poucos os avanços em relação ao potencial fitotóxico das folhas e sobre os metabólitos primários presentes em cada extrato.

Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o metaboloma guiado em função da atividade fitotóxica dos extratos aquosos de folhas das espécies *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora* dentro das especificidades da técnica de caracterização química por espectroscopia de RMN baseada no metabolismo primário.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Fitotoxicidade

#### Coleta do material vegetal

Para a realização do presente estudo foram utilizadas folhas completamente expandidas de quatro espécies nativas do Cerrado Mato-Grossense. Uma exsicata de cada espécie foi depositada no Herbário Central da UFMT com os correspondentes códigos: *Davilla elliptica* St. Hil (UFMT 44313), *Combretum laxum* Jacq. (UFMT 44312), *Caryocar brasiliense* Camb. (UFMT 44365) e *Qualea grandiflora* Mart. (UFMT 44366). As folhas das espécies a serem estudadas foram coletadas de indivíduos adultos no município de Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brasil. As coordenadas geográficas do local de coleta são: 15°30' - 15°45' latitude Sul e 55°50' - 55°80' longitude Oeste, correspondentes a uma área de Cerrado de regeneração natural.

A coleta foi realizada no mês de abril de 2019 (época chuvosa) no período da manhã, entre 08h00min e 10h00min horas, em condição de pleno sol. O material coletado foi colocado em sacos de polietileno devidamente identificados e armazenados em câmara refrigerada a  $18 \pm 2$  °C por quatro dias até a elaboração dos extratos aquosos.

#### Preparo dos extratos aquosos

Para o preparo dos extratos aquosos foi seguida a metodologia de Vargas et al. (2019) com adaptação no processo de filtragem dos extratos brutos, sendo realizada em papel filtro de café (composição 100% celulose) com auxílio de uma bomba de vácuo (Vacuubrand RZ 5). A concentração dos extratos aquosos brutos correspondeu a 10% (m/v), sendo este a concentração de 100% a ser estudada. Os extratos aquosos foliares foram obtidos em triplicata para cada espécie avaliada. Posteriormente os extratos foram armazenados a  $18 \pm 2$  °C em frascos de vidro âmbar, previamente identificados, até a utilização nos bioensaios (3 dias).

## **Bioensaios**

Os bioensaios foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos constituídos pelas concentrações dos extratos foliares obtidas por diluição 0% – controle, 25, 50, 75 e 100%, com quatro repetições de 25 sementes de alface var. Veneranda (marca Feltrin).

Para a realização dos bioensaios de germinação e de crescimento inicial, as sementes foram colocadas em caixas plásticas transparentes tipo gerbox (11 x 11 x 3 cm) sobre duas folhas de papel mata-borrão umedecidas com os respectivos tratamentos, na quantidade de 2,5 vezes a massa do substrato seco. As caixas foram tampadas e vedadas com filme de plástico e mantidas em câmara de germinação tipo BOD a 20 °C e fotoperíodo de 12 horas (Brasil, 2009).

## **Avaliações**

As sementes germinadas foram avaliadas a cada 24h até a estabilização da germinação, sendo consideradas germinadas aquelas que apresentaram 2 mm de protrusão radicular (Marcos Filho, 2015), quando se computou a porcentagem de germinação (PG). O índice de velocidade de germinação foi calculado de acordo a fórmula proposta por Maguire (1962).

No final do experimento foi avaliada a porcentagem de plântulas anormais (PAN) (Brasil, 2009). As plântulas normais foram avaliadas quanto ao comprimento da parte aérea (CA) e comprimento da raiz (CR) sendo os resultados expressos em cm planta<sup>-1</sup>. Para determinar a biomassa seca (MS), as plântulas medidas anteriormente foram colocadas em cápsulas de alumínio e secas em estufa com circulação de ar forçada a 65°C, onde permaneceram até atingir massa constante. Após esse período, as amostras foram colocadas para resfriar em dessecadores, por aproximadamente 60 minutos, e pesadas em balança semi-analítica (0,001 g), sendo os resultados de biomassa seca expressos em mg plântula<sup>-1</sup> (Vargas et al., 2019).

## **Análise estatística dos dados**

Para atendimento dos pressupostos da análise de variância, os dados foram avaliados quanto à homogeneidade da variância pelo teste de Levene e normalidade pelo teste Shapiro-Wilk, sendo realizada a transformação dos

dados quando necessária, adotando-se a transformação angular arco-seno para porcentagem. Com os dados paramétricos realizou-se a análise de variância (ANOVA) para cada espécie. Quando as diferenças foram significativas ( $p < 0,05$ ) realizaram-se teste de média Duncan ( $p < 0,05$ ) e teste de regressão, sendo ajustadas regressões polinomiais baseadas na significância ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ ) e no coeficiente de determinação ( $R^2$ ). A análise foi realizada com auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2010). Para os dados não paramétricos foi utilizado o teste de Man-Witney com auxílio do programa estatístico SPSS versão 22.

#### **4.2.2. Metaboloma**

A análise metabolômica das espécies foi limitada às condições e especificidades da amostragem, época de coleta, tipo de extração, e técnica de identificação de compostos do metabolismo primário utilizada.

A técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) foi utilizada para identificação dos compostos primários presentes nos extratos aquosos das folhas das espécies *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*.

#### **Análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Solubilizou-se 10 mg de extrato aquoso liofilizado em 700  $\mu\text{L}$  de água deuterada  $\text{D}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich) contendo 99,9% de deutério e 0,05% (m/m) de 3- ácido trimetilsililpropanoico-2,2,3,3- $\text{d}_4$ , sal de sódio, padronizando na concentração amostral em 14,3  $\text{mg mL}^{-1}$ . Após a solubilização, uma alíquota de 600  $\mu\text{L}$  da solução amostral foi transferida para os tubos de RMN de 178x5 mm, para posterior aquisição dos espectros. As análises de RMN foram realizadas no equipamento Bruker 500 MHz na temperatura controlada de 25  $^{\circ}\text{C}$ .

A identificação e quantificação dos metabólitos foi realizada usando o software rNMR (Lewis et al., 2009; Lewis et al., 2007) e a base de dados Madison Metabolomics Consortium Database (MMCD) (Cui et al., 2008).

### **Análise estatística dos dados**

Os dados do perfil metabólico foram previamente filtrados, em função da presença do composto em pelo menos duas repetições por tratamento, e normalizados pela forma Z score. Seguidamente, os dados de concentração de cada composto foram transformados por raiz cúbica. A ANOVA foi realizada para cada metabólito e, quando significativo ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste post-hoc LSD de Fisher (diferença mínima significativa).

Análises multivariadas foram realizadas tanto para os dados de composição química como para atividade alelopática dos quatro extratos aquosos. Foram realizadas análises de agrupamento hierárquico, PCA e do discriminante linear (LDA) com dados obtidos neste estudo. Todos os procedimentos foram realizados com o software estatístico Past (Hammer et al., 2001).

### **4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados dos bioensaios de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de alface são apresentados na tabela 5. Os extratos aquosos das espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora* reduziram a porcentagem de germinação das sementes de alface. Os extratos foliares aquosos das espécies *D. elliptica* e *C. brasiliense* proporcionaram redução no índice de velocidade de germinação, dependente da concentração dos extratos aquosos. No caso dos extratos das folhas das espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora* houve diferença no IVG em relação ao controle, mas não houve diferença entre as concentrações testadas.

Em relação às variáveis comprimento da parte aérea e da raiz, houve resposta inibitória para todos os extratos, exceto para o comprimento da parte aérea quando se testou o extrato de *D. elliptica*. A variável massa seca foi afetada negativamente com o extrato de *C. laxum*.

Existem diferenças nos resultados obtidos de certas variáveis avaliadas para todas as espécies, em relação ao capítulo anterior, possivelmente devido à época de coleta do material. No capítulo anterior as amostras foram coletadas na época seca e neste estudo foram coletadas no mesmo local, porém na época chuvosa.

**TABELA 5.** Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) em bioensaios com diferentes concentrações de extratos aquosos de folhas de *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*. Chapada dos Guimãres/MT, 2019.

Variáveis	Concentrações (%)					Equações de regressão	Valor P	CV	R <sup>2</sup>
	0	25	50	75	100				
<i>Davilla elliptica</i>									
PG	98,00 a	91,00 a	85,00 a	90,00 a	84,00 a	$\hat{Y}=95,40-0,1160x^{**}$	0,01	5,59	0,67
IVG	21,33 a	17,65 b	15,28 c	14,55 c	11,65 d	$\hat{Y}=20,58-0,0898x^{**}$	0,00	9,39	0,96
PA	8,00 c	11,00 c	20,00 ab	13,00 bc	25,00 a	$\hat{Y}=8,20+0,1440x^{**}$	0,00	36,89	0,67
CA	2,52 a	2,69 a	2,96 a	2,56 a	2,45 a	$\bar{Y}=2,63$	0,47	15,67	-
CR	3,41 a	2,54 b	2,72 b	2,59 b	2,08 b	$\hat{Y}=3,1905-0,0105x^{**}$	0,00	10,09	0,74
MS	0,55 a	0,53 a	0,58 a	0,58 a	0,65 a	$\bar{Y}=0,575$	0,86	28,49	-
<i>Combretum laxum</i>									
PG	98,00 a	72,00 b	78,00 b	78,00 b	78,00 b	$\hat{Y}=94,17-0,6617x+0,0052x^{2*}$	0,02	12,52	0,67
IVG	21,32 a	8,18 b	8,75 b	8,30 b	8,30 b	$\hat{Y}=19,76-0,3925x+0,0028x^{2**}$	0,00	13,44	0,85
PA	8,00 b	43,00 a	31,00 a	40,00 a	34,00 a	$\hat{Y}=12,6857+0,8931x-0,0069x^{2*}$	0,00	35,11	0,66
CA	2,52 a	2,03 ab	2,13 ab	2,02 ab	1,89 b	$\bar{Y}=2,11$	0,11	15,19	-
CR	3,41 a	1,68 b	1,47 bc	1,26 c	1,31 bc	$\hat{Y}=3,2586-0,0592x+0,00041x^{2**}$	0,00	12,87	0,90
MS	0,55 b	0,70 ab	0,78 a	0,58 b	0,58 b	$\bar{Y}=0,63$	0,04	19,61	-
<i>Caryocar brasiliense</i>									
PG	99,00 a	98,00 a	95,00 a	94,00 a	92,00 a	$\bar{Y}=95,6$	0,22	4,3	-
IVG	21,32 a	14,07 b	12,7 bc	11,47 c	11 c	$\bar{Y}=14,11$	0,00	9,52	-
PA	8,00 a	18,0 a	16,0 a	17,0 a	19,0 a	$\bar{Y}=15,6$	0,28	39,94	-
CA	2,52 a	1,96 b	1,89 b	1,85 b	1,97 b	$\hat{Y}=2,477+0,0207x-0,00015x^{2*}$	0,01	12,70	0,94
CR	3,41a	2,82 ab	2,88 ab	2,45 b	2,58 b	$\bar{Y}=2,82$	0,07	15,84	-
MS	0,55 a	0,59 a	0,63 a	0,57 a	0,66 a	$\bar{Y}=0,60$	0,76	23,02	-

<i>Qualea grandiflora</i>									
PG	98,00 a	82,00 b	84,00 b	85,00 b	77,00 b	$\bar{Y}=93,0-0,1560x^*$	0,01	8,7	0,62
IVG	21,32 a	9,20 b	9,28 b	9,20 b	8,80 b	$\hat{Y}=19,8985-0,3664x+0,0026x^2$ **	0,00	9,76	0,85
PA	8,00 b	39,00 a	38,00 a	31,00 a	37,00 a	$\bar{Y}=12,60+0,84x-0,0064x^2$ **	0,00	29,66	0,70
CA	2,52 a	2,16 ab	2,23 ab	1,87 b	2,31 a	$\bar{Y}=2,52-0,0162x+0,0001x^2$ *	0,04	11,93	0,66
CR	3,41 a	1,09 c	1,27 c	1,46 c	2,36 b	$\hat{Y}=3,1848-0,0807x+0,0007x^2$ **	0,00	14,31	0,93
MS	0,55 a	0,66 a	0,65 a	0,62 a	0,64 a	$\bar{Y}=0,62$	0,27	12,03	-

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Duncan ( $p < 0,05$ ).

CV: coeficiente de variação (%);  $R^2$ : coeficiente de determinação (%); \*\*, \*: significativo aos níveis de 1 e 5%, respectivamente, pelo teste F.

PG: porcentagem de germinação (%); IVG: índice de velocidade de germinação; PA: porcentagem de plântulas anormais (%); CA: comprimento da parte aérea (cm); CR: comprimento da raiz (cm); MS: massa seca ( $\text{mg plântula}^{-1}$ ).

No estudo realizado por Pelegrini e Cruz-Silva (2012), a sazonalidade da coleta do material influenciou na atividade fitotóxica da espécie *Coleus barbatus*. Viecelli et al. (2009) sugerem uma possível alteração no metabolismo vegetal em função da variação sazonal causada no ambiente.

Resultados do perfil metabólico (qualitativo e quantitativo) obtidos a partir da técnica de RMN são apresentados na tabela 6. Existe uma variação quantitativa entre os metabólitos identificados no extrato aquoso foliar de cada espécie sendo que, no caso da espécie *D. elliptica* foram identificados 69 metabólitos, na espécie *C. laxum* 74 metabólitos, 66 na *C. brasiliense* e, 65 na *Q. grandiflora*. Estes constituintes químicos foram, principalmente, metabólitos primários os quais estiveram limitados ao banco de dados usados na identificação do espectro RMN. Foi possível identificar no espectro de RMN metabólitos das classes monossacarídeos, dissacarídeos, aminoácidos, ácidos orgânicos e alcóois. Por exemplo, metabólito como ácido acético foi reportado no extrato das espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora*; prolina foi um composto presente no extrato de *Q. grandiflora* e já os compostos como estaquiose, glucose, manose e arabitol foram comuns nos extratos das quatro espécies.

**TABELA 6.** Perfis fitoquímicos identificados usando a análise 1H- RMN em extratos aquosos de folhas de *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*, coletadas no município de Chapada dos Guimarães/MT, 2019.

N°	Metabólitos	<i>D. elliptica</i>	<i>C. laxum</i>	<i>C. brasiliense</i>	<i>Q. grandiflora</i>
1	Stachyose	0,0299 ± 0,01	0,0268 ± 0,00	0,0528 ± 0,04	0,1632 ± 0,07
2	raffinose-hydrate	0,0120 ± 0,01	0,0107 ± 0,00	0,0221 ± 0,01	0,0762 ± 0,04
3	Kanamycin	0,0274 ± 0,01	0,0113 ± 0,00	0,0000 ± 0,00	0,0628 ± 0,06
4	D-Glucose-6-Phosphate-sodium-salt	0,0205 ± 0,01	0,0218 ± 0,00	0,0254 ± 0,00	0,2378 ± 0,11
5	d (+) mannose	0,0129 ± 0,00	0,0211 ± 0,01	0,0224 ± 0,01	0,1912 ± 0,11
6	D (-) Fructose	0,0259 ± 0,01	0,0220 ± 0,00	0,0294 ± 0,01	0,2487 ± 0,14
7	d (+) glucose	0,0206 ± 0,01	0,0219 ± 0,00	0,0145 ± 0,01	0,2393 ± 0,11
8	d(+)-galactose	0,0240 ± 0,01	0,0258 ± 0,00	0,0320 ± 0,00	0,2748 ± 0,13
9	d(+)-maltose-monohydrate	0,0235 ± 0,01	0,0143 ± 0,00	0,0472 ± 0,01	0,3318 ± 0,15
10	alpha-lactose-monohydrate	0,0264 ± 0,01	0,0161 ± 0,00	0,0553 ± 0,01	0,1418 ± 0,11
11	d(+)-xylose	0,0227 ± 0,01	0,0139 ± 0,01	0,0156 ± 0,01	0,2153 ± 0,11
12	sucrose	0,0121 ± 0,00	0,0124 ± 0,00	0,0109 ± 0,00	0,0998 ± 0,05
13	Methyl-N-acetyl-alpha-D-glucosaminide	0,0354 ± 0,02	0,0265 ± 0,01	0,0376 ± 0,00	0,1770 ± 0,09
14	d-sorbitol	0,0364 ± 0,02	0,0251 ± 0,01	0,0582 ± 0,01	0,1666 ± 0,08
15	N-Acetylneuraminic-acid-type-IV-S	0,0358 ± 0,01	0,0255 ± 0,00	0,0376 ± 0,00	0,3883 ± 0,21
16	d-trehalose	0,0040 ± 0,00	0,0143 ± 0,01	0,0159 ± 0,01	0,0374 ± 0,02
17	DL-glyceraldehyde-3-phosphat-diethyl-acetal-barium-salt	0,0024 ± 0,00	0,0015 ± 0,00	0,0047 ± 0,00	0,0115 ± 0,01
18	d-allose	0,0125 ± 0,01	0,0134 ± 0,00	0,0080 ± 0,00	0,1192 ± 0,07
19	d-m-tagatose	0,0300 ± 0,01	0,0187 ± 0,00	0,0282 ± 0,00	0,1430 ± 0,08
20	d-fructose-6-phosphate	0,0162 ± 0,01	0,0143 ± 0,00	0,0219 ± 0,01	0,1417 ± 0,08
21	D-Fructose 2,6-bisphosphate	0,0308 ± 0,01	0,0293 ± 0,00	0,0394 ± 0,00	0,3450 ± 0,18
22	alpha-D-Glucose-1,6-bisphosphate	0,0283 ± 0,01	0,0268 ± 0,00	0,0376 ± 0,00	0,2936 ± 0,17
23	n-acetyl-d-mannosamine	0,0089 ± 0,01	0,0000 ± 0,00	0,0000 ± 0,00	0,0557 ± 0,05

24	D-Fructose-1-phosphate	0,0511	± 0,01	0,0277	± 0,00	0,0457	± 0,00	0,3445	± 0,16
25	L(-)-fucose	0,0247	± 0,01	0,0146	± 0,00	0,0136	± 0,01	0,1251	± 0,08
26	D-Glucono-1,5-lactone	0,0114	± 0,00	0,0071	± 0,00	0,0112	± 0,00	0,0874	± 0,04
27	d (-) arabinose	0,0184	± 0,01	0,0186	± 0,00	0,0240	± 0,00	0,1506	± 0,08
28	L (-) arabitol	0,0316	± 0,01	0,0258	± 0,01	0,0377	± 0,00	0,2202	± 0,11
29	d (+) sorbose	0,0490	± 0,02	0,0299	± 0,00	0,0471	± 0,00	0,2836	± 0,13
30	L-Gulonolactone	0,0240	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0379	± 0,02	0,0000	± 0,00
31	DL-alpha-Glycerol-phosphate-Disodium-salt-Hexahydrate	0,0277	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0450	± 0,00	0,1954	± 0,10
32	D-Galactono-1,4-lactone	0,0086	± 0,01	0,0082	± 0,00	0,0228	± 0,01	0,0000	± 0,00
33	D-Ribulose-1,5-biphosphate	0,0444	± 0,02	0,0427	± 0,01	0,0434	± 0,01	0,8593	± 0,47
34	D-Xylonate-cadmium	0,0020	± 0,00	0,0017	± 0,00	0,0030	± 0,00	0,0213	± 0,01
35	gluconic-acid-sodium-salt	0,0160	± 0,00	0,0081	± 0,00	0,0158	± 0,01	0,0849	± 0,05
36	xylitol	0,0174	± 0,01	0,0103	± 0,00	0,0173	± 0,00	0,0908	± 0,04
37	alpha-D-Galactose-1-phosphate-K-M-H2O	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0170	± 0,01	0,2774	± 0,16
38	6-Phosphogluconic-acid-trisodium-salt	0,0151	± 0,01	0,0197	± 0,00	0,0171	± 0,01	0,1152	± 0,07
39	d-fructose-1,6-bisphosphate-sodium-salt	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0151	± 0,01	0,2429	± 0,14
40	L (-) Carnitine	0,0343	± 0,01	0,0152	± 0,01	0,0535	± 0,03	0,0000	± 0,00
41	D-Saccharate-potassium-hydrogen	0,0243	± 0,01	0,0254	± 0,00	0,0155	± 0,01	0,3738	± 0,16
42	myo-inositol	0,0137	± 0,01	0,0154	± 0,00	0,0162	± 0,00	0,1351	± 0,07
43	D-carnitine	0,0195	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
44	Glycerol	0,0451	± 0,02	0,0195	± 0,00	0,0393	± 0,00	0,2054	± 0,09
45	taurine	0,0057	± 0,00	0,0276	± 0,01	0,0036	± 0,00	0,0244	± 0,02
46	d-manitol	0,0057	± 0,00	0,0045	± 0,00	0,0091	± 0,00	0,0455	± 0,02
47	adonitol	0,0290	± 0,01	0,0224	± 0,00	0,0414	± 0,00	0,2162	± 0,10
48	L-methionine-methylsulfonium-iodide	0,0191	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
49	D(+)Glyceraldehyde	0,0369	± 0,02	0,0274	± 0,00	0,0564	± 0,04	0,2657	± 0,13
50	l(+)erythrose	0,0000	± 0,00	0,0383	± 0,01	0,0279	± 0,01	0,0000	± 0,00
51	D,L-Glyceraldehyde	0,0177	± 0,01	0,0155	± 0,00	0,0317	± 0,02	0,1390	± 0,06

52	homovanillic-acid	0,0059	± 0,00	0,0041	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
53	(+)-Sodium-L-ascorbate	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0085	± 0,00	0,0000	± 0,00
54	L-canavanine-sulfate-salt	0,0176	± 0,00	0,0128	± 0,00	0,0206	± 0,00	0,1744	± 0,10
55	l-threonine	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
56	Choline	0,0189	± 0,01	0,0127	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,2094	± 0,11
57	l-asparagine	0,0174	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
58	2,3-diphospho-D-glyceric-acid-pentasodium-salt	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0285	± 0,01	0,0000	± 0,00
59	l (-) threitol	0,0600	± 0,02	0,0367	± 0,01	0,0560	± 0,00	0,3722	± 0,18
60	D,L-Serine	0,0200	± 0,01	0,0102	± 0,01	0,0194	± 0,00	0,0885	± 0,04
61	meso-erythritol	0,0088	± 0,00	0,0046	± 0,00	0,0085	± 0,00	0,0574	± 0,03
62	d (-) 3-phosphoglyceric-acid	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0096	± 0,00	0,1587	± 0,09
63	Ethanol	0,0089	± 0,00	0,0060	± 0,00	0,0112	± 0,00	0,0740	± 0,04
64	l(+)-lactic-acid-calcium-salt	0,0000	± 0,00	0,0025	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
65	l-glutamine	0,0000	± 0,00	0,0038	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
66	N-N-Dimethylglycine-hydrochloride	0,0026	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
67	muco-inositol	0,0173	± 0,00	0,0127	± 0,00	0,0207	± 0,00	0,1262	± 0,06
68	ADA-N-Carbamoylmethyliminodi-acetic-acid-	0,0089	± 0,00	0,0037	± 0,00	0,0076	± 0,00	0,0340	± 0,01
69	betaine	0,0056	± 0,00	0,0026	± 0,00	0,0051	± 0,00	0,0281	± 0,02
70	L-Tartaric-acid	0,0000	± 0,00	0,0025	± 0,00	0,0013	± 0,00	0,0000	± 0,00
71	Sodium-glycolate	0,0026	± 0,00	0,0018	± 0,00	0,0033	± 0,00	0,0181	± 0,01
72	Dihydroxyacetone	0,0000	± 0,00	0,0015	± 0,00	0,0012	± 0,00	0,0000	± 0,00
73	glycine	0,0049	± 0,00	0,0028	± 0,00	0,0043	± 0,00	0,0291	± 0,01
74	Hydroquinone	0,0046	± 0,00	0,0012	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
75	Methyl-Alcohol	0,0019	± 0,00	0,0104	± 0,00	0,0158	± 0,00	0,1242	± 0,09
76	Formaldehyde	0,0046	± 0,00	0,0013	± 0,00	0,0029	± 0,00	0,0194	± 0,01
77	scyllo-inositol	0,0000	± 0,00	0,0005	± 0,00	0,0007	± 0,00	0,0056	± 0,00
78	Orotate-monohydrate	0,0186	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
79	Disodium-Succinate	0,0011	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00

80	Acetyl-phosphate-lithium-potassium-salt	0,0048	± 0,00	0,0028	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0311	± 0,01
81	Glycolaldehyde	0,0082	± 0,01	0,0131	± 0,00	0,0155	± 0,02	0,0941	± 0,04
82	l-cystathionine	0,0000	± 0,00	0,0114	± 0,01	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
83	d-glucuronolactone	0,0000	± 0,00	0,0207	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
84	homogentisic-acid	0,0000	± 0,00	0,0077	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
85	Ethanolamine-HCl	0,0000	± 0,00	0,0180	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
86	Sarcosine-Hydrochloride	0,0000	± 0,00	0,0013	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
87	Isethionic-acid-potassium-salt	0,0000	± 0,00	0,0073	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
88	1,3-Dimethylurea	0,0000	± 0,00	0,0004	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00
89	Acetic-Acid	0,0000	± 0,00	0,0011	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0093	± 0,00
90	N-Acetyl-alpha-D-glucosamine-1-phosphate-disodium-salt	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,1699	± 0,09
91	l-proline	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,0000	± 0,00	0,1423	± 0,08

---

A tabela 7 detalha os resultados da análise de variância ANOVA seguido do teste estatístico post hoc (LSD de Fisher), quando a variabilidade na concentração do composto se mostrou significativa ( $p < 0,05$ ). As espécies apresentam metabólitos primários comuns, no entanto, foram encontradas diferenças em relação à concentração dos metabólitos. Um total de 11 metabólitos se mostraram diferentes quanto à concentração ao se comparar o extrato aquoso das quatro espécies estudadas.

**TABELA 7.** Metabólitos ( $^1\text{H-RMN}$ ) identificados na ressonância cujas concentrações diferiram entre os extratos aquosos das espécies *Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*, via análise de variância (ANOVA) e teste LSD Fisher ( $p < 0,05$ ).

Metabólitos	FDR	Teste LSD Fisher
Etanolamina_HCl	6,95E-10	2 - 1; 2 - 3; 2 - 4*
l_asparagina	8,65E-10	1 - 2; 1 - 3; 1 - 4
Ácido isetiônico	2,49E-09	2 - 1; 1 - 4; 2 - 3; 2 - 4
d_glucuronolactona	2,49E-09	2 - 1; 2 - 3; 2 - 4
N,N Dimetilglicina	4,03E-08	1 - 2; 1 - 3; 1 - 4; 2 - 4
l_prolina	5,62E-08	4 - 1; 4 - 2; 4 - 3
Di-sódio_Succinato de soido	5,96E-07	1 - 2; 1 - 3; 1 - 4; 2 - 4
l'metionina metil sulfonio iodado	8,17E-07	1 - 2; 1 - 3; 1 - 4
Cloridrato de trimetilamina	2,78E-05	1 - 2; 1 - 3; 1 - 4
Hidroquinona	0,017026	1 - 3; 1 - 4; 2 - 3; 2 - 4
Kanamicina	0,028752	1 - 3; 1 - 4; 2 - 3; 4 - 3

\* 1: *Davilla elliptica*; 2: *Combretum Laxum*; 3: *Caryocar brasiliense*; 4: *Qualea grandiflora*

A maioria dos compostos apresentados na tabela 7 corresponde a metabólitos primários importantes na síntese de outros compostos. O ácido isetiônico foi reportado por Gupta et al. (2013) na composição química de macroalgas marinhas (*Gracilaria dura*) a partir da análise de metaboloma baseado em RMN. Da mesma forma outros compostos como: glicina, prolina, glucose, sacarose, galactose, glutamina, colina, acetilcolina e etanolamina

reportadas por Gupta et al. (2013), também foram identificados nas espécies estudadas (Tabela 6).

Já foi relatado o uso do ácido isetiônico e seus derivados na fabricação de herbicidas (Milton, 1958). O extrato aquoso de *C. laxum* apresentou maior concentração de ácido isetiônico em comparação com as demais espécies avaliadas (Tabela 7), o que pode explicar o forte efeito inibitório observado por esta espécie nos bioensaios com sementes de alface.

A hidroquinona é um fenol não volátil considerada um aleloquímico com potencial alelopático que atua ao nível de raiz, mediante a interrupção do transporte da membrana celular que interrompe a absorção de água, levando a um crescimento e fotossíntese reduzidos, causando finalmente a morte da planta (Barkosky, 1999). Este composto encontra-se presente em diferentes espécies com reconhecido potencial alelopático como o trigo e o arroz (Deisinger, 1996) e, foi reportado por Pandey et al. (2005) como alternativa no controle da planta daninha aquática *Chara zeylanica* Willd, por causar danos intensos na integridade da membrana celular, perda de atividades metabólicas e estresse oxidativo.

No estudo realizado por Yang et al. (2013) os autores descrevem que o aleloquímico hidroquinona é um potencial algicida por interferir no crescimento, na fotossíntese e na respiração de *Phaeodactylum tricornutum*. De acordo com Chou e Muller (1972) a hidroquinona na concentração de 50 ppm inibe o crescimento radicular de aveia selvagem (*Avena fatua* L.) e da gramínea *Bromus rigidus*. De acordo com a caracterização fitoquímica dos extratos, as espécies *C. laxum* e *D. elliptica* apresentaram maiores teores de hidroquinona nas folhas, podendo ter refletido na inibição do comprimento das raízes das plântulas de alface (Tabela 5).

Kanamicina é um composto do grupo aminoglicosídeo utilizado na produção de antibióticos ativos sobre bactérias gram positivas, gram negativas e micobactérias. É utilizado também na produção de plantas transgênicas de arroz (Diaz-Granados e Chaparro-Giraldo, 2011) e de damasqueiro (*Prunus armeniaca*) com agente seletivo (Machado et al., 1992). Nesse sentido, a presença de kanamicina nas folhas das espécies *D. elliptica* e *C. laxum*

sustenta a atividade antibacteriana previamente citada na literatura para o gênero *Combretum* (Martini et al., 2004) e para a espécie *D. elliptica* (Michelin et al., 2005).

O estudo realizado por Candido (2016) determinou que o extrato metanólico de *D. elliptica* causa fitotoxicidade na espécie *Panicum maximum* inibindo todos os parâmetros de germinação e desenvolvimento inicial avaliados. Estes resultados coincidem com os obtidos nos bioensaios (Tabela 5).

Estudos fitoquímicos do gênero *Davilla*, reportados na literatura, identificaram a presença de kaempferol, rutina, ácido gálico, quercetina, epicatequina, naringuina e miricetina (David et al., 1996; Guaraldo et al., 2001; Rodrigues et al., 2008). Extratos de folhas da espécie *D. elliptica* possuem derivados de ácido fenólico (ácido gálico), flavonóides, cumarinas, saponinas, esteróides e taninos condensados, isolados por Soares et al. (2005) e Kushima et al. (2009).

Experimentos de fitotoxicidade foram realizados com extrato aquoso de folhas da espécie *Combretum kraussii* na concentração de 2%, comprovando o efeito inibitório no crescimento de plântulas de alface (Sunmonu e Van Staden, 2014). Bisoli et al. (2008) isolaram do caule da espécie *C. laxum* 11 compostos, entre os quais triterpenos como oleanano, ursano e lupano utilizando a técnica de 1D-, 2D-RMN e MS. Outros estudos reportam a presença de azuleno, compostos fenólicos, flavonóides, catequinas, triterpenos, esteróides, saponinas, ácidos orgânicos e açúcares redutores em espécies do gênero *Combretum* (Pereira, 2015; Nopsiri et al., 2015). Em razão dos escassos dados na literatura sobre os compostos presentes em espécies da família Combretaceae, estes resultados podem contribuir para a taxonomia da família.

De acordo com Allem et al. (2014), os efeitos fitotóxicos gerados pelo tecido vegetal de folhas de *C. brasiliense* utilizando como substrato o solo, em baixas concentrações (0,75; 1,5 e 3% m/m) e em razoável número de espécies alvo de diferentes grupos funcionais (*Sesamum indicum*, *Sorghum bicolor*, *Urochloa decumbens* e *Tabebuia impetiginosa*) sugerem que a serapilheira desta espécie possa exercer real potencial alelopático em condições de campo.

Análises de cromatografia líquida acoplada a massas (LC-MS) revelam a presença de ácido gálico e quercetina em extratos hidroalcoólicos de folhas de *C. brasiliense* (Oliveira et al., 2018), ambos compostos considerados fitotóxicos e com alta bioatividade (Tseng et al., 2003; Ascari et al., 2010). A técnica de espectroscopia RMN foi utilizada pela primeira vez na identificação dos compostos das folhas da espécie *C. brasiliense*.

A investigação fitoquímica das folhas de *Q. grandiflora* resultou no isolamento e identificação de compostos como kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-(4"-E-p-coumaroyl)-rhamnoside, kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-(4"-Zp-coumaroil)-rhamnosídeo, esqualeno, fitol, lupeol,  $\alpha$  e  $\beta$ -amina, sitosterol, sitostenona, sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, ácidos ursólico e oleanólico (Ayers et al., 2008).

Embora muitos destes constituintes químicos não tenham sido reportados no perfil metabólico dos extratos aquosos das quatro espécies deste estudo (Tabela 6), a literatura descreve o potencial alelopático de diferentes classes como triterpenos, flavonóides, taninos e alcalóides presentes nestas espécies. Assim, os fenóis são o grupo mais comum de metabólitos conhecidos nas plantas superiores que funcionam como mecanismo de defesa. Ácido gálico e quercetina são alguns fenóis com conhecida ação alelopática (Latif et al., 2017). Segundo Inderjit e Duke (2003) os terpenos são os compostos mais envolvidos na inibição do metabolismo das plantas alvo e apresentam baixa solubilidade em água, em comparação com outras classes de metabólitos.

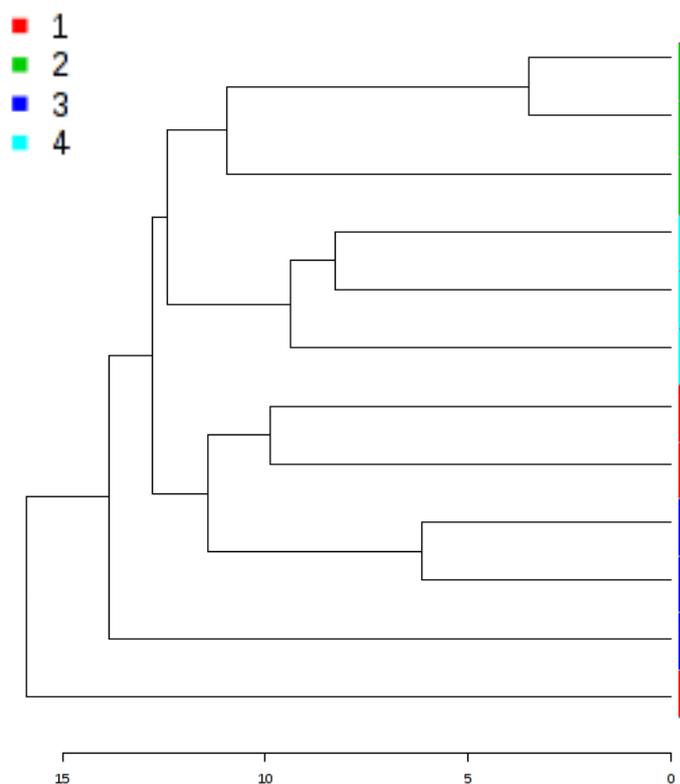
O fluxo metabólico através do metabolismo primário leva à síntese de vários intermediários essenciais necessários para a síntese da grande diversidade de metabólitos especializados presentes nas plantas (Pott et al., 2019). Portanto, a variação qualitativa e quantitativa dos metabólitos primários entre espécies influencia na produção de diferentes classes de metabólitos secundários. Assim, por exemplo, os alcalóides são compostos do metabolismo secundário que são sintetizados a partir de nitrogênio, portanto, uma espécie com altos teores de aminoácidos e compostos nitrogenados tem potencial para produzir maior quantidade de alcalóides, os quais demonstraram atividade

defensiva contra uma ampla variedade de predadores e competidores (Macías et al., 2003).

Os metabólitos secundários são frequentemente glicosídeos, que se caracterizam por possuir uma ou várias unidades de açúcares (glicose), sendo que os mais complexos possuem unidades incomuns de ramnose, galactose, arabinose ou xilose. As diferenças nas concentrações destes açúcares e o tipo de ligação podem influenciar na diversidade estrutural e funcional do composto (Neilson et al., 2013). Deste modo, a concentração destes metabólitos primários é importante para determinar o potencial da espécie na produção de compostos bioativos.

A síntese e armazenamento de compostos secundários envolvidos na defesa das plantas podem ocasionar a alocação de grandes quantidades de recursos de carbono; porém, muitas plantas desenvolveram estratégias de reciclagem e produção de compostos bioativos de baixo custo energético. Esta ciclagem pode originar um composto com atividade biológica totalmente diferente. Os compostos secundários são produzidos como ramificações nas vias metabólicas primárias; assim, um composto primário pode produzir diferentes compostos secundários com funções ou efeitos totalmente contrários ou modos de ação diferenciados (Latif et al., 2017). Assim mesmo, algumas classes de metabólitos, como por exemplo, os fenóis, podem ser produzidos a partir de diferentes vias biossintéticas e precursores (compostos primários) (Neilson et al., 2013).

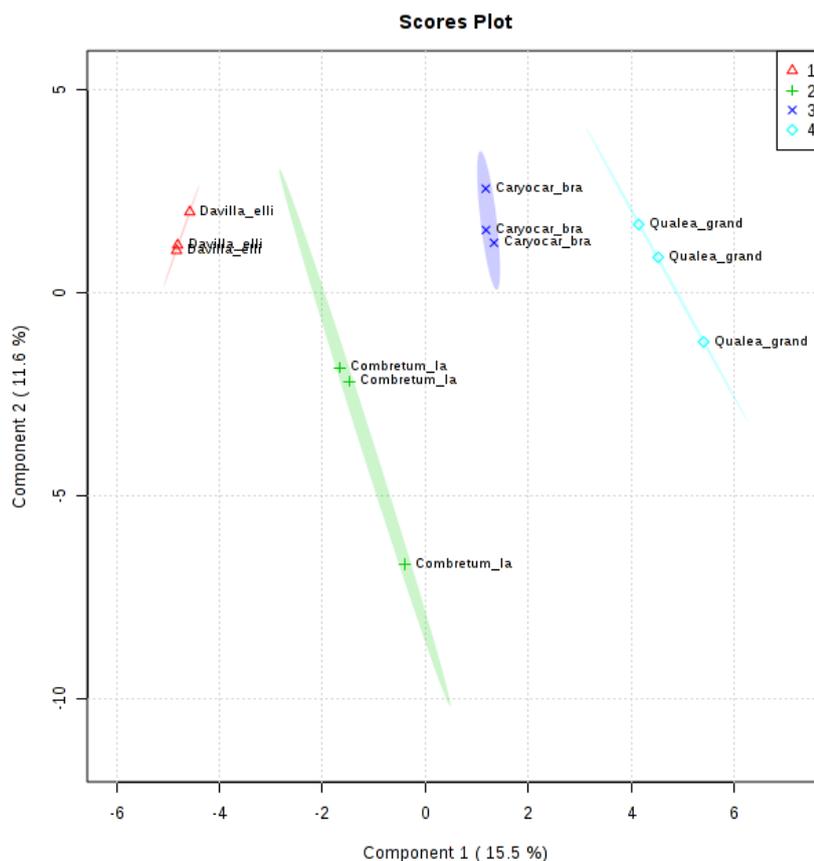
Entre as análises quimiométricas realizadas neste estudo está o agrupamento hierárquico ou *clustering* hierárquico, direcionado a agrupar as amostras de acordo com suas similaridades utilizando algoritmos e ferramentas apropriadas para a visualização e interpretação dos resultados. Os resultados do estudo são sumarizados na árvore binária (dendrograma) (Figura 3); dessa forma foram identificados quatro grupos (*cluster*). As espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora* encontram-se agrupadas em relação ao perfil fitoquímico, o que significa que são próximas quimicamente. Já as espécies *C. brasiliense* e *D. elliptica* encontram-se mais isoladas.



**FIGURA 3.** Análise de agrupamento hierárquico de distância euclidiana dos dados espectrais de 1 H-RMN de amostras de extratos aquosos foliares das espécies *Davilla elliptica* (1), *Combretum laxum* (2), *Caryocar brasiliense* (3) e *Qualea grandiflora* (4).

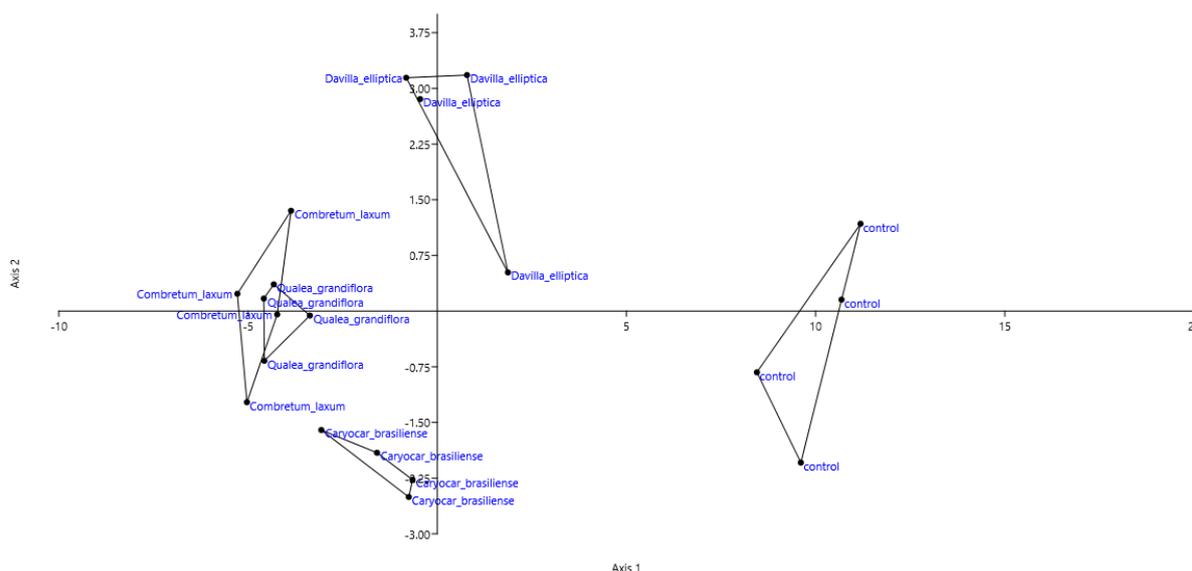
Considerando tanto os metabólitos como as espécies como elementos de agregação, estes são observados de forma simultânea mediante um mapa de calor (Apêndice A). Similaridades são observadas na natureza dos metabólitos, o que permite aglomerá-los em 5 grupos (*cluster*).

De acordo com a análise discriminante associada à análise dos quadrados mínimos parciais (PLS-DA) (Figura 4), verifica-se que os grupos das amostras (espécies) estão significativamente separados entre eles por componentes principais. Este tipo de análise busca separar os grupos amostrais sem maximizar a variância, igual à análise de PCA, funciona pela descoberta de variáveis latentes (Maraschin et al., 2017).



**FIGURA 4.** Discriminação amostral dos metabólitos ao longo dos eixos CP1 (15,5%) e CP2 (11,6%), consoante aos tratamentos (*Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*), a partir da análise discriminatória associada ao cálculo dos quadrados mínimos parciais (PLS-DA).

Na análise de componentes principais (Apêndice B), obtidos a partir dos resultados dos bioensaios de germinação das sementes e desenvolvimento inicial das plântulas, observa-se que existe proximidade em relação à atividade biológica (fitotoxicidade) entre *Q. grandiflora* e *C. laxum* por se encontrarem no mesmo quadrante. De acordo com a análise discriminatória (PLS-DA) (Figura 5), as espécies *Q. grandiflora* e *C. laxum* estão mais próximas em relação ao efeito alelopático por se sobreporem. Já os extratos das espécies *D. elliptica* e *C. brasiliense* encontram-se isolados, assim como o controle (água destilada).



**FIGURA 5.** Discriminação amostral das variáveis alelopáticas ao longo dos eixos consoante aos tratamentos (*Davilla elliptica*, *Combretum laxum*, *Caryocar brasiliense* e *Qualea grandiflora*), a partir da análise discriminatória associada ao cálculo dos quadrados mínimos parciais (PLS-DA).

De acordo com Klein e Miller (1980) todas as plantas produzem metabólitos primários semelhantes, como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos. No entanto, as plantas diferem amplamente nos tipos de compostos que produzem a partir desses metabólitos primários por via biossintética. A produção de metabólitos secundários nas plantas pode depender de distintos fatores e apresentar ocorrências esporádicas; portanto, não parece desempenhar um papel no metabolismo básico das plantas, mas sim na interação biológica. Estes metabólitos secundários desempenham outras funções não essenciais nas plantas que estão ligadas à defesa, reprodução e sobrevivência, de forte importância para a maioria das espécies.

A estrutura química dos metabólitos secundários é frequentemente específica e restrita a organismos taxonomicamente relacionados. A classificação das plantas com base nos seus constituintes químicos (primários e secundários) e, suas vias biossintéticas, constituem a quimiotaxonomia (Singh, 2016). Embora os metabólitos primários desempenhem pouco papel na classificação quimiotaxonomica, por estarem presentes nas plantas por

natureza, servem como base útil de classificação em função da quantidade (concentração) (Parimalan et al., 2014).

Nesse sentido, as espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora* são espécies pertencentes às famílias Combretaceae e Vochysiaceae, respectivamente; ambas as famílias são classificadas dentro da ordem Myrtales de acordo com estudos filogenéticos (Tan et al., 2002; Cole et al., 2019). Este precedente pode explicar a proximidade encontrada nos perfis dos metabólitos primários obtidos a partir da técnica de RMN. Além disso, a proximidade na atividade biológica observada em relação ao potencial alelopático poderia estar relacionada com a semelhança filogenética das espécies o que contribuiria na classificação quimiotaxonômica das espécies.

Contudo, o comportamento alelopático em função da presença dos compostos bioativos não pode ser generalizado para todas as espécies, sendo que espécies da mesma família ou gênero podem apresentar potencial alelopático diferenciado (Imatomi et al., 2013), ou seja, o efeito alelopático pode variar com a espécie e inclusive com a variedade avaliada; um exemplo muito claro são os cultivares de arroz que apresentam diferente efeito fitotóxico na supressão de ervas daninhas (Kong et al., 2008).

#### **4.4. CONCLUSÕES**

Os extratos aquosos foliares de *D. elliptica*, *C. laxum*, *C. brasiliense* e *Q. grandiflora* são diferentes em relação à atividade biológica (fitotoxicidade) e ao perfil metabólico, qualitativa e quantitativamente dentro das especificidades do estudo. Possivelmente a similaridade do perfil metabolômico das espécies *C. laxum* e *Q. grandiflora* se deva à proximidade filogenética.

#### 4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcantara, G. B., Honda, N. K., Ferreira, M. M. C., & Ferreira, A. G. (2007). Chemometric analysis applied in <sup>1</sup>H HR-MAS NMR and FT-IR data for chemotaxonomic distinction of intact lichen samples. *Analytica Chimica Acta*, v. 595, n.1-2, p. 3-8.
- ALLEM, L.N.; GOMES, A. S.; BORGHETTI, F. Pequi leaves incorporated into the soil reduce the initial growth of cultivated, invasive and native species, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.86, p.1761–1768, 2014.
- ANNETT, R.; HABIBI, H.R.; HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate- based herbicides on the freshwater environment. *Journal of Applied Toxicology*, v.34, n.5, p.458-479, 2014.
- ASCARI, J.; TAKAHASHI, J.A.; BOAVENTURA, M.A.D. Phytochemical and biological investigations of *Caryocar brasiliense* Camb. *Boletim Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y Aromaticas*, v.9, n.1, p. 20-28. 2010.
- AYRES, M.C.C.; ESCÓRCIO, S.P.; COSTA, D.A.D.; CHAVES, M.H.; JÚNIOR, G.M.V.; CAVALHEIRO, A.J. Químicos das folhas de *Qualea grandiflora*: Atribuição dos dados de RMN de dois flavonóides glicosilados acilados diastereoisoméricos. *Química Nova*, v.31, n.6, p.1481-1484, 2008.
- BARKOSKY, R.R.; BUTLER, J.L.; EINHELLIG, F.A. Mechanisms of hydroquinone-induced growth reduction in leafy spurge. *Journal of Chemical Ecology*, v.25, n. 7, p. 1611-1621, 1999.
- BATISH, D.R.; SETIA, N.; SINGH, H.P.; KOHLI, R.K. Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. *Crop Protection*, v.23, n.12, p.1209-1214, 2004.
- BISOLI, E.; GARCEZ, W.; HAMERSKI, L.; TIEPPO, C.; GARCEZ, F. Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. *Molecules*, v.13, n.11, 2717-2728. 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. 2009.
- CANDIDO, L.P. Busca de extratos e compostos ativos com potencial herbicida e inseticida nas espécies *Davilla elliptica* St. Hill e *Ocotea pulchella* Nees & MART. 2016. 176f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP. 2016.
- 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. 1020, 2015.
- CHOU, C.; MULLER, C.H. Allelopathic mechanisms of *Arctostaphylos glandulosa* var. *zacaensis*. *American Midland Naturalist*, p. 324-347, 1972.
- CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Crop protection*, v. 20, n. 10, p.921-928, 2001.

COLE, T.; HILGER, H.; STEVENS, P. Angiosperm Phylogeny Poster (App) – Flowering plant systematics, 2019. PeerJ Preprints 7:e2320v6 <10.7287/peerj.preprints.2320.>

COSTA, E.S.; HIRUMA-LIMA, C.A.; LIMA, E.O.; SUCUPIRA, G.C.; BERTOLIN, A.O.; LOLIS, S.F.; ANDRADE, F.D.P.; VILLEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A.R.M. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. *Phytotherapy Research*, v.22, n.5, p.705–707. 2008.

CUI, Q.; LEWIS, I.A.; HEGEMAN, A.D.; ANDERSON, M.E.; LI, J.; SCHULTE, C.F.; WESTLER, W.M.; EGHBALNIA, H.R.; SUSSMAN, M.R.; MARKLEY, J.L. Metabolite identification via the Madison Metabolomics Consortium Database. *Nat Biotechnol*, v.26, p.162–164, 2008.

D'ABROSCA, B.; SCOGNAMIGLIO, M.; FIUMANO, V.; ESPOSITO, A.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R.; FIORENTINO, A. Plant bioassay to assess the effects of allelochemicals on the metabolome of the target species *Aegilops geniculata* by an NMR-based approach. *Phytochemistry*, v.93, p.27-40. 2013.

DAVID, J.M.; CRUZ, F.G.; GUEDES, M.L.S.; CHÁVEZ, J.P. Flavonol glycosides from *Davilla flexuosa*. *Journal Brazilian Chemical Society*. v.7, n.2, p.115–118, 1996.

DEISINGER, P.J. Human exposure to naturally occurring hydroquinone. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, v.47, n.1, p.31-46, 1996.

DIAZ-GRANADOS, C.; CHAPARRO-GIRALDO, A. Concentración mínima inhibitoria de Kanamicina para callos de cuatro variedades colombianas de arroz. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 13, no 2, p. 210-220, 2011.

EL-HADARY, M.H.; CHUNG, G. Herbicides—A Double Edged Sword. In: PRICE, A.J.; KELTON, J.A. (Ed.) *Herbicides-Current research and case studies in use*. Croatia: IntechOpen, 2013. p. 621-652.

FERREIRA, D.F. Programa computacional Sisvar versão 5,6. UFLA: Lavras, Brasil. 2010.

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

GUARALDO, L.; SERTIÈ, J.A.A.; BACCHI, E.M. Antiulcer action of the hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret in rat. *Journal Ethnopharmacology*. v.76, n.2, p.191–195, 2001.

GUPTA, V.; THAKUR, R.S.; REDDY, C.R.K.; JHA, B. Central metabolic processes of marine macrophytic algae revealed from NMR based metabolome analysis. *Rsc Advances*, v.3, n.19, p. 7037-7047. 2013.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, v.4, n.1, p.9, 2001. [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)

INDERJIT; DUKE, S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, v. 217, n. 4, p. 529–39, 2003.

JABRAN, K.; MAHAJAN, G.; SARDANA, V.; CHAUHAN, B.S. Allelopathy for weed control in agricultural systems. *Crop Protection*, v.72, p.57–65, 2015.

KATO-NOGUCHI, H. Isolation and identification of an allelopathic substance in *Pisum sativum*. *Phytochemistry*, v. 62, n.7, p.1141-1144, 2003.

KAUR, S.; SINGH, H.P.; MITTAL, S.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. *Industrial Crops and Products*, v.32, n.1, p.54-61, 2010.

KLEIN, R.R.; MILLER, D.A. Allelopathy and its role in agriculture. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.11, n.1, p.43–56. 1980.

KONG, C.H.; HU, F.; WANG, P.; WU, J.L. Effect of allelopathic rice varieties combined with cultural management options on paddy field weeds. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, v.64, n.3, p. 276-282, 2008.

KUSHIMA, H.; NISHIJIMAA, C.M.; RODRIGUES, C.M.; RINALDO, D. ; SASSÁ, M.F.; BAUAB, T.M; STASIE, L.C.D.; CARLOS, I.Z.; BRITO, A.R.M.S.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C.A. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: Gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-Helicobacter pylori action. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 123, n.3, p.430-438, 2009.

LAKARA, K; VERMA, S. K.; MAURYA,A.C.; SINGH, S.B.; MEENA, R.S.; SHUKLA, U.N. Enhancing crop competitiveness through sustainable weed management practices. In: *Sustainable Agriculture*. India: Scientific Publishers, 2019. p110-166.

LATIF, S.; CHIAPUSIO, G.; WESTON, L.A. Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. In: Becard, G. *Advances in botanical research: How plants communicate with their biotic environment*. v. 82. Castanet-Tolosan: Academic Press. 2017. p.19-54.

LEWIS, I.A.; SCHOMMER, S.C.; HODIS, B.; ROBB, K.A.; TONELLI, M.; WESTLER, W.M.; SUSSMAN, M.R.; MARKLEY, J.L. Method for determining molar concentrations of metabolites in complex solutions from two-dimensional <sup>1</sup>H–<sup>13</sup>C NMR spectra. *Analytical Chemistry*, v.79, p.9385–9390, 2007.

LEWIS, I.A.; SCHOMMER, S.C.; MARKLEY, J.L. rNMR: open source software for identifying and quantifying metabolites in NMR spectra. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v.47, p.s123–s126, 2009.

MACHADO, M.L.D.C.; MACHADO, A.D.C., HANZER, V.; WEISS, H; REGNER, F.; STEINKELINER, H.; MATTANOVICH, D.; PLAIL, R.; KNAPP, E.; KALTHOFF, B.; KATINGER, H.W.D. Regeneration of transgenic plants of *Prunus armeniaca* containing the coat protein gene of Plum Pox Virus. *Plant Cell Reports*, v.11, n.1, p.25-29. 1992.

MACÍAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLA, J.M.G.; CUTLER, H.G. *Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals*. London: CRC Press, 2003. 372p.

MACÍAS, F.A.; MEJÍAS, F.J.R.; MOLINILLO, J.M.G. Recent advances in allelopathy for weed control : from knowledge to applications, Pest Management Science, January, 2019.

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

MARASCHIN, M.; ZEGGIO, A.R.S.; TOMAZZOLI, M.M.; OLIVEIRA, S.K.; RAMLOV, F.; VELEIRINHO, M.B.; ROCHA, M. Metabolômica e Quimiometria como ferramentas para análises químio (bio) diversas. In: RESENDE, R. R. Biotecnologia Aplicada à Agroindústria: fundamentos e aplicações. Vol.4. p.17-49. 2017.

MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

MARTINI, N.D.; KATERERE, D.R.; ELOFF, J.N. Seven flavonoids with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. South Africa Journal of Botany, v.70, n.2, p. 310–312, 2004.

MCGAW, L.J.; RABE, T.; SPARG, S.G.; JÄGER, A.K.; ELOFF, J.N.; VAN STADEN, J. An investigation on the biological activity of *Combretum* species. Journal of ethnopharmacology, v.75, n.1, p.45-50, 2001.

MICHELIN, D.C.; IHA, S.M.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L.C.D.; VILEGAS, W.; SALGADO, H.R.N. Antimicrobial activity of *Davilla elliptica* St. Hill (Dilleniaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v.15, n.3, p. 209-211, 2005.

MILTON, K. Herbicidal sulfoalkyl esters of phenoxyacetates. U.S. Patent No 2,857,261, 21 Oct. 1958.

MIYAKE, Y. Plant Growth Inhibitor. Japan patent No 2009274970. Tokyo: Japan Patent Office. 2009.

NEILSON, E.H.; GOODGER, J.Q.D.; WOODROW, I.E.; MOLLER, B.L. Plant chemical defense: a what cost. Trends in Plant Science, v.18, n.5, p.250-258, 2013.

NOPSIRI, W.; CHANSAKAOW, S.; PUTIYANAN, S.; NATAKANKITKUL, S.; NANTACHIT, K.; KHANTAWA, B.; SANTIARWORN, D. Chemical constituents and antibacterial activity of volatile oils of *Combretum latifolium* Bl. and *C. quadrangulare* Kurz Leaves. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences, v.14, n.3 p.245-256, 2015.

NOVAES, P.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M.; MACÍAS, F. A. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. Phytochemistry Reviews, v.12, n.4, p.839–855, 2013.

OERKE, E. C. Crop losses to pests. The Journal of Agricultural Science, v.144, n.1, p.31-43. 2006.

OGATA, T., HAMACHI, M., AND NISHI, K. Organic Herbicide for Paddy Field. Japan patent No 2008050329. Tokyo: Japan Patent Office. 2008.

OGBOLE, O.O.; AYENI, F.A.; AJAIYEGBA, E.O. In-vitro Antibacterial Screening of Methanol Extracts of three *Combretum* species against seven strains of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA). Nigerian Journal of Pharmaceutical Research, v.12, n.2, p.149-154, 2018.

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

OLIVEIRA, T.S.D.; THOMAZ, D.V.; FRANCIELY, H.; CERQUEIRA, L.B.; GARCIA, L. F.; PIETRO, H.; GIL, V.; PONTAROLO, R.; CAMPOS, F.R.; COSTA, E.A.; CRISTINA, F.; GIL, E.D.S.; GHEDINI, P.C. Neuroprotective effect of *Caryocar brasiliense* Camb. leaves is associated with anticholinesterase and antioxidant properties, Oxidative medicine and cellular longevity, v. 2018, p. 1-12, 2018.

OOKA, J.K.; OWENS, D.K. Allelopathy in tropical and subtropical species. Phytochemistry Reviews, v. 17, p.1125-1237, 2018.

PANDEY, D.K.; MISHRA, N.; SINGH, P. Relative phytotoxicity of hydroquinone on rice (*Oryza sativa* L.) and associated aquatic weed green musk chara (*Chara zeylanica* Willd.). Pesticide Biochemistry and Physiology, v.83, n. 2-3, p.82-96, 2005.

PARIMALAN, R.; MAHENDRANATH, G.; GIRIDHAR, P. Analysis of water soluble polysaccharides as a potential chemotaxonomic marker for landraces in *Bixa orellana*. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, v.51, p.81-86, 2014.

PELEGRINI, L. L.; CRUZ-SILVA, C. T. A. Variação sazonal na alelopatia de extratos aquosos de *Coleus barbatus* (A.) Benth. sobre a germinação e o desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.14, n.2, p.376-382, 2012.

PEREIRA, J.C.D.S. Estudo alelopático, fitoquímico e genotóxico de extratos aquosos de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. e *Combretum leprosum* Mart. em *Allium cepa*. 2015. 69f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Univerisdade Rural do Semi-arido Mossoró-RN. 2015.

PILATTI, D. M.; FORTES, A.M.T.; JORGE, T.C.M.; BOIAGO, N.P. Comparison of the phytochemical profiles of five native plant species in two different forest formations. Brazilian Journal of Biology, v. 79, n.2, p. 233–242, 2019.

POTT, D.M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J.G. From Central to Specialized Metabolism: An Overview of Some Secondary Compounds Derived From the Primary Metabolism for Their Role in Conferring Nutritional and Organoleptic Characteristics to Fruit. Frontiers in plant science, v.10, 2019.

PUIG, C.G.; REIGOSA, M.J.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P.B.; PEDROL, N. Unravelling the bioherbicide potential of *Eucalyptus globulus* Labill: Biochemistry and effects of its aqueous extract. PloS one, v.13, n.2, p. e0192872, 2018.

- RODRIGUES, C.M.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L.C.D.; MONTORO, P.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. High-performance Liquid Chromatographic separation and identification of polyphenolic compounds from the infusion of *Davilla elliptica* St. Hill. *Phytochemical Anal.* v.19, p.17–24, 2008.
- SCAVO, A.; PANDINO, G.; RESTUCCIA, A.; MAUROMICALE, G. Leaf extracts of cultivated cardoon as potential bioherbicide. *Scientia Horticulturae*, v. 261, p. 109024, 2020.
- SILVA JÚNIOR, M.C.D. 100 árvores do Cerrado: guia de campo. Brasília: Rede de sementes do Cerrado, 2005. 278 p.
- SINGH, R. Chemotaxonomy: a tool for plant classification. *Journal of Medicinal Plants*, v.4, n. 2, p.90-93, 2016.
- SOARES, M.L.; REZENDE, M. H.; FERREIRA, H.D.; FIGUEIREDO, A.D. L.; BUSTAMANTE, K.G.L.; BARA, M.T.F.; PAULA, J.R. Caracterização farmacognóstica de folhas de *Davilla elliptica* St.-Hil. (Dilleniaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*.v.15, n.4, p.352-360, 2005.
- SUNMONU, T.O.; VAN STADEN, J. Phytotoxicity evaluation of six fast-growing tree species in South Africa. *South African Journal of Botany*, v.90, p. 101-106, janeiro, 2014.
- TABAGLIO, V.; MAROCCO, A.; SCHULZ, M. Allelopathic cover crop of rye for integrated weed control in sustainable agroecosystems. *Italian Journal of Agronomy*, v.8, n.5, p.10-4081, 2013.
- TAN, F.; SHI, S.; ZHONG, Y.; GONG, X.; WANG, Y. Phylogenetic relationships of Combretoidae (Combretaceae) inferred from plastid, nuclear gene and spacer sequences. *Journal of Plant Research*, v.115, n.6, p. 475-481, 2002.
- TEAM, R.C. R: A language and environment for statistical computing. 2019. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- TSENG, M.; KUO, Y.H.; CHEN, Y. M.; CHOU, C.H. Allelopathic Potential of *Macaranga tanarius* (L.) Muell.–Arg. *Journal of Chemical Ecology*, v.29, n.5, p.1269-1286, 2003.
- VARGAS, S. H., COELHO, M. D. F. B., COWO, E. S., ORRILLO, H. M., SPILLER, C. Phytotoxic potential of aqueous leaf extract of *Tocoyena formosa* and *Rudgea viburnoides*. *Revista Ceres*, v.66, n.5, p.380-386. 2019.
- VIECELLI, C.A.; DA CRUZ-SILVA, C.T.A. Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de *Sálvia*. *Semina: Ciências agrárias*, v.30, n.1, p.39-45, 2009.
- YANG, C.; ZHOU, J.; LIU, S.; FAN, P.; WANG, W.; XIA, C. Allelochemical induces growth and photosynthesis inhibition, oxidative damage in marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Journal of experimental marine biology and ecology*, v.444, p.16-23. Junho, 2013.



