



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUANNA TORRES DE MEDEIROS

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DO EXTRATO AQUOSO DE *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L.

SERRA TALHADA – PE

2019

LUANNA TORRES DE MEDEIROS

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DO EXTRATO AQUOSO DE *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L.

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito obrigatório à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva

SERRA TALHADA – PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- 488a Medeiros, Luanna Torres de
 Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby sobre o desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. / Luanna Torres de Medeiros. - 2019.
 52 f. : il.
- Orientador: Rogério de Aquino Saraiva.
 Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2019.
1. Alelopatia. 2. semiárido brasileiro. 3. cássia-de-sião. 4. fitotoxicidade. I. Saraiva, Rogério de Aquino, orient. II. Título

Com base no disposto na **Lei Federal N° 9.610**, de 19 de fevereiro de 1998. [...] Autorizo para fins acadêmicos e científico a UFRPE/UAST, a divulgação e reprodução total, desta monografia “Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby sobre o desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* L.”, sem ressarcimento dos direitos autorais, da obra, a partir da data abaixo indicada ou até que manifestação em sentido contrário de minha parte determine a cessação desta autorização.

Assinatura

Data

LUANNA TORRES DE MEDEIROS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DO EXTRATO
AQUOSO DE *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby SOBRE O
DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L.**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito obrigatório à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, obtendo a nota

Aprovada em ____/____/____

Banca examinadora

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva
UFRPE/UAST

Prof. Dr. Diego de Souza Buarque
UFRPE/UAST

Prof. Dr. Airton Torres Carvalho
UFRPE/UAST

Dedico este trabalho aos meus pais Luiz e Mônica por todo apoio que me foi concedido durante este tempo, pois os meus maiores passos foram dados porque sempre tive vossas mãos para me sustentar, e a todos aqueles que, por acreditarem na concretização deste sonho, nunca me deixaram desanimar, toda minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha existência e sua presença constante a cada segundo de minha vida; por todas as bênçãos que derrama em meu caminho, pelo aconchego e luz espiritual, pela coragem e principalmente pela força que me faz ter para enfrentar as batalhas, por sempre ter me mostrado as melhores soluções quando precisei.

Aos meu pais, Mônica Maria Fernandes de Medeiros Torres e Luiz Gomes Torres Neto, pela minha formação como pessoa, pelo esforço para me manter na Universidade e, por sempre me forneceram amor e inspiração para toda a minha vida e que transformaram os meus momentos de sofrimento e angústia em sorrisos e justificativas positivas para continuar enfrentando todos os obstáculos de cabeça erguida. Vocês são peças essenciais nessa conquista. Obrigada por acreditarem em mim.

Aos meus avós Cleide e José e tia Ninha por tudo que propuseram à minha vida e aos meus estudos, por tudo que sou. Em especial a minha tia Maria Socorro Fernandes da Silva, pelo seu socorro em horas crucias de minha vida.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, seu corpo docente, direção, administração, servidores e terceirizados pela oportunidade de vivência acadêmica, por me oportunizarem a janela pela qual hoje vislumbro um novo horizonte, pleno de conhecimento.

Ao meu orientador, Dr. Rogério de Aquino Saraiva, pela maneira dedicada e competente com a qual me conduziu, pelos ensinamentos e todo conhecimento e entusiasmo sempre compartilhado em todos momentos. Mas, de modo precípua por ter manifestado em mim a devoção pela Bioquímica. Obrigada por sempre me inspirar.

Aos meus amigos do Grupo de Estudos em Bioquímica e Ecotoxicologia Molecular (GEBETox) por tantas contribuições e aprendizado, especialmente a Maísa Fernanda dos Santos Barbosa por ser uma incentivadora e despertar o melhor das pessoas e, ao querido Paulo Henrique pelo tempo que passou nos conduzindo e transmitindo seus conhecimentos em momentos cruciais das nossas vidas acadêmicas.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

A alelopatia é compreendida como um processo que ocorre em comunidades vegetais, onde as espécies atuam por meio de mecanismos capazes de interferir no crescimento e desenvolvimento de outras plantas, através da liberação de substâncias químicas, também denominadas de aleloquímicos, que são oriundas de processos que ocorrem naturalmente em seu metabolismo secundário e posteriormente depositadas no substrato. Esses aleloquímicos podem desempenhar ações prejudiciais ou vantajosas quando em contato com outras plantas presentes no mesmo ambiente, conforme a quantidade e as circunstâncias em que se encontram no local. *Senna siamea* (Lam) H.S. Irwin & Barneby, conhecida popularmente por canafístula ou cássia-de-sião é originária da Tailândia, mas amplamente encontrada na região do semiárido brasileiro, a qual possui aplicação abundante no uso paisagístico, no sombreamento e diversas pesquisas etnofarmacológicas. Considerando a grande dispersão de espécies de *S. siamea* ao longo de todo o Nordeste brasileiro, objetivamos avaliar sua atividade alelopática sobre o desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* (alface). Para isto, foram colocadas 25 sementes de *L. sativa* em placas de Petri, e simultaneamente também foram acrescentadas diferentes concentrações (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) do extrato aquoso das folhas de *Senna siamea*, em seguida as placas semeadas foram realocadas para uma câmara de germinação onde permaneceram durante sete dias sob monitoramento diário. As análises foram realizadas através de medições das radículas e hipocótilos das plântulas e bioensaios de fitotoxicidade e testes fitoquímicos, a partir dos quais foram detectados a presença de classes de metabólitos secundários como flavonoides e compostos fenólicos. A partir disso, verificou-se um efeito inibitório em relação as plântulas de alface que foi constatado por meio das observações do comprimento da radícula e hipocótilo, diminuição do vigor, presença de necrose e redução no teor de clorofilas e carotenoides. Fundamentando-se nos conhecimentos obtidos, é possível evidenciar que esta espécie de planta possui potencial relevante como fonte de compostos químicos com propriedades biotecnológicas significantes na produção de herbicidas naturais para uso menos agressivo ao ambiente contra plantas daninhas, além da busca por maiores informações para a utilização adequada de espécies vegetais que possuem potencial alelopático.

Palavras-chave: Alelopatia, semiárido brasileiro, cássia-de-sião, fitotoxicidade

ABSTRACT

Allelopathy is understood as a process that occurs in plant communities, where species act through mechanisms capable of interfering with the growth and development of other plants, through the release of chemicals, also called allelochemicals, which are derived from processes that cause they occur naturally in their secondary metabolism and subsequently deposited on the substrate. These allelochemicals may perform harmful or advantageous actions when in contact with other plants present in the same environment, depending on the amount and circumstances in which they are in place. *Senna siamea* (Lam) H.S. Irwin & Barneby, popularly known as canafistula or cassia-siam is originally from Thailand, but widely found in the Brazilian semiarid region, which has abundant application in landscape use, shading and various ethnopharmacological research. Considering the large dispersal of *S. siamea* species throughout the Brazilian Northeast, we aimed to evaluate its allelopathic activity on the development of *Lactuca sativa* (lettuce) seedlings. For this, 25 *L. sativa* seeds were placed in Petri dishes, and at the same time different concentrations (0%, 25%, 50%, 75% and 100%) of the aqueous extract of *Senna siamea* leaves were added, followed by The seeded plates were relocated to a germination chamber where they remained for seven days under daily monitoring. The analyzes were performed through measurements of seedling root and hypocotyls and phytotoxicity bioassays and phytochemical tests, from which the presence of secondary metabolites classes such as flavonoids and phenolic compounds were detected. From this, an inhibitory effect was observed in relation to lettuce seedlings, which was observed by observing the root and hypocotyl length, decrease of vigor, presence of necrosis and reduction of chlorophyll and carotenoid content. Based on the knowledge obtained, it is possible to evidence that this plant species has relevant potential as a source of chemical compounds with significant biotechnological properties in the production of natural herbicides for less aggressive use against the weeds, besides the search for more information for proper use of plant species that have allelopathic potential.

Keywords: Allelopathy, Brazilian semiarid, cassia, phytotoxicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Produtos do metabolismo secundário de plantas e suas rotas de síntese.	18
Figura 2- Exemplificação da biossíntese dos flavonoides.	20
Figura 3- Estrutura química das flavonas.....	21
Figura 4- Dois exemplos de alcaloides amplamente conhecidos atualmente, destacando-se a presença do Nitrogênio em ambas as moléculas.	22
Figura 5- Distribuição de <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby nos estados do Brasil.	26
Figura 6- Estruturas morfológicas da planta <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby, evidenciando a presença dos estames no centro das flores (A) e (B) e botões ovalados característicos da espécie; em (C) vagens finas e alongadas com sementes pequenas e achatadas; (D) e (E) folhas compostas.....	27
Figura 7- Comportamento na germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> frente à diferentes concentrações do EASS durante sete dias, em comparação ao grupo controle.....	37
Figura 8- Média±EPM do comprimento da radícula (A) e do hipocótilo (B) de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L. expostas a diferentes concentrações do extrato aquoso de <i>Senna siamea</i> (Lam.) H. S. Irwin & Barneby.....	37
Figura 9- Plântulas de <i>L. sativa</i> ao fim do sétimo dia de germinação sob o efeito das diferentes concentrações do EASS, evidenciando sua influência no crescimento da radícula para os tratamentos de (B) 25%, (C) 50%, (D) 75% e (E) 100% em relação ao grupo controle (A) 0%.	40
Figura 10- Representação gráfica do percentual de radículas analisadas com presença de necrose parcial e total nas plântulas de <i>Lactuca sativa</i> , evidenciando o percentual de radículas analisadas com ausência de necrose	41
Figura 11- Conteúdo de clorofilas e carotenoides nas diferentes concentrações do extrato aquoso de <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Guia para detecção de compostos fenólicos e subclasses de flavonoides através da mudança de coloração da solução na análise fitoquímica de extratos.	29
Tabela 2- Classes de metabólitos secundários detectados na análise fitoquímica qualitativa do extrato aquoso das folhas de <i>Senna siamea</i> (EASS).	35
Tabela 3- Valores expressos em média, seguidos de letras diferentes em cada coluna que representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey).	36
Tabela 4- Parâmetros avaliados na germinação e desenvolvimento das sementes de <i>L. sativa</i> sob influência das diferentes concentrações do EASS	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AlCl_3 Cloreto de alumínio

BOD- Biochemical Oxygen Demand

°C- Celsius

cm- centímetros

CE- Comprimento esperado

CO- Comprimento observadoCt- Comprimento total

EASS- Extrato aquoso de *Senna siamea*

FeCl_3 – Cloreto de ferro

g- grama

HCl- Ácido clorídrico

INR- Índice de necrose radicular

IT- Índice de tolerância

IVG- Índice de velocidade de germinação

KOH- Hidróxido de potássio

L- litro

MEP – Metileritritol fosfato

mL- mililitro

mg- miligrama

NaOH- Hidróxido de sódio

NSG- Número de sementes germinadas

pH- Potencial hidrogênionico

PR- peso real das plântulas

TRA- Teor relativo de água

UV- Ultravioleta

μL - microlitro

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
1. INTRODUÇÃO	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 METABOLISMO DE PLANTAS	16
2.2 PRINCIPAIS CLASSES E PROPRIEDADES QUÍMICAS DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	18
2.2.1 Terpenoides.....	18
2.2.2 Taninos	19
2.2.3 Flavonoides.....	19
2.2.4 Alcaloides	21
2.3 ALELOPATIA.....	22
2.7 GÊNERO <i>Senna</i> sp.	25
2.7.1 A espécie <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby	25
3.MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 COLETA DE MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Senna siamea</i> (LAM.) H.S. Irwin & Barneby (EASS).....	28
3.2.1 Prospeção fitoquímica qualitativa do EASS.....	28
3.3 ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> NA PRESENÇA DO EASS.....	30
3.4 ÍNDICES DE DESENVOLVIMENTO E FITOTOXICIDADE	32
3.4.1 Número de sementes germinadas (NSG/Dia) e Índice de velocidade de germinação (IVG)	32
3.4.2 Massa seca e massa fresca e teor relativo de água (TRA).....	32
3.4.3 Índice de tolerância ao extrato (IT).....	33

3.4.5 Vigor.....	33
3.5 TEOR DE CLOROFILAS E CAROTENOIDES	33
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4. RESULTADOS	35
4.1 PERFIL FITOQUÍMICO DO EASS	35
4.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	35
4.2.1 Potencial osmótico, pH e condutividade elétrica	35
4.3 ÍNDICES DE DESENVOLVIMENTO E FITOTOXICIDADE.....	36
4.4 TEOR DE CLOROFILAS E CAROTENOIDES	41
5 DISCUSSÃO	43
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

Senna siamea, (Lam.) H.S. Irwin & Barneby (Família Fabaceae/ Leguminosae), conhecida popularmente por cássia-de-sião, é uma árvore comumente encontrada na região do semiárido brasileiro com fins paisagísticos e de importância etnofarmacológica. Devido ao fato de ser originária da Tailândia (sudeste da Ásia), um local onde apresenta variação climática com médias térmicas altas e umidade distribuída durante todo o ano (ou seja, clima tropical úmido), a canafístula apresentou ótima adaptação às condições ambientais do semiárido brasileiro após sua introdução (DUTRA et al, 2007).

A relevância dessa pesquisa se dá pela ampla distribuição desta planta na zona urbana e rural do semiárido, podendo competir com as espécies nativas com consequente extinção dessas espécies e causar desequilíbrio ambiental. Nesse sentido, é necessário que a população identifique os efeitos inibitórios e benéficos de *S. siamea* para que executem um manejo mais adequado desta planta.

Para a construção deste trabalho, foram realizados ensaios de germinação e alelopatia com o objetivo de consolidar os conhecimentos químicos e alelopáticos da *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby, uma pesquisa de campo e laboratório quali-quantitativa, utilizando a região do sertão, como micro região do semiárido brasileiro, especificamente no Estado de Pernambuco por ser o centro de atendimento da Universidade Federal Rural de Pernambuco, na Unidade Acadêmica de Serra Talhada no Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, que tem como premissa contribuir para o desenvolvimento da região. Uma região com predominância na agricultura e pecuária de grande e pequeno porte, com vegetação denominada de caatinga, com uma diversidade considerável de espécies vegetais adaptadas, apesar da pouca utilização dos recursos naturais abundantes.

As práticas de reflorestamento e uso paisagístico e arborização urbana são comumente aplicadas sem conhecimento aprofundado das espécies que estão sendo utilizadas. Fatores como este são responsáveis muitas vezes por promover a introdução de espécies exóticas, que podem ter consequências severas como a invasão biológica dos ecossistemas, provocando grandes perdas à biodiversidade. Dessa maneira, essas plantas podem se reproduzir rapidamente e tomar o lugar das espécies locais, podendo acarretar exclusão de espécies nativas (REJMANEK, 1995).

Parte desta vegetação tem características alelopáticas como a *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby, que é o mecanismo pelo qual algumas espécies de vegetais atuam no desenvolvimento de outros vegetais, por meios de compostos químicos. Esta ação pode causar

alguns danos para a vegetação nativa ou até proteger o ambiente de outros vegetais danosos a pastagem ou alimentação dos animais.

As substâncias encontradas nesses vegetais, geralmente, são moléculas sintetizadas a partir do metabolismo secundário de organismos vegetais, sendo também conhecidos como metabólitos secundários e, quando estas exercem um efeito alelopático, são denominadas de aleloquímicos (KRUSE *et al.*, 2000). Estes aleloquímicos possuem função fundamental e imprescindível, visto que são responsáveis por possibilitar e favorecer a permanência do organismo naquele ambiente, permitindo-lhe um maior valor adaptativo. Desta forma, a síntese de metabólitos secundários promove a capacidade de sobrevivência do organismo, em consequência de protegê-lo contra ataques insetívoros ou estresses ocasionados pela escassez de água ou excesso de radiação solar (CROTEAU *et al.*, 2000).

Algumas leguminosas, por serem utilizadas como adubos verdes, tem sido objeto de estudo no que diz respeito ao controle alelopático de plantas daninhas. Segundo Noldin *et al.* (2003), diversas pesquisas vêm sendo realizadas com objetivo de avaliar a bioatividade de determinados extratos vegetais, de maneira especial suas atividades alelopáticas e características ecológicas.

A análise desta bioatividade é fundamental para que a população possa se beneficiar, seja quanto ao seu uso na medicina popular, na produção em escala que possibilite a comercialização para a indústria, ou ainda buscando soluções para beneficiar o solo e a vegetação nativa do ecossistema (AMOO *et al.*, 2008).

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do extrato aquoso das folhas de *S. siamea* sobre o desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa*, evidenciando seu possível potencial alelopático.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 METABOLISMO DE PLANTAS

Entende-se por metabolismo o conjunto de reações químicas que tem por objetivo degradar e/ou compor moléculas em uma espécie. Estas reações que visam a quebra, também designadas de catabolismo, têm em vista a liberação de energia para o organismo. Por outro lado, as reações de síntese bioquímica que ocorrem no indivíduo e objetivam a construção de moléculas através do consumo de energia são denominadas de anabolismo, uma vez que tencionam a formação de substâncias (MALAJOVICH, 2016). Nesse sentido, os processos fisiológicos, representados tanto pelo catabolismo quanto pelo anabolismo, que ocorrem no organismo vegetal têm em vista favorecer seu crescimento e desenvolvimento no ambiente. Assim, em razão da totalidade destes processos que incluem reações simples e complexas, a planta é capaz de realizar procedimentos vitais para sua perpetuação no ecossistema, como a fotossíntese e a produção de biomoléculas, designados de metabólitos primários e metabólitos secundários, que podem ser constituídos a depender da via metabólica a partir da qual foram originados (ALMEIDA, 1988).

Os metabólitos primários são moléculas formadas decorrentes de reações bioquímicas essenciais no organismo da planta, como a respiração. Entre estes, destacam-se os açúcares, aminoácidos, carboidratos, vitaminas, proteínas e ácidos nucleicos, bem como outras substâncias que possuem funções vitais para seu desenvolvimento. Isto é, todos esses compostos são produzidos em órgãos específicos dentro da planta, como consequência da fotossíntese (NETO PEIXOTO & CAETANO; 2005). O seguimento desses bioprocessos está relacionado às vias metabólicas utilizadas para a produção de cada substância. Além de efetuarem funções de interação entre a planta e o ambiente, os metabólitos secundários apresentam padrões de produção diferentes em decorrência das suas necessidades elementares, não somente, mas também resultante de suas características genéticas e evolutivas (CHAE et al, 2014).

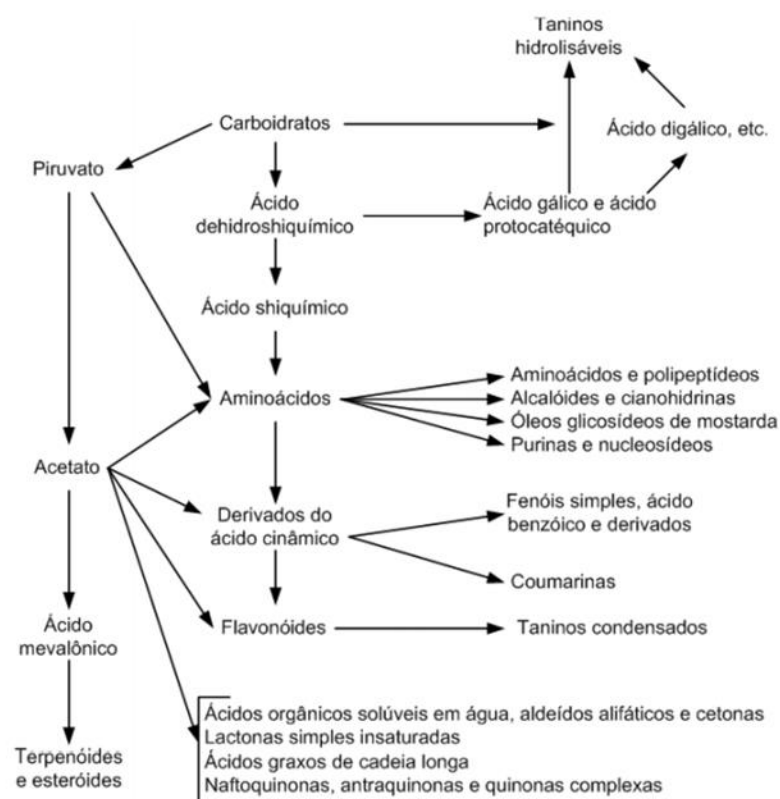
Paralelamente, os metabólitos secundários exercem papéis diferentes nas plantas, sendo assim nomeados em consequência de não participarem diretamente de seus processos vitais e por isso não são considerados essenciais para seu crescimento (ALMEIDA, 1988). Além disso, a síntese desses metabólitos está diretamente ligada a fatores ambientais e ecológicos que interferem no metabolismo do organismo vegetal, como as condições de estresse hídrico, efeitos

da radiação solar, ação do vento e variações temporais determinam a produção de compostos específicos pela planta. Com efeito, pode-se aquiescer que a concentração dessas substâncias apresenta-se conforme as condições ambientais em que a planta está inserida (GOBBO-NETO, 2007).

A biossíntese dos metabólitos secundários implica a participação de enzimas que determinam a rota metabólica pela qual as moléculas serão sintetizadas (NETO PEIXOTO & CAETANO; 2005) e qual a finalidade destas, que podem ser produzidas a partir de estímulos de defesa, em circunstâncias que a planta se encontre sob ataques de herbívoros (GOBBO-NETO, 2007).

Analisando a construção dos compostos secundários, é possível afirmar que estes são formados mais abundantemente na natureza pelas vias do ácido chiquímico, do acetato (acetilcoenzima A) e do metileritriol fosfato como exemplificado na figura 1 (DEWICK 2002).

Figura 1- Produtos do metabolismo secundário de plantas e suas rotas de síntese.



Fonte: Adaptado de Rice, 1984

2.2 PRINCIPAIS CLASSES E PROPRIEDADES QUÍMICAS DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Com base nas fundamentações sobre as classes de metabólitos já mencionadas no texto, continuamente serão evidenciadas suas principais características químicas, como também algumas de suas propriedades biológicas na natureza.

2.2.1 Terpenoides

Amplamente encontrados em diversos organismos vegetais, os terpenoides ou terpenos têm sua estrutura formada essencialmente por isoprenos, derivados de estruturas básicas de 5 carbonos sendo que estes são instituídos de maneira semelhante aos policetídeos, os quais são

também sintetizados por plantas e fungos a partir da condensação de unidades de acetila. Contudo, para que a formação dos terpenos se realize de modo apropriado, a reação de condensação deve ocorrer na presença de fosfato, onde o difosfato de isopentenila é a principal fonte para a formação dos terpenos. Estes compostos são a classe de metabólitos secundários encontrados no reino vegetal com maior abundância e derivam da via do ácido mevalônico, porém também pode ser sintetizados a partir da glicose como uma fonte alternativa através da formação do 2-metileritriol fosfato (MEP). Em virtude disso, é possível a ocorrência da biossíntese de hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), diterpenos (C20), e triterpenos (C30) (SIMÕES et al. 2007). No que se refere a planta, os terpenos estão relacionados as interações com o ambiente, já que estes protegem-na contra ataques de insetos, estabelecendo características evolutivas que proporcionam a permanência do vegetal em seu habitat. Ainda é relevante salientar a influência dessas moléculas nas correlações entre plantas de espécies diferentes, já que estas são responsáveis por desenvolver atividades alelopáticas (PAVARINI, 2016).

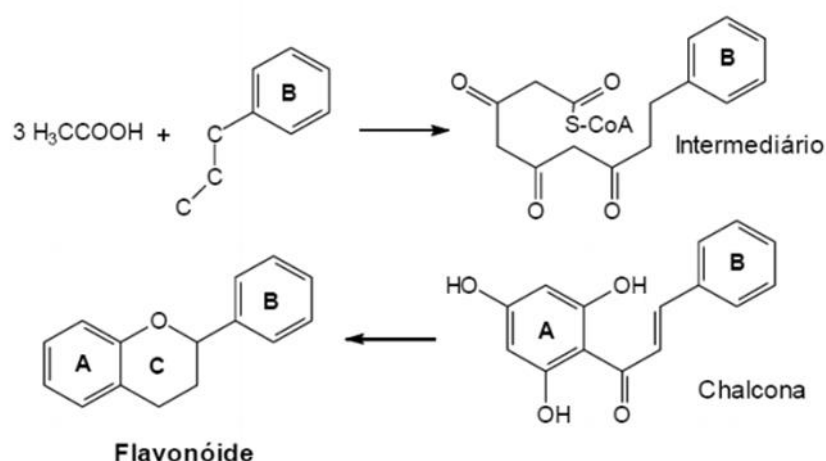
2.2.2 Taninos

Os taninos são macromoléculas do metabolismo secundário de plantas, e são categorizadas como compostos fenólicos que apresentam solubilidade na água e são eles os responsáveis por causar o travo característico de alguns frutos encontrados no ambiente, como o caju, onde muitas vezes são apresentados como impalatáveis para alguns animais. Em conformidade, podem ser classificados quimicamente como taninos hidrolisáveis ou taninos condensados. Essas moléculas possuem grande capacidade reativa e são capazes de formar pontes de hidrogênio, como também podem ser facilmente oxidados. Segundo sua natureza química, os taninos hidrolisáveis são formados por ésteres de ácido gálico e ácidos elágicos glicosilados, os quais são sintetizados a partir do chiquimato, de maneira que ocorre esterificação dos grupos hidroxilas com os ácidos fenólicos (TRUGILHO et al., 2003). Por outro lado, os taninos condensados são encontrados em larga escala nas plantas superiores e são polímeros provenientes do metabolismo de fenilpropanol, ou seja, são formados pela polimerização de catequina. (AGOSTINI-COSTA et al., 1999).

2.2.3 Flavonoides

Os flavonoides correspondem a uma das maiores classes de metabólitos secundários encontrados nos vegetais, fazendo parte da constituição de suas folhas. São polifenóis sintetizados pela via do chiquimato, assim como pela via do acetato, tendo o fenilpropano como precursor e exercem papel de proteção contra mecanismos oxidantes e são compostos fundamentalmente por três anéis em que se encontram os átomos de carbono, os quais estão susceptíveis a passar por diversas reações químicas, tendo como exemplo a metilação e a hidroxilação (RODRIGUES et al., 2015). Os flavonoides, os quais são produzidos pela via dos fenilpropanoides são geralmente nomeados com base no vegetal em que são encontrados. Além de possuírem propriedades químicas atrativas para o mercado econômico e farmacêutico, os flavonoides têm grande relevância para a sociedade por apresentar diversos tipos de pigmentos (SIMÕES et al. 2007).

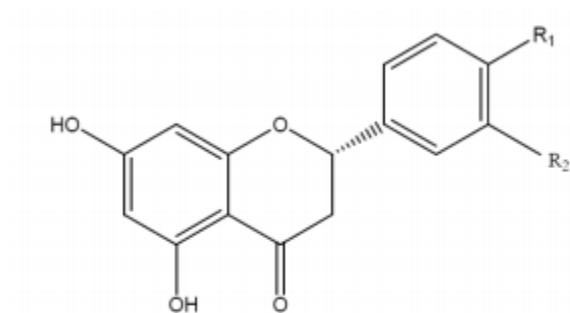
Figura 2- Exemplificação da biossíntese dos flavonoides.



Fonte: Adaptado de Di Carlo et al., 1999

A partir dos três anéis que compõem o núcleo, podem ser formados outros compostos derivados dos flavonoides, como as leucoantocianinas e antocianidinas, que têm suas estruturas originadas com base no terceiro anel (MACHADO et al., 2008). Além dessas classes de flavonoides, ainda podem ser encontradas na natureza as flavonas, flavononas, flavanas, antocianinas, isoflavonoides, entre outras (SIMÕES et al., 2007).

Figura 3- Estrutura química das flavonas.

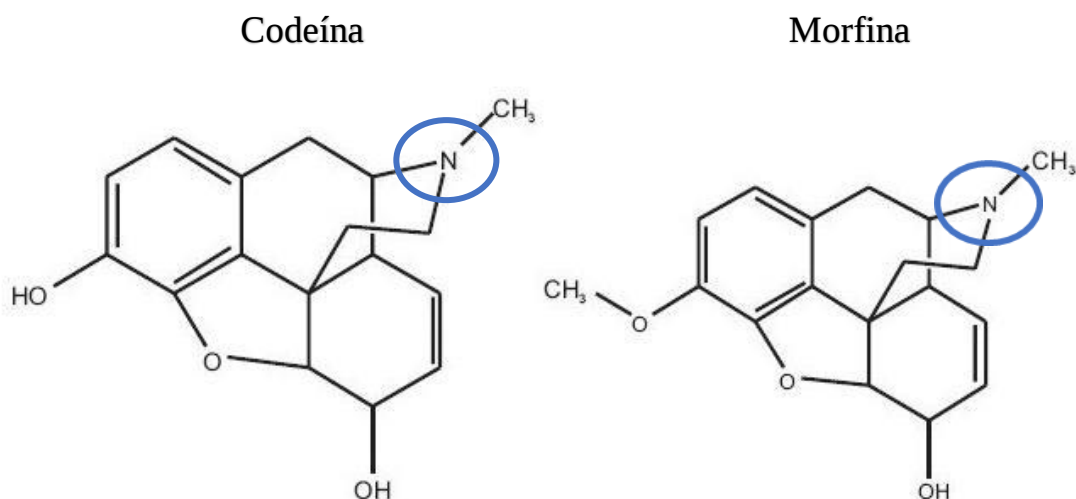


Fonte: Bhagwat et al., 2011

2.2.4 Alcaloides

Segundo Simões et al. (2007), os alcaloides são substâncias derivadas do triptofano e da fenilalanina, os quais são aminoácidos bastante difundidos em plantas e animais. Apesar disso, é necessário o envolvimento de esteroides e terpenos para que ocorra de fato a produção dos alcaloides. Possuem natureza alcalina e por isso, são considerados compostos capazes de auxiliar a regulação do equilíbrio iônico. Entretanto, sugerem a capacidade de desintoxicação das plantas, já que estas produzem substâncias danosas que são produzidas por seu metabolismo primário. Além disto, ainda possuem função alelopática, conferindo capacidade de inibição durante a germinação de outros organismos vegetais, já que apresentam efeito quelante e em alguns casos, como estes apresentam em sua estrutura química a presença de pelo menos um nitrogênio, poderiam funcionar como reserva deste átomo essa seja uma possibilidade pouco investigada (HENRIQUES et al., 2001).

Figura 4- Dois exemplos de alcaloides amplamente conhecidos atualmente, destacando-se a presença do Nitrogênio em ambas as moléculas.



Fonte: Adaptado de Kukula-Koch et al., 2017

A síntese dos alcaloides tem os aminoácidos como as principais moléculas utilizadas para sua formação. A reação ocorre por meio da descarboxilação dos aminoácidos ornitina, arginina, fenilalanina, triptofano, lisina e tirosina (SIMÕES et al. 2007).

2.3 ALELOPATIA

Dentro de comunidades vegetais, as espécies desenvolvem comportamentos ecológicos através de diferentes meios de comunicação entre si, tendo como exemplo as relações químicas estabelecidas pelos organismos que culminam na produção de diversas substâncias. Onde o desenvolvimento desses compostos, também chamados de metabólitos secundários, são responsáveis pela realização de interações bioquímicas entre plantas, que podem favorecer ou prejudicar seu crescimento e germinação, culminando nos efeitos da alelopatia (PUTNAM e DUKE, 1987; GUREVICTH et al., 2009).

Diferentemente das relações de competição que objetivam reduzir fatores de crescimento de um organismo sobre o outro, como a diminuição de água e/ou alimento, a alelopatia é ocasionada pela produção de compostos químicos sintetizados por uma espécie que provoca interferências no ambiente, afetando a comunidade ali presente. Ou seja, enquanto a

competição propõe-se a retirar fatores cruciais para o desenvolvimento da planta no ambiente, o fenômeno da alelopatia por outro lado, tende a introduzir no ambiente substâncias químicas que afetam o crescimento de outras (RICE, 1984; MULLER 1969). Em 1937, Molish definiu o termo pela primeira vez caracterizando-o como a produção de substâncias químicas capazes de desencadear ações prejudiciais entre outras espécies de plantas, bem como microrganismos (RICE, 1984). Porém, segundo Putnam e Duke (1978) com o decorrer dos anos, a palavra alelopatia vem tendo seu significado redefinido.

As substâncias alelopáticas introduzidas no ambiente são denominadas de aleloquímicos e essas substâncias, produtos do metabolismo secundário podem ser sintetizadas por diferentes partes da planta (folhas, raízes), podendo ser encontradas principalmente nos vacúolos. As características genéticas da planta estão inteiramente ligadas a produção desses compostos, que são apresentados na forma de glicosídeos (WHITTAKER & FENNY, 1971).

Resumidamente, esses compostos podem ser liberados dos tecidos da planta no ambiente por diversos processos biológicos, que incluem lixiviação pela chuva ou orvalho e depositados no solo, volatilização onde as substâncias podem ser dispersadas nos aromas de diferentes espécies (PUTNAM, 1987; CHON et al., 2006; WESTON E DUKE, 2003), por exsudação radicular onde são liberadas grandes quantidades de aleloquímicos no solo, como o ácido cinâmico que impede a absorção de íons por plântulas de pepino, segundo estudos realizados Yu e Matsui (1997). Ou ainda por deposição de resíduos vegetais (IINDERJIT E DUKE, 2003) que pode ocorrer pela ruptura de células em decomposição, consequentemente liberando no ambiente os produtos do metabolismo secundário vegetal (ALMEIDA, 1988).

Mediante o exposto, é possível observar que esses metabólitos secundários atuam através de mecanismos que podem afetar negativamente, ou beneficiar o desenvolvimento de outros organismos dentro de uma comunidade. Podendo interferir na absorção de nutrientes e respiração, ou diretamente alterando características metabólicas da planta, como na síntese de proteínas e atividades enzimáticas (EINHELLIG, 2001; ÁQUILA, 2000). Entretanto essas perturbações só serão concretizadas a depender da constituição química desses compostos em evidência, e em razão da quantidade de aleloquímicos liberada no ambiente (GOLDFARB et al., 2009).

A alelopatia também vem ganhando espaço nos estudos de sistemas agroflorestais em todo o mundo, em virtude das grandes perdas na produção causadas pelo crescimento desenfreado de plantas daninhas, que além de ocasionarem modificações nas relações ecológicas do ambiente, podem promover extinção de diversas espécies nativas, resultando na perda de biodiversidade (ALTIERI E LIEBMAN, 1998; FERGUSON et al, 2003). Dessa

forma, o uso sustentável da alelopatia para o avanço e aperfeiçoamento no rendimento das culturas e proteção ambiental, por meio do controle dessas ervas daninhas, além do adoecimento das plantações e dos níveis de nitrogênio no solo, podem ser alguns dos impactos a serem reduzidos pela utilização de aleloquímicos extraídos de plantas que antes possuíam comportamentos prejudiciais ao ambiente. Afinal, através de práticas como estas, muitos compostos vêm ganhando atenção dos pesquisadores atraídos por estudos alelopáticos, como possíveis fatores naturais capazes de reduzir danos e perdas nas culturas e sistemas agroflorestais (TIGRE et al., 2012).

2.6 BIOENSAIOS DE ALELOPATIA

São muitas as técnicas que vêm sendo utilizadas para a extração de aleloquímicos, nas quais os procedimentos experimentais baseiam-se principalmente na inoculação de extratos de uma espécie vegetal sobre a germinação de sementes de outra espécie, onde normalmente são utilizadas plantas que evidenciem uma maior sensibilidade. A preparação desses extratos inclui a trituração de partes específicas da planta e adição de um agente extrator que disponha de características orgânicas como o metanol, etanol e acetona, ou água em casos de extratos aquosos com o objetivo de melhor reproduzir as condições encontradas na natureza (PIRES & OLIVEIRA, 2011; PEREIRA et al., 2009).

Os bioensaios de alelopatia são indispensáveis para uma melhor compreensão das respostas fisiológicas, frente às interações de natureza benéfica ou prejudicial entre plantas. Para a avaliação desses efeitos, faz-se necessário uma representação através de ensaios de germinação sob condições controladas e que apresentem semelhanças com o ambiente natural. Ainda se faz necessário que os bioensaios sejam separados em tratamentos de diferentes concentrações do extrato e um tratamento controle, para que seja possível uma posterior comparação entre os grupos (NOVAES et al., 2013).

Nesse contexto, têm-se como modelo de planta consideravelmente sensível às alterações causadas pelas interferências ocasionadas por estes compostos provenientes do metabolismo secundário, o alface (*Lactuca sativa*) (FERREIRA & AQUILA, 2000). Logo, os aleloquímicos presentes nos extratos são responsáveis por influenciar os estágios de desenvolvimento das plântulas, afetando seu crescimento e ainda promover outros processos que caracterizam a ação de efeitos alelopáticos, como a necrose radicular (KAPANEN; ITAVAARA, 2001).

Para indicar o efeito alelopático desses compostos secundários é muito comum a utilização de ensaios de germinação, já que o desenvolvimento inicial de sementes dispõe de

características potenciais avaliação dos impactos ocasionados por aleloquímicos. Normalmente, esses ensaios são administrados em câmaras de germinação com fotoperíodo controlado e com duração de 7 dias, onde é realizado o cômputo do total de sementes germinadas por dia até o fim do experimento (SOUZA FILHO, 2010).

2.7 GÊNERO *Senna* sp.

O gênero *Senna* faz parte da família Leguminosae (Caesalpiniaceae) e da subtribo Cassinae que abrange mais três gêneros: *Cassia* L., *Senna* Mill e *Chamaecrista* Moench. Ambos eram vistos de maneira conjunta, mas após as análises taxonômicas realizadas por Irwin & Barneby (1981) foram separados. Amplamente distribuído em 260 espécies que ocupam todo o continente americano, das quais 80 são encontradas no Brasil (SOUZA & BORTOLUZZI, 2012) que podem ser identificadas pela presença de flores amarelas assimétricas.

As descrições deste gênero apontam que no Brasil é comumente utilizado na medicina popular pelas comunidades, no tratamento de doenças que acometem o fígado e doenças ligadas ao reumatismo. Apesar disso, sua distribuição em áreas de Cerrado e Caatinga é considerada complexa (LORENZI, 2002). Ainda segundo Lorenzi (2002), além de apresentar em sua composição química compostos secundários, ainda evidencia particularidades terapêuticas em sua composição.

2.7.1 A espécie *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby

Originária da Tailândia, notadamente sudeste da Ásia, *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby é uma planta aclimatada a região Nordeste do Brasil, onde é usualmente destinada ao sombreamento de áreas urbanas e rurais. É popularmente conhecida como Cássia-de-sião e possui porte médio, podendo atingir 5 m de altura mesmo em períodos muito secos, apesar de seu diâmetro não ultrapassar 50 cm e dificilmente exceder 20 m de altura (JENSEN, 1995).

Figura 5- Distribuição de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby nos estados do Brasil.

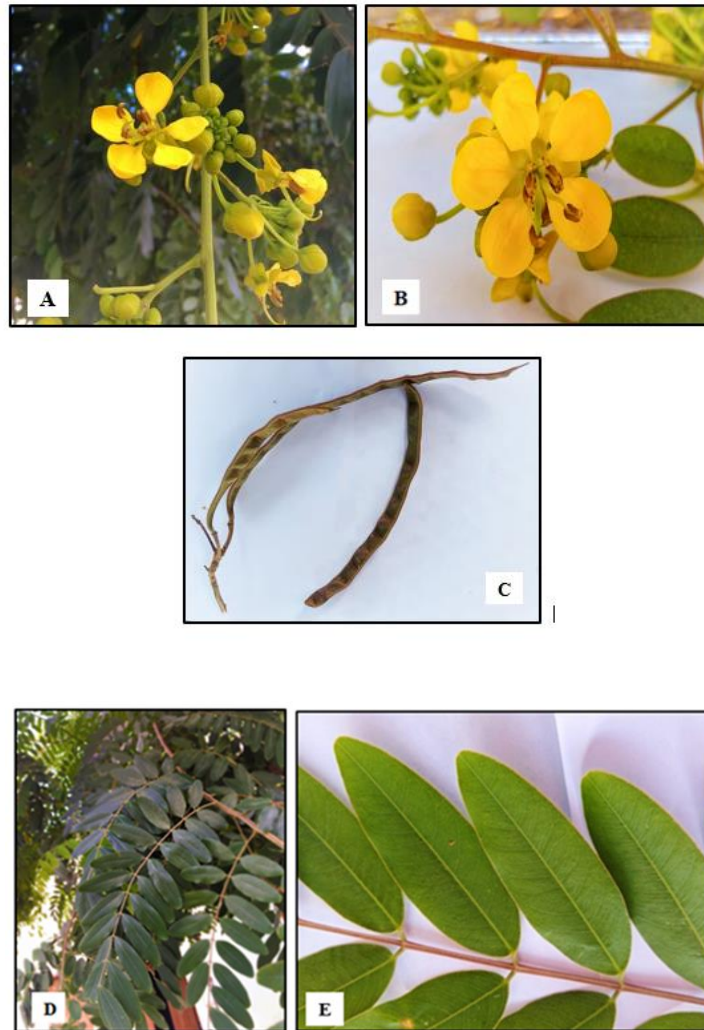


Fonte: Flora do Brasil, 2020.

As plantas pertencentes ao gênero *Senna*, com ênfase na espécie *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby que também é encontrada na Nigéria, um país que está localizado na região da África Ocidental, no qual são abundantemente empregadas ao preparo de extratos com suas flores, que tradicionalmente são administrados aos pacientes com febre tifoide (KWADA & TELLA, 2009). Onde, a utilização da madeira de seus troncos é amplamente comum na construção de móveis, no aproveitamento como lenha pelas comunidades, e na produção de postes. Também possui aplicabilidade na produção de mel, entretanto, não possuem aproveitamento no tratamento de áreas degradadas através do reflorestamento em razão de sua capacidade agressiva de competir por nutrientes e água (BURKILL, 1995; GUTTERIDGE, 1997).

No que se refere as suas estruturas morfológicas (Figura 6), a *S. siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby apresenta flores zigomórficas de coloração amarela, com um total de 7 estames e frutos deiscentes em posição de pêndulos e forma plana. Suas inflorescências são do tipo panículas com presença de botões ovalados (RODRIGUES et al, 2004).

Figura 6- Estruturas morfológicas da planta *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby, evidenciando a presença dos estames no centro das flores (A) e (B) e botões ovalados característicos da espécie; em (C) vagens finas e alongadas com sementes pequenas e achatadas; (D) e (E) folhas compostas



Fonte: (Autoria própria, 2019)

3.MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *Senna siamea* (LAM.) H.S. Irwin & Barneby (EASS)

Foram coletadas folhas maduras de *S. siamea* na Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada. Todo o material coletado foi levado até o laboratório para a etapa de assepsia em água destilada.

Durante a preparação do material vegetal para obtenção do extrato aquoso, foram pesadas 250 g de folhas frescas, que posteriormente foram trituradas em um liquidificador acompanhadas de 2 L de água destilada. Após isto, o extrato aquoso das folhas foi submetido a filtragem em bomba a vácuo para garantir a separação total das partículas sólidas, e em seguida foi armazenado em frascos âmbar e direcionado ao refrigerador no qual permaneceu a uma temperatura de 10 °C até a realização dos ensaios de germinação e químicos.

3.2.1 Prospecção fitoquímica qualitativa do EASS

Segundo a metodologia proposta por Matos (1988 e 1997) foi utilizada para a obtenção da caracterização fitoquímica do EASS. Esta metodologia, baseia-se em reações químicas que consistem na formação de precipitado, mudança de coloração e desenvolvimento de espuma. Os testes realizados foram utilizados para a identificação das posteriores classes de metabólitos secundários:

a) Compostos fenólicos

Teste 1- Uma amostra do extrato foi gotejada na superfície de um papel filtro, juntamente com a solução de FeCl₃ 2% e em seguida analisado sob luz UV. A aparecimento de uma coloração azul escuro, sugere a presença de compostos fenólicos.

Teste 2- Em dois tubos de ensaio contendo 3 mL do extrato aquoso foram adicionadas 3 gotas de FeCl₃. Após a agitação foi observada a ocorrência de variação de cor ou formação de precipitado abundante e escuro, sempre comparando-os com o teste em branco (água+ FeCl₃). A mudança de coloração, variando entre azul e vermelho, sugere a presença de compostos fenólicos. Já o precipitado escuro de tonalidade azul, supõe a presença de taninos hidrolisáveis e verde taninos condensados.

b) Flavonoides

Uma gota do extrato aquoso foi aplicada sobre uma folha de papel filtro e logo após, uma gota de cloreto de alumínio (AlCl_3) 5% foi acrescentada sobre a amostra. As amostras no papel filtro foram analisadas sob luz UV para identificar o aparecimento ou não da cor amarela fluorescente, que indica se há a presença deste metabólito.

c) Antocianinas e antocianidinas, Chalconas, Auronas e Flavonoides (flavonas, flavonóis, xantonas, flavanonois):

Foi adicionado 1 mL de extrato em três tubos de ensaio. Em seguida, uma amostra foi acidificada a pH 3,0 com a adição de HCl 0,5% e as demais alcalinizadas a pH 8,5 e 11,0, por meio da adição de NaOH a 0,5 mol. L⁻¹. A detecção dos vários compostos baseou-se na mudança de coloração das soluções, como segue-se na tabela (1) abaixo:

Tabela 1- Guia para detecção de compostos fenólicos e subclasses de flavonoides através da mudança de coloração da solução na análise fitoquímica de extratos.

Constituintes Químicos	Cor em meio (pH)		
	ÁCIDO (3,0)	ALCALINO (8,5)	ALCALINO (11,0)
Antocianinas e antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	---	---	Amarela
Chalconas e Auronas	Vermelha	---	Vermelho-púrpura
Flavanonois	---	---	Vermelho-laranja

Fonte: Matos, 1988.

d) Flavonas:

Em uma placa de Elisa adicionou-se 150 µL da amostra de extrato e em seguida colocou-se uma fita de magnésio metálico juntamente com uma gota de HCl concentrado. Ao término da reação indicada pelo fim da efervescência, observar a coloração, onde a presença de um tom vermelho indica a presença de flavonas.

e) Alcaloides:

Em uma placa de Elisa adicionou-se 150 µL da amostra, seguido pela adição de 50 µL do reagente Dragendorff em cada poço contendo o extrato. Em um terceiro poço, foram colocados 150 µL do reagente Dragendorff para comparação. Se os extratos demonstrassem cor laranja e precipitado, indica a presença de alcaloides.

f) Triterpenoides e esteroides:

Em uma placa de Elisa, foram pipetadas 150 µL da amostra do extrato, em seguida foram acrescentadas uma gota de anidrido acético e duas gotas de ácido sulfúrico. A cor azul-esverdeada indicaria a presença de esteroides e a cor vermelha, presença de triterpenoides.

g) Saponinas:

Em um tubo de ensaio foi adicionado 1mL da amostra e 2 mL de água destilada. O tubo foi agitado durante 5 min, a presença de espuma indica a presença de saponinas.

h) Cumarinas:

A amostra de extrato foi gotejada em papel filtro e uma gota da solução de KOH 10% foi adicionada em sequência. A cor azul sob luz UV indica a presença de cumarinas.

i) Antraquinonas:

Adicionou-se 150 µL do extrato em poços da placa de Elisa e 50 µL de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5 mol. L⁻¹ foi posto em seguida. A presença da cor vermelha indica a presença destes metabólitos.

3.3 ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* NA PRESENÇA DO EASS

Durante a preparação do ensaio de germinação do alface, primeiramente foram realizadas todas as medidas de higienização e esterilização do material utilizado, os quais, água destilada armazenada em recipiente de vidro, placas de Petri, béqueres, pinças de metal e peneira que seguiram para autoclave a uma temperatura de 121 °C durante 20 minutos. Posteriormente, todos os materiais juntamente com os demais que também foram utilizados (pipetas Pasteur e hipoclorito de sódio a 2,5 %), foram organizados e administrados ao longo

da realização do experimento em cabine de fluxo laminar, onde passaram 15 minutos sob luz UV com o objetivo de reduzir os riscos de possíveis contaminações.

Para a realização do experimento utilizou-se de uma conduta de cinco tratamentos, e todos estes com quatro repetições. As concentrações foram determinadas através da diluição em diferentes proporções do EASS em água destilada. Desta forma, foram obtidas as seguintes concentrações: 25%, 50%, 75%, 100%, e o grupo controle (0% do EASS, água destilada). A seguir, o preparo das diluições das concentrações utilizadas:

[100%] = 16 mL de EASS

[75%] = 12 mL de EASS + 4 mL de água destilada

[50%] = 8 mL de EASS + 8 mL de água destilada

[25%] = 4 mL de EASS + 12 mL de água destilada

[0%] = 16 mL de água destilada

Em seguida, placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo duas camadas de papel filtro receberam 3 mL de cada uma das concentrações do extrato preparadas anteriormente para os respectivos tratamentos, e 3 mL de água destilada nas placas do grupo controle. Logo após, foi realizado o semeio das placas com as sementes de *Lactuca sativa* (cultivar Mônica, Feltrin®, Brasil), que passaram por um processo de esterilização em hipoclorito de sódio a 2,5 % durante 5 minutos.

Por fim, foi feito o isolamento das placas com plástico filme e colocadas aleatoriamente numa câmara de germinação com BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) durante um fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C, ao longo de 7 dias, onde eram consideradas germinadas as que apresentavam emergência de radícula ≥ 1 mm. Estas, foram diariamente monitoradas e descritas quanto ao número de sementes que apresentavam esse critério de germinação.

3.4 ÍNDICES DE DESENVOLVIMENTO E FITOTOXICIDADE

3.4.1 Número de sementes germinadas (NSG/Dia) e Índice de velocidade de germinação (IVG)

Para a avaliação da influência do EASS sobre a germinação, determinou-se a relação entre o número de sementes germinadas por dia (durante 7 dias) observado, para cada tratamento. A partir desses dados foi determinado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) para cada tratamento, com base na seguinte fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \Sigma ng/d$$

Em que, **ng** corresponde ao número de sementes germinadas e **d** o dia observado.

A ocorrência de germinação quando houve emergência da radícula, e seu comprimento era menor que 1 mm, foi embasado na capacidade do EASS de retardar ou inibir a germinação das plântulas de *L. sativa*.

3.4.2 Massa seca e massa fresca e teor relativo de água (TRA)

A massa fresca foi determinada a partir da pesagem das plântulas em balança analítica, que posteriormente foram separadas em pacotes e mantidas em temperatura ambiente. Em seguida, para a determinação da massa seca, efetuou-se uma nova pesagem após 3 dias, quando estas plântulas se encontravam completamente secas. Para a avaliação do teor relativo de água (%), foi utilizada a fórmula proposta por Gulzar e Siddiqui (2017):

$$TRA = (mf - ms) / mf \times 100$$

Em que, **mf** corresponde a massa fresca e **ms** a massa seca.

3.4.3 Índice de tolerância ao extrato (IT)

O índice de tolerância ao extrato aquoso de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby foi determinado através da utilização dos dados de comprimento radicular das plântulas de alface, pela seguinte fórmula de acordo com Cox e Hutchinson (1979):

$$IT = 1 + \log (C_E / C_O)$$

Onde C_E corresponde ao comprimento esperado do grupo controle e C_O ao comprimento observado do tratamento.

3.4.4 Comprimento total das plântulas de *L. sativa* e presença de necrose radicular

Ao fim do sétimo de experimento foram selecionadas aleatoriamente 06 plântulas das placas em cada tratamento para realização da morfometria linear, onde mensurou-se o comprimento da radícula e parte aérea com o auxílio do software Image - Pro Plus. Através da observação quanto a integridade das plântulas de alface avaliou-se qualitativamente a ocorrência de necrose parcial ou necrose total nas radículas das plântulas analisadas.

3.4.5 Vigor

O vigor das plântulas também foi determinado, de acordo com a fórmula proposta por Abdul-Baki e Anderson (1973):

$$\text{Vigor} = Ct \times ng$$

Onde, Ct corresponde ao comprimento total de plântulas e ng ao número de sementes germinadas.

3.5 TEOR DE CLOROFILAS E CAROTENOIDES

A parte aérea de todas as plântulas de cada tratamento foram separadas utilizando-se para isto, bisturi e pinça. Em seguida foram pesadas e condicionadas em tubos de ensaio, anteriormente identificados e protegidos com papel alumínio. Em seguida, foram acrescentados 2 mL de acetona 80% (VETEC, Brasil) em todos os tubos e armazenados no refrigerador durante sete dias para extração dos pigmentos fotossintéticos. Após o tempo de extração, frações do extrato obtido foram utilizadas para realizar a leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 646,8 e 663,2 nm. As concentrações de clorofilas e de carotenoides (em $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) foram, então, calculadas por meio das seguintes fórmulas propostas por Lichtenthaler et al. (1987):

$$\text{Clorofila } a = C_a = 12,25 A_{663,2} - 0,29 A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila } b = C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

$$\text{Clorofilas totais} = C(a+b) = 7,15 A_{663,2} + 18,71 A_{646,8}$$

$$\text{Carotenoides (xantofilas + carotenos)} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198$$

Os resultados foram expressos na quantidade em μg de clorofilas e carotenoides por grama de massa fresca analisadas em cada tratamento.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA de uma via ou duas vias (quando apropriado) seguidos do teste de Tukey e expressos em média $\pm$ desvio padrão, sendo considerada a diferença significativa quando $p < 0,05$. O GraphPad Prism 6 foi o software utilizado para a realização das análises.

4. RESULTADOS

4.1 PERFIL FITOQUÍMICO DO EASS

Na avaliação fitoquímica qualitativa, foi detectada a presença de flavonoides e compostos fenólicos, em que observou-se maior intensidade de flavonoides, como mostra a tabela 2 abaixo:

Tabela 2- Classes de metabólitos secundários detectados na análise fitoquímica qualitativa do extrato aquoso das folhas de *Senna siamea* (EASS).

CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	DETECÇÃO
Compostos fenólicos	+
Taninos condensados	-
Taninos hidrolisáveis	-
Flavonoides	++
Flavonóis e Xantonas	-
Flavonas	-
Flavanonois	-
Anocianinas e Antocianidinas	-
Clalconas e Auronas	-
Alcaloides	-
Triterpenoides e Esteróis	-
Saponinas	-
Antraquinonas	-
Cumarinas	-

Legenda: (-) não detectado; (+) presença moderada; (++) presença fortemente detectada

4.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

4.2.1 Potencial osmótico, pH e condutividade elétrica

A partir da avaliação dos dados, foi constatado que todos os tratamentos apresentaram diferença significativa quando comparados ao controle e entre si, onde o tratamento de maior concentração exibiu menor valor da média (-0,0005866 MPa). O pH das soluções utilizadas permaneceu acidificado numa faixa de 5,66 no grupo controle e, nas demais concentrações manteve-se em uma média de aproximadamente 4,42.

As análises dos dados de condutividade elétrica também demonstraram que todos os tratamentos apresentaram médias significativamente entre si (com $p < 0,0001$), diferindo também do controle e, apresentando um aumento da CE à medida em que se aumentou a concentração do extrato, apresentando maior valor na concentração de 100% (1631,67 dS/m).

Tabela 3- Valores expressos em média, seguidos de letras diferentes em cada coluna que representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey).

Tratamento EASS	Ψ_s (MPa)	CE (dS/m)	pH
0%	-0,000001 ^a	0,00004 ^a	5,663333 ^a
25%	-0,000075 ^b	0,00208 ^b	4,49 ^b
50%	-0,000240 ^c	0,00668 ^c	4,336667 ^{bc}
75%	-0,000470 ^d	0,01304 ^d	4,683333 ^c
100%	-0,000587 ^e	0,01632 ^e	4,186667 ^d

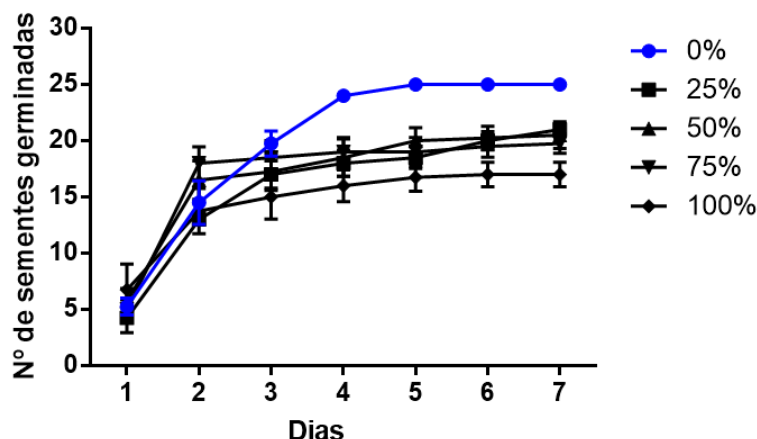
Valores expressos em média, seguidos de letras diferentes em cada coluna que representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey). Dados obtidos a partir de três leituras. Ψ_s : Potencial osmótico; CE: Condutividade elétrica.

4.3 ÍNDICES DE DESENVOLVIMENTO E FITOTOXICIDADE

Conforme as observações relacionadas ao número de sementes germinadas por dia, todos os tratamentos apresentaram a emergência de radícula após 24 horas do início do experimento. Entretanto, foi possível observar que ocorreu uma diminuição no número de sementes germinadas à medida que se aumentou a concentração do EASS, sendo constatado um retardo de 16%, 14%, 21% e 32% para os tratamentos 1, 2, 3 e 4 respectivamente, com médias diferindo significativamente ($p < 0,0001$) em relação ao grupo controle. Ainda

observou-se que os tratamentos nas concentrações de 50% e 100% também apresentaram diferença significativa entre si, destacando que a germinabilidade final das sementes foi afetada.

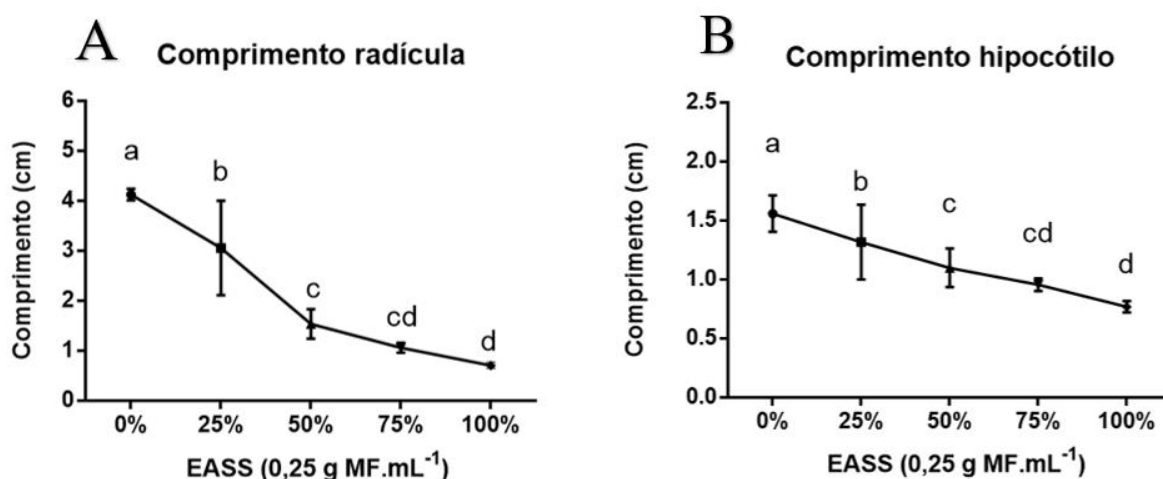
Figura 7- Comportamento na germinação de sementes de *Lactuca sativa* frente à diferentes concentrações do EASS durante sete dias, em comparação ao grupo controle.



Letras diferentes representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$.

No que concerne ao crescimento das plântulas de *Lactuca sativa*, foi observado que estas apresentaram desenvolvimento incomum em comparação ao comprimento total do grupo controle (Figura 8), nos quais evidenciou-se uma redução drástica e contínua das radículas (variando entre 5,53 e 0,31) em todos os tratamentos apresentando diferença significativa entre si, o que sugere um encurtamento das mesmas na proporção utilizada do extrato. Em conformidade, o hipocótilo das plântulas também apresentou alterações no que se refere ao comprimento na presença do EASS em relação ao controle, apresentando diferença significativa entre suas médias (variando entre 2,76 e 0,42 cm). Em razão disso, foi observada uma redução média de 94,39% no comprimento radicular, e 84,79% no comprimento do hipocótilo das plântulas de alface.

Figura 8- Média±EPM do comprimento da radícula (A) e do hipocótilo (B) de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas a diferentes concentrações do extrato aquoso de *Senna siamea* (Lam.) H. S. Irwin & Barneby.



Letras diferentes representam médias que diferem entre si significativamente para $P < 0,05$ (ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey).

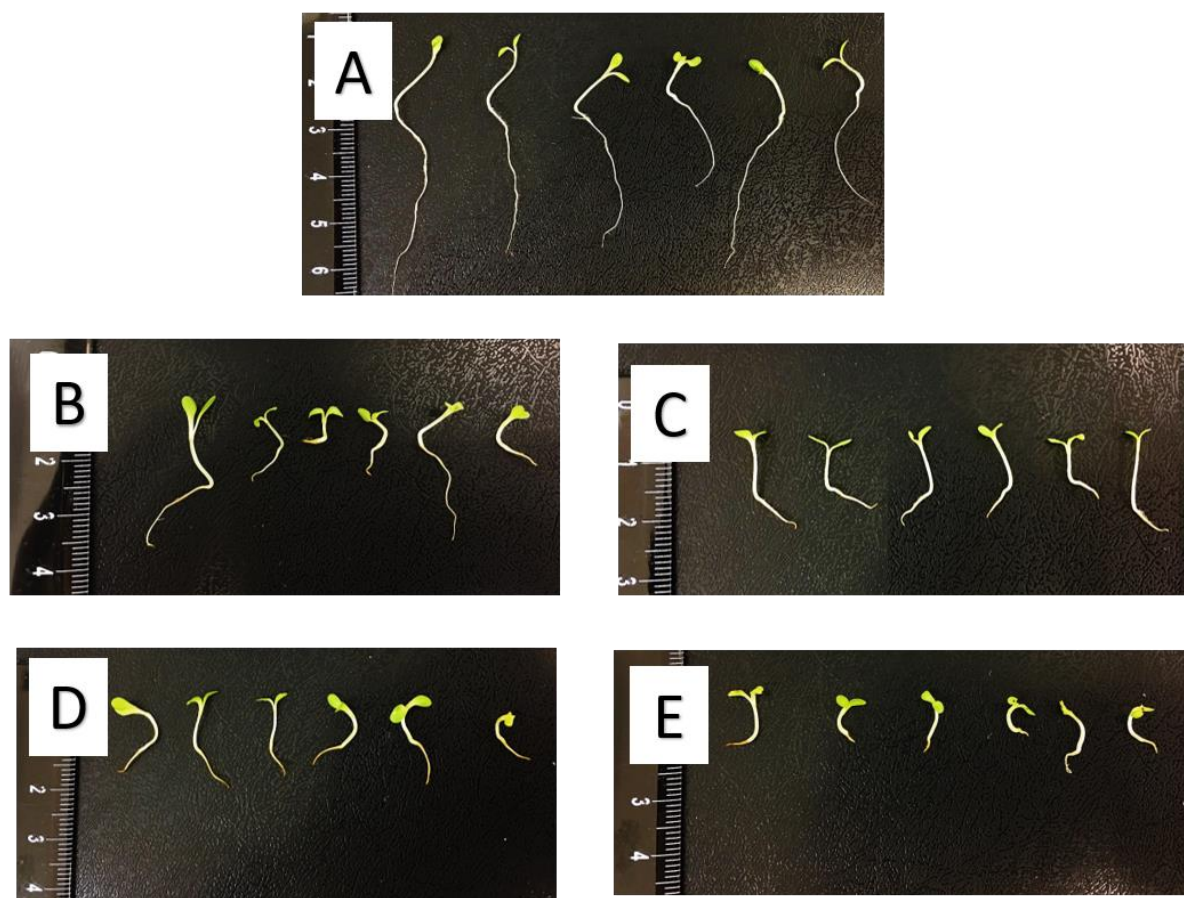
A velocidade de germinação (IVG) apresentou uma redução quando comparada com o controle de 6,39% (50% do EASS), 7,58% (75% do EASS) e 13,81% (100% EASS) à medida que a concentração do extrato aquoso de *Senna siamea* foi aumentada, indicando maior redução na concentração de 25%, onde atingiu 16,97%. O vigor das plântulas de alface apresentou diminuição significativa no tratamento de maior concentração (100%) em relação ao grupo controle. As observações obtidas dos dados do TRA, revelaram que houve uma pequena diferença entre o peso de massa seca e massa fresca das plântulas de *L. sativa*, onde foi verificado que apenas o controle e o tratamento 4 apresentaram diferença significativa entre si. Além disso, os resultados demonstraram que o índice de tolerância ao EASS apresentou um aumento gradual, tendo em vista as concentrações aplicadas do extrato, o que evidencia sua toxicidade nas plântulas (tabela 4).

Tabela 4- Parâmetros avaliados na germinação e desenvolvimento das sementes de *L. sativa* sob influência das diferentes concentrações do EASS

EASS	IVG	VIGOR	IT	TRA
0%	12,89± 0,684 ^a	1750±230,0 ^a	1,006±0,012 ^a	91,31±0,422 ^a
25%	10,7±0,648 ^a	1395±180,4 ^a	1,231±0,160 ^b	90,72±0,775 ^a
50%	12,06±1,102 ^a	1623±291,3 ^a	1,477±0,081 ^c	90,02±0,454 ^a
75%	11,91±0,696 ^a	2115±105,9 ^a	1,605±0,043 ^d	88,66±0,529 ^a
100%	11,11±1,779 ^a	988,5±176,7 ^b	1,793±0,043 ^e	88,21±0,836 ^b

M±EPM Valores seguidos de letras diferentes em cada coluna representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey). TRA- Teor Relativo de Água; IT- Índice de Tolerância; IVG- Índice de Velocidade de Germinação

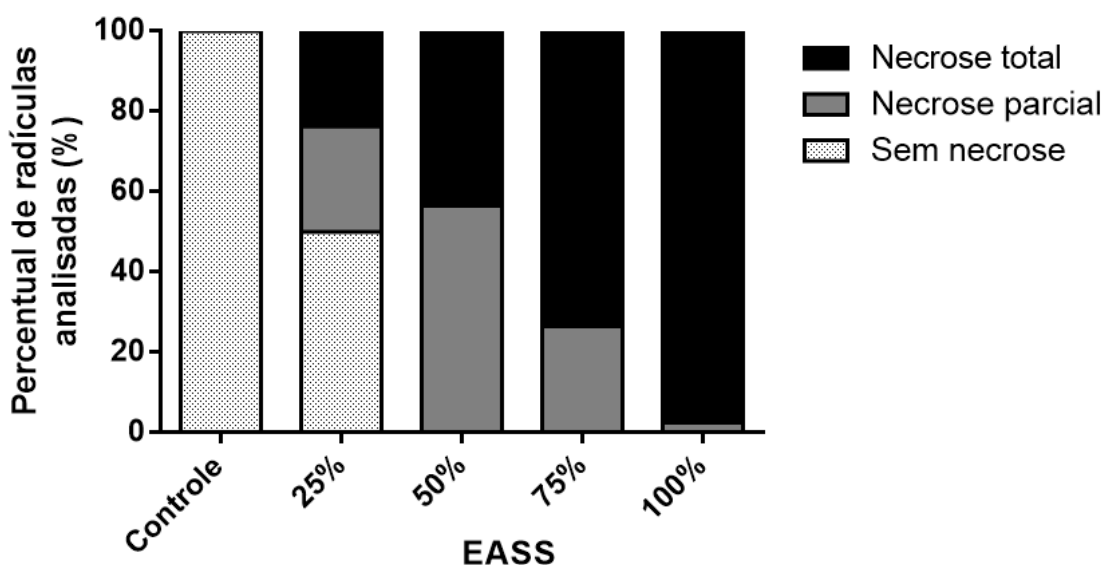
Figura 9- Plântulas de *L. sativa* ao fim do sétimo dia de germinação sob o efeito das diferentes concentrações do EASS, evidenciando sua influência no crescimento da radícula para os tratamentos de (B) 25%, (C) 50%, (D) 75% e (E) 100% em relação ao grupo controle (A) 0%.



(Fonte: Autoria própria, 2019)

Enquanto as avaliações da integridade morfológica secundária das plântulas de *L. sativa*, foram verificadas a existência de pontuações escurecidas em pontos específicos das radículas, sugerindo a ocorrência de necrose parcial e total em todos os tratamentos com exceção do controle, onde foi evidenciado que a concentração de 100% destacou-se como a mais afetada.

Figura 10- Representação gráfica do percentual de radículas analisadas com presença de necrose parcial e total nas plântulas de *Lactuca sativa*, evidenciando o percentual de radículas analisadas com ausência de necrose



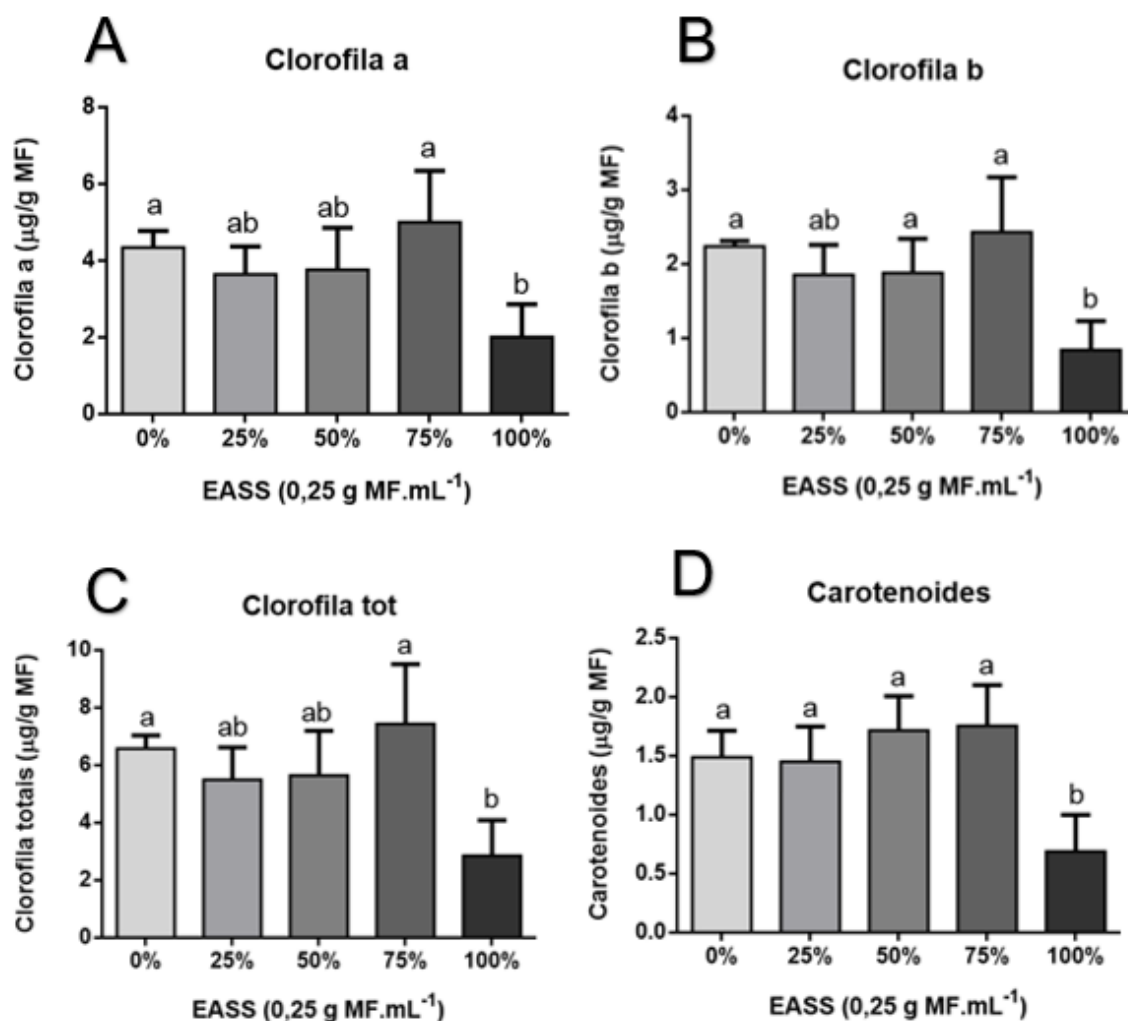
É possível observar que apenas o grupo controle apresentou um percentual de 100% de radículas sem necrose (figura 12), e o tratamento de maior concentração um percentual de 98% de necrose total nas radículas das plântulas. Já o tratamento de 25% do EASS caracterizou-se pela ocorrência de cerca de 50% do total de radículas sem necrose e 25% de plântulas com necrose parcial e 25% indicando necrose total. Nota-se também que, na concentração de 50% do EASS, a necrose parcial foi constatada em 56%, e todo o restante necrose total. Por fim, na concentração de 75% do EASS, 25% das plântulas apresentaram necrose parcial, enquanto 75% delas caracterizou-se pela presença de necrose total.

Por conseguinte, os dados obtidos revelam que o aparecimento da necrose radicular pode ser explicada em conformidade da presença e concentração do EASS presente no meio e em decorrência de sua elevada fitotoxicidade.

4.4 TEOR DE CLOROFILAS E CAROTENOIDES

Para o conteúdo de clorofila *a*, verificou-se uma redução significativa (com $p < 0,05$) de 53,71% e para clorofila *b* 62,46% entre o controle e a concentração máxima do EASS. O mesmo fato também ocorreu entre o teor de clorofilas totais e carotenoides, apresentando redução média de 56,68% e 53,73% respectivamente.

Figura 11- Conteúdo de clorofilas e carotenoides nas diferentes concentrações do estrato aquoso de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby.



Valores expressos por média $\pm$ erro padrão da média. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

5 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o EASS apresentou potencial alelopático inibitório, reduzindo de maneira significativa o comprimento das radículas das plântulas de alface conforme o aumento das concentrações do extrato. A atividade tóxica pode estar relacionada à presença de flavonoides e compostos fenólicos, que, de acordo com Abrahim et al (2000) e Pires et al (2001), compostos dessas classes de metabólitos secundários podem atuar como aleloquímicos, afetando negativamente os processos vitais da planta. Estes, podem ocasionar ainda danos visíveis como o encurtamento das radículas e necrose, além de modificar toda sua estrutura, tornando-a frágil e susceptível a outros tipos de transformações (FERREIRA; ÁQUILA, 2000; MARASCHIN-SILVA & ÁQUILA, 2006).

Sendo considerada uma etapa crucial para o desenvolvimento apropriado dos processos bioquímicos, a germinação afetada pela presença dos metabólitos pode acarretar a ocorrência de retardo ou inibição do seguimento normal deste processo, devido aos efeitos provocados por estes estressores (HASSAN et al., 2012). Estudos realizados por Weir, Park e Vivanco (2004) comprovam que um dos mecanismos que promovem a inibição das sementes é a respiração mitocondrial. Durante a etapa que antecede esse processo, a glicólise, a molécula de glicose passa por diversas etapas até se transformar em piruvato seguindo para o Ciclo do Ácido Cítrico, no qual verifica-se a formação de CO_2 e NADH. Através da utilização deste NADH realiza-se a fosforilação oxidativa e o transporte de elétrons para a produção de ATP. Assim, conforme ocorre o desenvolvimento das sementes, acontece um rápido aumento da atividade glicolítica e consequentemente também da taxa respiratória. Relativamente, Ranal e Santana (2006), sugerem que parâmetros como o vigor e a velocidade de germinação estão diretamente relacionados a plântula no que se refere ao seu desenvolvimento positivo, ou seja, caso ocorra diminuição de um desses dois índices, pode haver mudanças drásticas na estabilidade da germinação, resultando em danos contínuos da produtividade das sementes. O que evidencia os resultados observados no presente trabalho, onde o vigor das plântulas de alface foi drasticamente afetado pelo aumento nas concentrações do EASS, associado também a redução de sua velocidade de germinação normal.

Os compostos secundários (aleloquímicos) são consideravelmente associados a atividades alelopáticas, devido as características químicas que conferem a planta. Existem diversos grupos desses metabólitos, contudo, os compostos fenólicos e flavonoides, cujos compostos tiveram presença detectada neste estudo, e taninos se sobressaem em relação aos

demaís, pois possuem mecanismos capazes de induzir a fitotoxicidade na planta, o que estimula o acontecimento de eventos de desordem no funcionamento natural da membrana celular. Ao mesmo tempo, são responsáveis por provocar um fluxo irregular de íons e outras substâncias para dentro da célula, podendo ainda induzir o desempenho adverso e negativo do potencial osmótico e metabolismo energético da planta (EINHELLIG, 2000; VOKOU et al., 2003). Embora não tenham sido detectadas no ensaio fitoquímico do presente estudo, possivelmente devido ao solvente utilizado não conseguir extrair de modo mais eficiente alguns compostos químicos, as saponinas e cumarinas também são apontadas por atuarem modificando de maneira negativa o metabolismo e promovendo perturbações nas células vegetais (WEIR; PARK; VIVANCO, 2004). Além disso, o comprimento das radículas sofreu fortes efeitos inibitórios que podem ter sido ocasionados pelas interferências dos metabólitos presentes no extrato aquoso de *Senna siamea*, pode ser explicado segundo Peres et al., (2006) como um fator ecológico relevante, responsável por provocar uma diminuição da pressão de competição no ambiente, já que com o encurtamento das radículas, a área de absorção de água e nutrientes torna-se menor. Este fato claramente beneficia organismos vegetais vizinhos, que com um baixo índice de competição consegue se estabelecer naquele local e desenvolver dominância. Apesar destas considerações, é necessário destacar que a influência e mecanismo de ação desses aleloquímicos é excepcionalmente complexa, já que estas moléculas podem agir diferentemente através de diversas maneiras no organismo da planta (FERGUSON et al., 2013).

Como foi observado, a riqueza de clorofila *a*, *b* e totais, apresentam uma diminuição nos tratamentos de maior concentração do EASS, indicando desse modo a manifestação de clorose nas plântulas de *Lactuca sativa*, tal fato pode ser considerado uma resposta natural das plantas quando expostas à presença de aleloquímicos, já que estas moléculas são capazes de modificar o metabolismo e respiração dos organismos vegetais. Os danos provocados pela interferência desses compostos, afetam a biossíntese de clorofila, por conseguinte prejudicando também o seu acúmulo na planta. Essas implicações estão intimamente ligadas a processos que têm capacidade de retardar o processo de fotossíntese e comprometer o crescimento da planta, o que explica a diminuição significativa no teor de clorofilas nas plântulas de alface, após o contato com o EASS (TANVEER et al., 2008; BENYAS et al., 2010).

Nos estudos de Kwada e Tella (2009) com o extrato aquoso de *Senna siamea* foram detectados fenóis, saponinas, flavonoides e alcaloides em grandes concentrações a partir do pó de suas folhas, o que pode ter influenciado na determinação desses compostos. Nos ensaios realizados neste trabalho, foi possível detectar uma forte presença de flavonoides e um moderado aparecimento de compostos fenólicos, mas apesar do fato de algumas classes de

metabólitos secundários não serem detectadas em todas as análises e testes fitoquímicos, não significa que estes não estão presentes na composição dos extratos vegetais. Supõe-se que devido a existência desses compostos em baixas concentrações a dificuldade de detecção dos mesmos é maior (RODRIGUES et al., 2009).

As técnicas empregadas no combate às ervas daninhas e controle de doenças provocadas por muitos insetos em diversas culturas, através da utilização de maneira inadequada de produtos agroindustriais que afetam a capacidade de regeneração do solo vem ocasionando sérios danos à saúde humana. A perda da biodiversidade, fragilidade do solo, adoecimento de animais e plantas, resistência de insetos e espécies vegetais consideradas danosas as plantações, além da intoxicação e enfermidades provocadas à curto ou longo prazo ao homem são alguns dos fatores acarretados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos produzidos pela indústria (SANTOS et al., 2013). Diante das informações obtidas neste estudo e com embasamento em trabalhos anteriores abrangendo outras espécies vegetais, denota-se que a utilização de extratos como reservatórios de grandes quantidades de moléculas bioativas, são aptos a atuar de maneiras diferentes no crescimento e desenvolvimento de outras plantas (DUKE et al., 2002). A utilização de extratos vegetais como uso menos agressivo ao ambiente apresenta vantagens sobre o uso de produtos sintéticos, uma vez que possuem mecanismos de ação diferentes e terem sua fabricação a partir de fontes renováveis na natureza. Dessa forma, as aplicações das propriedades químicas desses compostos são relevantes para o desenvolvimento de novas pesquisas que propõem a elaboração de possíveis herbicidas e fungicidas naturais, tendo em vista principalmente o controle de ervas daninhas. Além disso, a aplicação de bioherbicidas acarretaria na redução do uso de químicos laboratoriais empregados na agricultura, prevenindo a ação de efeitos danosos dessas substâncias ao ambiente e ao ser humano (YOUNG, 2004).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, considera-se que o extrato aquoso de *Senna siamea* apresenta atividade alelopática sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa*, sendo responsável por provocar interferências em diversos fatores vitais e propriedades diretamente ligadas ao metabolismo da planta, como sua velocidade de germinação, índice de tolerância radicular, vigor, comprimento da radícula e hipocótilo, bem como o teor de clorofilas *a*, *b*, totais e carotenoides, condutividade elétrica e potencial osmótico.

Assim, pode-se depreender que as classes de metabólitos secundários encontrados durante a fitoquímica (flavonoides e compostos fenólicos) estão associados a estes efeitos, pois que são citados na literatura como possíveis moléculas fitotóxicas.

Apesar das observações alcançadas por meio deste estudo – sobre os efeitos alelopáticos negativos da *S. siamea* (cássia-de-sião) sobre o alface, apresentando importância no entendimento desses efeitos para o manejo adequado de espécies introduzidas e suas interações, consistindo em uma possível fonte para o desenvolvimento de herbicidas naturais que causem danos mais amenos ao solo –, torna-se de fundamental relevância a realização de pesquisas mais aprofundadas dos mecanismos moleculares das substâncias inibitórias e da própria espécie para desenvolvimento de mais explicações.

REFERÊNCIAS

ABRAHIM, D. et al. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 3, p. 611–624, 2000.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; GARRUTI, D. S.; LIMA, L.; FREIRE, S.; ABREU, F. A. P.; FEITOSA, T. Avaliação de metodologias para determinação de taninos no suco de caju. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 167-176, 1999.

ALMEIDA, F. S. **Alelopatia e as plantas**. Londrina: IAPAR, p. 60, 1988.

ALTIERI, A.M., LIEBMAN., Weed management in agroecosystems: ecological approaches. Boca Raton, EUA: **CRC Press**, p. 354, 1988.

AMOO, S.O.; OJO, A.U.; VAN STADEN, J. Allelopathic potential of Tetrapleura tetraptera leaf extracts on early seedling growth of five agricultural crops. **South African Journal of Botany**, v. 74, n. 1, p. 149–152, 2008.

ANISZEWSKI, T. Alkaloids - Secrets of Life: Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. 1. ed. Hardbound, Finland: **Elsevier**, p. 61, 2007.

BEDIN C.; GUTCKOSKI S. B.; WIEST J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**, v.13, n.65, p. 26- 29, 1999.

BENYAS, E. et al. Allelopathic effects of Xanthium strumarium L. shoot aqueous extract on germination, seedling growth and chlorophyll content of lentil (*Lens culinaris* Medic.). **Romanian Biotechnological Letters**, v. 15, n. 3, p. 5223-5228, 2010.

BHAGWAT, S., HAYTOWITZ, D.B., HOLDEN, J.M. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods. U.S. Department of Agriculture: Agricultural Research Center, p. 10-12, 2011.

BURKILL, H.M., The useful plants of West Tropical Africa. Royal Botanic Gardens. Ed. 2. Volume 1. **Economic Botany**. p. 267-483, 1995.

CHON, S. U.; NELSON, C. J. Allelopathy in Compositae plants: A review. **Agronomy Sustainable and Development**, Madison, v. 30, n. 2, p. 349-358, 2009.

COX, R. M.; HUTCHINSON, T. C. Metal co-tolerances in the grass *Deschampsia cespitosa*. **Nature**, v. 279, n. 5710, p. 231, 1979.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists. 2000.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 2 ed, editora West Sussex: John Wiley & Sons. p. 517, 2009.

- DI CARLO, G., MASCOLO, N., IZZO, A. A., CAPASSO, F. (1999). Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Science*, Tucson, 65(4), pp. 337-353.
- DUKE, S.O., DAYAN, F.E., RIMANDO, A.M., SCHRADER, K.K., ALIOTTA, Q., OLIVA, A., ROMAGNI, J.G. Chemicals from nature for weed management. **Weed Science Society of America**. 50, 138–151., 2002.
- DUTRA, A. S. ET. AL. **Germinação de sementes de Senna siamea (Lam) H. S. Irwin e Barneby. Caesalpinoideae**. In: Revista Brasileira de Sementes, vol. 29, nº 1, 2007.
- EINHELLIG, F. A. The physiology of allelochemical action: clues and views. In MJ Reigosa, NP Bonjoch, eds, First European OECD Allelopathy Symposium: **Physiological Aspects of Allelopathy**. Vigo, Spain, pp 3–25, 2001.
- FERGUSON, J.; RATHINASABAPATHI, BALA; CHASE, A. Allelopathy: How plants suppress other plants. **University of Florida**, p. 1–3, 2003.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia uma área emergente da Ecofisiologia **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. 12. ed. p.175-209, 2000.
- 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.
- GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnol. Ci. Agropec.**, v. 3, n. 1, p. 23-28, 2009.
- GUREVITCH, J.; SCHEINER, S. M.; FOX, G. A. Ecologia vegetal. Porto Alegre: **Artmed**. 2 ed. p. 574, 2009.
- GUTTERIDGE, R.C., MULLEN, B.F., BRAY, R.A. Leucaena- Adaptation, Quality and Farming Systems. ACIAR Proceedings No. 86, Canberra, Australia, p. 215-227, 1997.
- HASSAN, M. M.; DAFFALLA, H. M.; YAGOUB, S. O.; OSMAN, M. G.; GANI, M. 412 E. A.; BABIKER, A. E. G. E. Allelopathic effects of some botanical extracts on 413 germination and seedling growth of *Sorghum bicolor* L. **Journal of Agricultural 414 Technology** 8(4): 1423-1469, 2012.
- HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES et al. (organiz.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2001. p. 651-666.
- HERAS, B.; RODRÍGUEZ, B.; BOSCA, L.; VILLAR, A. M. Terpenoids: Sources, Structure Elucidation and Therapeutic Potential in Inflammation. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 3, n.2, 171–185, 2005.
- INDERJIT, WESTON L.A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses. **Journal of Chemical Ecology** n.26, p. 2111-2118, 2000.
- INDERJIT; DUKE, S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, n. 4, p. 529–39, 2003.

JENSEN, M. Trees Commonly Cultivated in Southeast Asia - an illustrated field guide. Bangkok, Thailand: FAO, 1995. p. 93.

KALLSCHEUER, N. et al. Production of plant metabolites with applications in the food industry using engineered microorganisms. **Current opinion in biotechnology**, v. 56, 420 p. 7-17, 2019.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.49, p.1-16, 2001 KUKULA-KOCH, W. A.; WIDELSKI, J. Alkaloids. In: BADAL, S.; DEGODA, R. **Farmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy**. 1. ed. United States. cap. 9, 163-198, 2017.
knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, v.66, n.4, p.1085-1113. 2015.

KRUSE, M; STRANDBERG, M;STRANDBERG, B. **Ecological Effects of Allelopathic Plants – a Review**. 2000. p.1-66.

KUKULA-KOCH, W. A.; WIDELSKI, J. Alkaloids. In: BADAL, S.; DEGODA, R. **Farmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy**. 1. ed. United States. cap. 9, 163-198, 2017.

KUTCHAN T. M.; GERSHENZON J.; MOLLER, B. L.; GANG, D.R. **Naturals Products**. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W., & JONES, R. L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. 2. ed. New York: Wiley. cap. 24, p. 1332, 2010.

KWADA, A.D., TELLA, I.O. Determination of infochemicals and the phytochemical screening of the foliage and stem bark of *Senna siamea* (lam) in Yola, Adamawa State. *J. Med. Plants Res.* p. 630- 634, 2009.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2. ed. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**. v. 2, p.368, 2002.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

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

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potential allelopathic of native species on germination and early growth of *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 61–69, 2006.

MATOS, F.J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2. ed. Fortaleza: **Edições UFC**, p. 128, 1988.

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

- MULLER, C.H., Allelopathy as a fator in ecological process. **Vegetatio**, 18: 348-357, 1969
- NETO, P. A. S. P., & CAETANO, L. C. Plantas medicinais: do popular ao científico. Maceió: EDUFAL. p.90, 2005.
- NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A.; Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo. v. 26, n.3, p. 331-334, 2003.
- NOVAES, P.; IMATOMI, M.; MIRANDA, M. A. F. M.; GULATIERI, S. C. J. Phytotoxicity of leaf aqueous extract of *Rapanea umbellata* (Mart.) Mez (Primulaceae) on weeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 231–239, 2013.
- PAVARINI, D. P.; LOPES, N. P. A Ecologia Química e a Biossíntese dos Terpenos Voláteis das A Ecologia Química e a Biossíntese dos Terpenos Voláteis das “ Arnicas -daSerra ” (*Lychnophora* spp) e sua quimiodiversidade na Flora Brasileira. **Revista virtual de química**, v. 8, n. 1, p. 242–261, 2016.
- PEREIRA, D. M., VALENTÃO, P., PEREIRA, J. A., & ANDRADE, P. B. Phenolics: From chemistry to biology. **Molecules**. v.14, N.6, p. 2202–2211, 2009.
- PERES, M. T. L. P., SILVA, L. B. S., FACCENDA, O., HESS, S. C. 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (*Asteraceae*). *Acta Botanica Brasilica*, 20: 61-69.
- PIRES, N. M.; PRATES, H. T.; PEREIRA FILHO, I. A.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.;
- PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J. (Coord.). Plantas Daninhas e seu manejo, Guaíba: **Agropecuária**. p.362, 2001.
- PUTNAM, A.R, Weed Allelopathy. In Duke, S.O., (Ed.). *Weed Physiology*. Boca Raton, EUA: CRC Press, 1987. P. 131 – 155.
- RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process. **Journal of Brazilian Botanic**, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.
- REJMANEK, M.; PYSEK, P.; PRACK, K.; "What makes a species invasive?" *Plant Invasions*. **SPB Academic Publ.**, Amsterdam. p. 3–13, 1995.
- RICE E.L. Allelopathy., Academic Press, New York, 2 ed. p. 422, 1984.
- RODRIGUES DA SILVA, Laís et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.
- RODRIGUES, I. M. C.; SOUZA FILHO, A. P. S.; FERREIRA, A. F. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. **Planta daninha**, v 7, n. 3, p. 507-513, 2009.
- RODRIGUES, R. S.; FLORES, A. S.; MIOTTO, T. S.; BAPTISTA, L. R. M. O gênero *Senna* (*Leguminosae*, *Caesalpinioidae*) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, p. 3-15, 2004.

SANTOS, Paula Leite dos et al. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. *Enciclopédia Biosfera*, v. 9, n. 17, p. 2562-2576, 2013.

SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS, 2007.

SOUZA FILHO APS, Trezzi MM, Inoue MH. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**, v.29, n.3, p.709-716, 2011.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: **Artmed**, cap. 13, p.310, 2009.

TANVEER, A., REHMAN, A., JAVAID, M.M., ABBAS, R.N., SIBTAIN, M., AHMAD, A.U., IBIN-I-ZAMIR, M.S., CHAUDHARY, K.M., AZIZ, A., 2010. Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**. p. 75-81, 2010.

TEERARAK, M.; LAOSINWATTANA, C.; CHAROENYING, P. Evaluation of allelopathic, decomposition and cytogenetic activities of *Jasminum officinale* L. f. var. *grandiflorum* (L.) Kob. on bioassay plants. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5677–5684, 2010.

TIGRE, R.C.; SILVA, N.H.; SANTOS, M.G.; HONDA, N.K.; FALCAO, E.P.S.; PEREIRA, E.C. Allelopathic and bioherbicidal potential of *Cladonia verticillaris* on the germination and growth of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental safety**. n. 461 84. p. 125-132, 2012.

TIWARI, P., KUMAR, B., MANDEEP, K., KAUR, G., & KAUR, H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v. 1, n. 1, p. 98–106, 2011.

TRUGILHO, P.F., MORI, F.A., LIMA, J.T., CARDOSO, D.P. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE TANINOS NA CASCA DE *Eucalyptus* spp. **Nota Técnica / Technical Note**, Cerne, Lavras, v. 9, n. 2. p. 246-254, jul./dez. 2003

VOKOU, D.; DOUVLI, P.; BLIONIS, G. J.; HALLEY, J. M. Effects of Monoterpenoids, Acting Alone or in Pairs, on Seed Germination and Subsequent Seedling Growth. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 10, p. 239–248, 2003.

VYVYAN, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. v. 58, n. 599, p. 1631–1646, 2002.

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

WESTON, L. A.; DUKE, S. O. Weed and crop allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 3–4, p. 367–389, 2003.

WHITTAKER, R.H., & FENNY, P.P., Allelochemicals: chemical interactions among plants, **Science**, 171:757-770, 1971.

YOUNG, S. L. Natural Product Herbicides for Control of Annual Vegetation Along Roadsides. **Weed Technology**, v. 18, p. 580–587, 2004.

YU, J.Q., & MATSUI, Y., Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedlings. **J. Chem Ecol**, p. 817-827, 1997.