

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JOÃO VITOR CALVELLI BARBOSA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E DA CITOGENOTOXICIDADE
DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS DE *Duranta erecta* L.
(VERBENACEAE) EM BIOENSAIOS VEGETAIS.**

**ALFENAS/MG
2019**

JOÃO VITOR CALVELLI BARBOSA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E DA CITOGENOTOXICIDADE
DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE FOLHAS DE *Duranta erecta* L.
(VERBENACEAE) EM BIOENSAIOS VEGETAIS.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG. Área de concentração: Tecnologias Ambientais Aplicadas.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Barbosa.

Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva

Colaboradores:

Vítor Mezzalira Betelli (Biotecnologista);

Dr. Renan de Oliveira Gomes;

Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva;

Prof. Dr. Wagner Vilegas – UNESP

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Barbosa, João Vitor Calvelli

B238c Caracterização fitoquímica e da citogenotoxicidade de extratos e frações de
folhas de *Duranta erecta* L. (VERBENACEAE) em bioensaios vegetais. / João
Vitor Calvelli Barbosa. – Alfenas, MG, 2020.
115 f.: il. –

Orientador: Sandro Barbosa.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de
Alfenas, 2019.

Bibliografia.

1. Alelopatia. 2. Fisiologia - Alelopatia. 3. Bioensaio. 4. Efeito alelopático.
5. Bioprospecção. I. Barbosa, Sandro. II. Título.

CDD- 581



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG
Programa de Pós-graduação – Ciências Ambientais
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714, Alfenas - MG CEP 37130-001
Fone: (35) 3697-4729 (Coordenação) / (35)3701-9268 (Secretaria)
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/>



JOÃO VITOR CALVELLI BARBOSA

**“Caracterização fitoquímica e da citogenotoxicidade de extratos e frações de
folhas de *Duranta erecta* L. (Verbenaceae) em bioensaios vegetais.”**

A Banca julgadora abaixo-assinada, aprova a
Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Ciências Ambientais pela Universidade
Federal de Alfenas.
Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 25 de julho de 2019

Prof. Dr. Sandro Barbosa
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:  _____

Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:  _____

Dr. Luiz Carlos de Almeida Rodrigues
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:  _____

a Deus e a minha família.

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

RESUMO GERAL

Duranta erecta L. popularmente conhecida como Pingo-de-ouro, é cultivada em regiões tropicais e subtropicais. Possui porte arbustivo com características lenhosas, atingindo até 4 m de altura. Amplamente utilizada na implementação de projetos paisagísticos, urbanos e residenciais, devido a sua resistência, rusticidade e excelente resposta a frequentes práticas de poda de seus ramos, onde, devido ao estresse mecânico, a planta forma uma cobertura forte e compacta. É conhecidamente rica em flavonóides, saponinas, taninos, alcaloides e outras substâncias minoritárias, com potencial farmacológico e alelopático. Esse termo caracteriza-se pela interação das plantas, microflora e/ou macrofauna associadas pela ação de metabólitos secundários vegetais e microbianos, que podem afetar, estimulando ou inibindo, os ecossistemas terrestres e aquáticos. Tais efeitos podem ser testados por meio de bioensaios utilizando diversos parâmetros fisiológicos, morfológicos e citológicos. *Lactuca sativa* L. é amplamente utilizada como bioteste, apresentando características favoráveis na avaliação de substâncias. Esta dissertação é apresentada em forma de capítulos, onde o capítulo 1 apresenta uma breve revisão sobre a caracterização botânica de *Duranta erecta* L., os metabólitos secundários de *D. erecta*, a alelopatia como interação planta/planta, os mecanismos de ação e função das substâncias alelopáticas, a utilização de aleloquímicos como bioherbicidas e os bioensaios vegetais. O capítulo 2 apresenta-se em forma de artigos, formatados de acordo com a normativa de cada revista, sendo composto de artigo I, II e III. No artigo I objetivou-se estudar a influência da prática da poda sobre o efeito fitotóxico de extratos aquosos e hidroetanólico de folhas *D. erecta* sobre bioensaio de *L. sativa*. Sendo demonstrado que a citotoxicidade e fitotoxicidade foram ampliadas em plantas que sofreram o estresse da poda. O artigo II apresenta o efeito da ação fitotóxica de extrato foliar hidroetanólico de *D. erecta* sobre parâmetros fisiológicos e morfológicos de plantas de *Solanum melongena* L. onde se verificou a redução acentuada na fotossíntese líquida, na condutância estomática, na transpiração, no teor relativo de clorofila, no comprimento de raiz e na massa seca. No artigo III foi realizado o fracionamento em solventes de diferentes polaridades a partir de extrato hidroetanólico de folhas de *D. erecta*, avaliando a ação fitotóxica e citotóxica em *L. sativa*. Investigou-se também os produtos do metabolismo secundário presentes nas frações e sua possível relação com as atividades observadas.

Palavras chave: Alelopatia. Fisiologia alelopática. Bioensaio. Efeito alelopático. Bioprospecção

ABSTRACT

Duranta erecta L. popularly known as Goldfinch, grown in tropical and subtropical regions. It has bushy features with woody characteristics, reaching up to 4 m in height. Widely used in the implementation of landscape, urban and residential projects, due to its rusticity and excellent response to the four practical sessions of its branches, where, unlike the strategist, a platform forms a strong and compact coverage. It is known rich in flavonoids, saponins, tannins, alkaloids and other minor substances with pharmacological and allelopathic potential. This term is characterized by the interaction of plants, microflora and / or macrofauna, by the action of secondary plant and microbial metabolites, which can affect, stimulate or inhibit terrestrial and aquatic ecosystems. Such effects can be tested by various physiological, morphological and cytological bioassays. *Lactuca sativa* L. is widely used as fuel, presenting the favorable characteristics in the evaluation of substances. This dissertation is associated with the chapters, which the Chapter 1 presents with summary analysis in the development of botan of *D. erecta* L., the secondary metabolism of *D. erecta*, allelopathy as interaction plant / plant allelopathic substances, the use of allelochemicals as bioherbicides and plant bioassays. Chapter 2 is presented as an article form, formatted according to the regulations of each journal, being composed of articles I, II and III. In the article I aimed to study the pruning practice on the phytotoxic effect of aqueous and hydroethanolic extracts of *D. erecta* leaves on the bioassay of *L. sativa*. Therefore, cytotoxicity and phytotoxicity were amplified in plants that underwent pruning stress. Article II presents the effect of the phytotoxic action of *D. erecta* hydroethanolic extract on the physiological and morphological parameters of *Solanum melongena* L. plants, where there was a marked reduction in liquid photosynthesis, stomatal conductance and transpiration, with no relative content of chlorophyll, root length and dry mass. In the article III the fractionation in solvents of different polarities from the hydroethanolic extract of leaves of *D. erecta* was evaluated, evaluating the phytotoxic and cytotoxic action in *L. sativa*. The secondary metabolism products present in the fractions and their relation to the observed activities were also investigated.

Keywords: Allelopathy. Allelopathic physiology. Bioassay. Allelopathic effect. Bioprospecting

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	DESENVOLVIMENTO	10
2.1	CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICOS DE <i>Duranta erecta</i> L.....	10
2.2	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE <i>Duranta</i> sp.....	11
2.3	ALELOPATIA: INTERAÇÃO PLANTA/PLANTA.....	16
2.4	MECANISMO DE AÇÃO E FUNÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ALELOPÁTICAS.....	17
2.5	UTILIZAÇÃO DE ALELOQUÍMICOS COMO BIOHERBICIDAS	19
2.6	BIOENSAIOS VEGETAIS	19
3	JUSTIFICATIVA	22
4	OBJETIVOS	23
4.1	Objetivos gerais	23
4.2	Objetivos específicos	23
	REFERÊNCIAS	24
	SEGUNDA PARTE	31
	ARTIGO I: Fitotoxicidade e citotoxicidade foliar de <i>Duranta erecta</i> sob estresse de poda em bioensaio com <i>Lactuca sativa</i>	32
	ARTIGO II: Alterações fisiológicas de liofilizado hidroetanólico de pingo de ouro (<i>Duranta erecta</i> L.) sobre Berinjela (<i>Solanum melongena</i> L.).	56
	ARTIGO III: Bioprospecção e citotoxicidade de partições de (<i>Duranta erecta</i> L.)	75

1 INTRODUÇÃO

O termo alelopatia ganhou nos últimos anos uma denominação mais ampla e completa de sua interferência ambiental. A princípio era descrita como “o efeito prejudicial de uma planta sobre outra” (RICE, 1984), passando a ser denominada pela Sociedade Internacional de Alelopatia como o impacto das plantas sobre as plantas vizinhas e/ou a sua microbiota associada e/ou macrofauna, pela produção de aleloquímicos que muitas vezes interferem inibindo o crescimento das plantas, mas eles também podem estimular o mesmo. O campo da alelopatia aborda pesquisas sobre os aleloquímicos que regulam essas interações, bem como os organismos (incluindo micróbios e plantas) que produzem esses compostos, ou aqueles que direta ou indiretamente são afetados por essas associações. Portanto, o campo tem ampliado ao longo dos anos e agora aborda a investigação tanto em ecossistemas terrestres (natural e agrícola) e aquáticos (fluviais e marítimas). Além disso, são abordadas pesquisas envolvendo impactos do meio ambiente e da genética na produção de aleloquímicos e o estudo de metabólitos produzidos por meio da biossíntese secundária dos vegetais e microorganismos (IAS, 2019).

Os aleloquímicos apresentam grande potencial para a utilização direta como bioherbicidas, no manejo integrado de plantas daninhas e na síntese de novos modelos estruturais de herbicidas (HERNÁNDEZ-TERRONES *et al.*, 2007). Esses compostos naturais podem ser empregados para diminuir o impacto ambiental causado por herbicidas convencionais (XUAN *et al.*, 2005). Algumas classes de metabólitos secundários estão conhecidamente envolvidos em eventos alelopáticos, estando em destaque os ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides, taninos e alcalóides, (RICE, 1984; SOARES; RODRIGUES; LOPES, 2001; BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011).

Duranta erecta L., (Pingo-de-Ouro), apresenta na constituição de suas folhas flavonóides, saponinas, taninos e alcalóides entre outras substâncias minoritárias (OGBUAGU *et al.*, 2015; PURI, 2018), que conhecidamente podem ser fonte de aleloquímico de valor comercial. A bioprospecção desses compostos pode ser realizada por meio de bioensaios vegetais, que consistem na avaliação e monitoramento da germinação, crescimento inicial de plântulas, alterações no DNA nuclear e na fisiologia de outras plantas alvo, especialmente da alface (*Lactuca sativa* L. cv Babá de Verão), que é uma espécie altamente sensível a agentes químicos (DOS SANTOS *et al.*, 2017; SIMÕES *et al.*, 2013).

Desse modo, o presente trabalho busca caracterizar meios de potencializar o efeito alelopático de *D. erecta* L., pela avaliação de plantas que passam por estresse de podas constantes e a influência da utilização de metodologias extrativas diferentes. Assim como lançar luzes dos mecanismos de interferência sobre aspectos fisiológicos e citogenotóxicos dos bioensaios. Ainda, por meio do fracionamento do extrato mais efetivo e com o emprego de ensaios biodirigidos serão determinados possíveis compostos fitotóxicos.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICOS DE *Duranta erecta* L.

O gênero *Duranta*, descrito por Linnaeus (1753), pertence à família Verbenaceae, composta de ervas, arbustos ou árvores, compreendendo cerca de 100 gêneros e 2.600 espécies. Este gênero compreende cerca de 35 espécies com arbustos sempre-verdes espalhadas pelas regiões tropicais e subtropicais (PURI, 2018).

Duranta erecta L. (sin: *D. repens* L., *D. plumieri* Jacq.) popularmente conhecida como Pingo-de-ouro e Goldendew drop (SIKARWAR *et al.*, 2014), é nativa do México, América Central, América do Sul, Argentina, Sul da Flórida (possivelmente naturalizadas), Bermudas, Bahamas e Antilhas. A espécie é amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais que inclui Havaí, Samoa Americana e Guam. Extensivamente cultivada em toda a Índia ao longo dos rios, margens de córregos e encostas rochosas. Crescendo selvagemmente principalmente em área costeira seca perto do nível do mar (100 m de altitude). (HARDIN; ARENA; DURHAM, 1969; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010)

De porte arbustivo possuindo características lenhosas, atingindo até 1,5 m de altura. As folhas são simples, opostas ou alternadas. As flores são pequenas, em sua maioria azul-púrpura ou de brácteas brancas, distribuídas em racemos terminais ou axilares. Pode ocorrer a presença de espinhos nos ramos. Seus frutos são drupáceos, geralmente contendo 8 sementes, completamente fechadas pelo cálice persistente, sendo menos comumente capsulares ou esquizocarpo. Os usos econômicos incluem como fontes de madeiras, óleos essenciais, chás, ervas medicinais, frutas, gomas, taninos e plantas ornamentais (LORENZI, 2008; TAKATA; SILVA; BARDIVIESSO, 2012).

Por ser considerada uma planta razoavelmente rústica, exige poucos cuidados no seu cultivo e é de fácil manutenção, suportando exposição a pleno sol, aos climas quentes e úmidos, além de não apresentar grandes exigências na adaptação e no cultivo (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Seu cultivo no Brasil é amplamente empregado em jardinagem residencial e urbana, com grande capacidade de adaptação e fácil manejo, apresentando rápido crescimento com propagação por meio de estaquia no período de outono e inverno, outra de suas características marcantes é sua abundante exibição floral violácea ou branca (PURI, 2018; REZENDE; ZUFFELLATO-RIBAS; KOEHLER, 2014). Devido a sua excelente resistência é

constantemente exposta ao estresse mecânico pela manutenção frequente da poda de seus ramos, tal prática leva a planta a formar uma cobertura forte e compacta que é quase impenetrável.

2.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *Duranta* sp.

Os metabólitos secundários são constituídos geralmente de estruturas complexas, possuindo baixo peso molecular e atividades biológicas marcantes. Seu estudo pode ser complexo, devido a variações temporais e espaciais no conteúdo produzido e normalmente, estão presentes em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (GOBBONETO; LOPES, 2007; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Tais metabólitos já foram considerados por muito tempo como produtos residuais do metabolismo primário, sem uma função particular nas plantas. Porém, eles constituem uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, estando intimamente ligados a processos vitais para as plantas. São classificados quanto à estrutura química em: nitrogenados (alcaloides, aminoácidos não proteicos e glicosídeos cianogênicos), terpenóides (óleos essenciais, triterpenos, saponinas e glicosídeos cardioativos) e fenólicos (ligninas, flavonoides e taninos) (CORRÊA *et al.*, 2008; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Esses produtos representam vantagem adaptativa específicas para cada grupo de plantas. Sua ação está relacionada aos mais diversos níveis de interação quimioecológica, seja contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, predadores ou na proteção contra a radiação. Promovem a atração de agentes polinizadores ou dispersores de sementes, contribui para o balanço hídrico das plantas e no armazenamento de nitrogênio. Funciona ainda como compostos alelopáticos o qual irá interferir no ciclo de vida de outras plantas (KROYMANN, 2011; WINK, 2018)

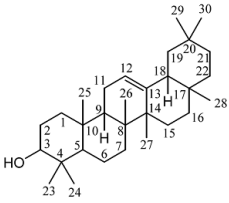
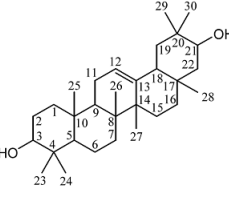
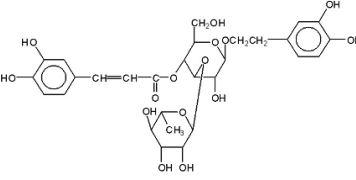
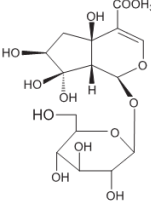
Dentre as diferentes classes de metabólitos secundários, as principais substâncias fitoquímicas ativas descritas em *Duranta erecta* L. são (Tabela 1) alcaloides (YOUSEF, F WAHBA KHALII, S K, PAPPAS, [s.d.]), glicosídeos flavonoides (IJAZ *et al.*, 2010), saponinas (AHMED *et al.*, 2009; HIRADATE *et al.*, 1999), esteroides (AHMAD *et al.*, 1998), taninos (AHMED, *et al.* 2009) e triterpenos (SINGH *et al.*, 2016). Os outros constituintes ativos são Durantol (SINGH *et al.*, 2016), scutellarein, pectolinarigenina (SUBRAMANIAN; NAIR, 1972), glicósidos de iridoid como repenósido (SALAMA *et al.*, 1992; TAKEDA *et al.*, 1995) e cumarinolignoides como cleomiscosin e repeninas (AHMAD *et al.*, 2009). Abou-Setta; Nazif;

Shahat, (2007) relataram seis novos compostos isolados de *Duranta repens*, como β -sitoserol, naringenina, acetósido, lamiida, sacarose (a-glucopiranosil-p-fructopiranosídeo).

As pesquisas demonstram que o gênero *Duranta* spp. é uma promissora fonte de quimioativos. Subsongsang e Jiraungkoorskul (2016), relatam as diferentes aplicações farmacológicas de *Duranta erecta* como sendo: atividade antioxidante, atividade bactericida, atividade antifúngica, atividade antiviral, atividade antiparasítica, e propriedades inseticidas (ABOU-SETTA; NAZIF; SHAHAT, 2007; NIKKON *et al.*, 2008, 2009; IJAZ *et al.*, 2010; KHAN *et al.*, 2013; SIKARWAR *et al.*, 2014; OGBUAGU *et al.*, 2015; HEMAVATHY J, 2016; ROY *et al.*, 2016; SHAHAT *et al.*, 2005). Há relatos que a toxicidade dos frutos de *Duranta* spp. possa ter matado crianças, cães e gatos, devido à sua larga utilização em jardinagem (SCANLAN, 2006).

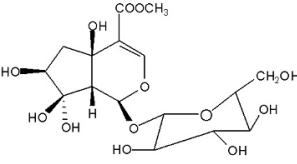
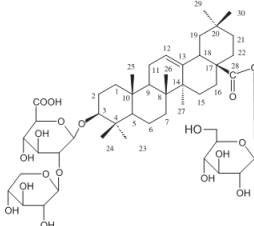
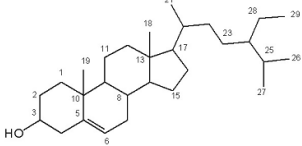
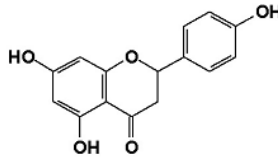
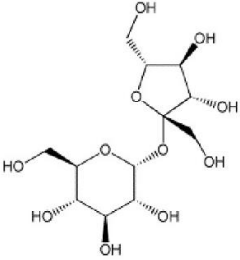
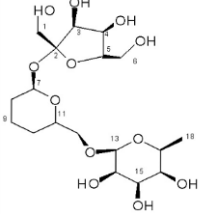
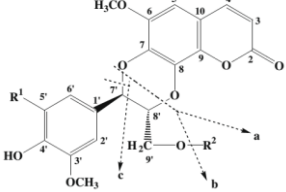
Quadro 1 - Compostos bioativos isolados de *Duranta erecta* Linn.

(continua)

Classe	Estrutura	Nome Trivial	Referência
Triterpeno		β -Amyrin	Nikkon <i>et al.</i> , (2008)
Triterpeno		12-Oleanene 3 β , 21 β -diol	Nikkon <i>et al.</i> , (2008)
Glicosídeo Feniletanoide		Acteoside	Shahat <i>et al.</i> , (2005)
Iridoide		Lamiide	Shahat <i>et al.</i> , (2005)

Fonte: Autor, 2019

(continua)

Classe	Estrutura	Nome Trivial	Referência
Iridoide		Lamiide	Abou-Setta; Nazif; Shahat (2007)
Saponina		Pseudo-ginsenoside-RT ₁	Shahat <i>et al.</i> , (2005)
Esteroide		B-sitoserol	Abou-Setta; Nazif; Shahat (2007)
Flavonoide		Naringenin	Abou-Setta; Nazif; Shahat (2007)
		Sucrose (α -glucopyranosyl (1-2) β fructopyranoside)	Abou-Setta; Nazif; Shahat (2007)
		Raffinose (α - galactopyranosyl (1 \rightarrow 6) glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2) fructopyranoside)	Abou-Setta; Nazif; Shahat (2007)
Cumarino lignoides			Ahmad <i>et al.</i> , (2009)

(continua)

Classe	Estrutura	Nome Trivial	Referência												
Cumarino lignoides	1. $R^1 = H, R^2 =$	1 - Repenina A	Ahmad <i>et al.</i> , (2009)												
	2. $R^1 = H, R^2 =$	2 - Repenina B													
	3. $R^1 = H, R^2 =$	3 - Repenina C													
	4. $R^1 = OCH_3, R^2 =$	4 - Repenina D													
	5. $R^1 = H, R^2 = H$	5 - Cleomiscosina A													
	6. $R^1 = H, R^2 = OAc$	6 - Durantina A													
Iridoid Glucoside		1 -	1 - Duranterectosides A	Takeda <i>et al.</i> , (1995)											
		2 -	2 - Duranterectosides B												
		3 -	3 - Duranterectosides C												
		4 -	4 - Durantoside I												
		5 -	5 - Durantoside II												
		6 -	6 - Lamiidoside												
		7 - H	7 - Lamiide												
		8 -	8 - Durantoside III												
		9 -	9 - Duranterectosides D												
		10 -	10 - Lamalbide												
		11 -	11 - Lamalbide Hexaacetate												
	<table> <thead> <tr> <th></th> <th>R^1</th> <th>R^2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>9</td> <td>COMe</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>11</td> <td>COMe</td> <td>COMe</td> </tr> </tbody> </table>		R^1	R^2	9	COMe	H	10	H	H	11	COMe	COMe		
	R^1	R^2													
9	COMe	H													
10	H	H													
11	COMe	COMe													

Fonte: Autor, 2019

(continua)

Classe	Estrutura	Nome Trivial	Referência																																			
Iridoid Glucoside		Verbascoside	Takeda <i>et al.</i> , (1995)																																			
Fitosterol		Durantol	Singh <i>et al.</i> , (2016)																																			
Saponina		1 - Durantanin I 2 - Durantanin II 3 - Durantanin III	Hiradate <i>et al.</i> , (1999)																																			
	<p>1: R = α-L-Rha-(1\rightarrow3')-β-D-Api-(1\rightarrow4)-α-L-Rha-(1\rightarrow2)-β-L-Ara 2: R = α-L-Rha-(1\rightarrow3)-β-D-Xyl-(1\rightarrow4)-[β-D-Api-(1\rightarrow3)]-α-L-Rha-(1\rightarrow2)-β-L-Ara 3: R = α-L-Rha-(1\rightarrow3)-β-D-Xyl-(1\rightarrow4)- α-L-Rha-(1\rightarrow2)-β-L-Ara 4: R = H</p>																																					
Flavonoide	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th>R₃</th> <th>R₄</th> <th>R₅</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>CH₃</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>H</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>CH₃</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>H</td> <td></td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td>CH₃</td> <td>Ac</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table>		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	1	CH ₃	CH ₃	H	H		2	CH ₃	CH ₃	H	H		7	H	CH ₃	CH ₃	Ac	H	1 - 7-O- α -d-glucopyranosyl-3,4'-dihydroxy-3'-(4-hydroxy-3-methylbutyl)-5,6-dimethoxyflavone 2 - 7-O- α -dglucopyranosyl(6'''-p-tydroxycinnamoyl)-3,4'-dihydroxy-3'-(4-hydroxy-3-methylbutyl)-5,6-dimethoxyflavone 7 - 7-O- α -d-glucopyranosyl-3,5-dihydroxy-3'-(4''-acetoxy-3''-methylbutyl)-6,4'-dimethoxyflavone	Ijaz <i>et al.</i> , (2010)											
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅																																	
1	CH ₃	CH ₃	H	H																																		
2	CH ₃	CH ₃	H	H																																		
7	H	CH ₃	CH ₃	Ac	H																																	
Flavonoide	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>R</th> <th>R₁</th> <th>R₂</th> <th>R₃</th> <th>R₄</th> <th>R₅</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>H</td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td></td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td></td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td>CH₃</td> <td>H</td> <td>CH₃</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	3	H	CH ₃	CH ₃	H	H		4	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃		5	CH ₃	H	CH ₃	H	CH ₃		6	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃		3 - 3,7,4'-trihydroxy-3'-(4-hydroxy-3-methylbutyl)-5,6-dimethoxyflavone 4 - 3,7-dihydroxy-3'-(4-hydroxy-3-methylbutyl)-5,6,4'-trimethoxyflavone 5 - 5,7-dihydroxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)-3,6,4'-trimethoxyflavone 6 - 3,7-dihydroxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)-5,6,4'-trimethoxyflavone	Ijaz <i>et al.</i> , (2010)
	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅																																
3	H	CH ₃	CH ₃	H	H																																	
4	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃																																	
5	CH ₃	H	CH ₃	H	CH ₃																																	
6	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃																																	

Fonte: Autor, 2019

Assim, os compostos químicos provenientes do metabolismo secundário descrito da literatura com conhecido efeito alelopático pertencem aos grupos dos ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides, alcalóides, glicosídeos cianogênicos, derivados do ácido benzóico, alcaloides, taninos e quinonas complexas (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011; PIÑA-RODRIGUES; LOPES, 2001; RICE, 1984; SOARES; VIEIRA, 2000). Hiradate *et al.*, (1999) isolou três novas saponinas triterpênicas e as identificou como potenciais aleloquímicos em bioteste com *Brassica juncea* var. *cernua*. Ogbuagu *et al.*, (2015) quantificou em folhas de *Duranta erecta* a presença de 0,85 mg de flavonóides, 0,78 mg de saponinas, 0,49 mg de taninos e 0,14 mg de alcaloides, para cada 100g de folha em extrato metanólico.

Vários desses compostos naturais podem servir como modelos potenciais no desenvolvimento de agroquímicos (BARBOSA; PIVELLO; MEIRELLES, 2008; VYVYAN, 2002). Do ponto de vista genético, a biologia molecular (especialmente transgênicas), ou mesmo a genética de melhoramento clássica, podem acelerar o objetivo de aumentar a produção de aleloquímicos desejáveis pelas culturas. Estudos genéticos são extremamente úteis para entender melhor o verdadeiro papel dos aleloquímicos nas interações planta-planta e avaliar suas limitações e efeitos no meio ambiente (TREZZIA *et al.*, 2016; WINK, 2018).

2.3 ALELOPATIA: INTERAÇÃO PLANTA/PLANTA

Devido a sua característica séssil as plantas desenvolveram complexos mecanismos de defesa que atuam como barreiras físicas e químicas. As defesas estruturais se caracterizam pela presença de ceras, cutícula, tricomas, parede celular espessa, acúleos e espinhos, enquanto as barreiras químicas agem como substâncias tóxicas, repelentes, deterrentes e atrativas (PASCHOLATI, 2006). Dentre as substâncias químicas encontram-se biomoléculas ativas, usualmente chamadas de “aleloquímicos” que quando liberados no ambiente pelas plantas, denominadas de alelopáticas, provocam interferência sobre o meio ambiente (ALBUQUERQUE *et al.*, 2011; SOUTO *et al.*, 2015).

Embora esse termo tenha sido cunhado por Hans Molisch (1937), descrevendo “o efeito prejudicial de uma planta sobre outra”, os primeiros escritos sobre o assunto são atribuídos a Teofrasto (300 aC), que notou a interferência nociva de plantas de repolho sobre uma videira, sugerindo que tais observações eram causadas por “odores” das plantas de repolho (RICE,

1984). Atualmente o termo alelopatia refere-se ao impacto das plantas nas plantas vizinhas e/ou da microflora e/ou macrofauna associadas pela produção de aleloquímicos, metabólitos produzidos por meio da biossíntese de produtos secundários vegetais e microbianos, que podem afetar, estimulando ou inibindo, os ecossistemas terrestres (naturais e agrícolas) e aquáticos (marinhos e ribeirinhos) (FAR; BAGHERZADEH, 2018; IAS, 2019).

Todas as plantas são capazes de produzir metabólitos secundários, sendo encontrados nas folhas, caules, raízes, rizomas, sementes, flores e até mesmo no pólen (CHON; NELSON, 2010; FERREIRA; AQUILA, 2000). Sua concentração não é constante, podendo variar entre diferentes espécies, nos diferentes órgãos da planta, e em plantas da mesma espécie de acordo com o estágio de desenvolvimento, variações sazonais e com o estresse biótico e/ou abiótico presente no tempo e espaço (ALBUQUERQUE *et al.*, 2011; CHON; JENNINGS; NELSON, 2006).

As estratégias de liberação desses compostos para o ambiente variam de acordo com a espécie. As principais vias conhecidas são: (1) exsudação e deposição na superfície da folha, com subsequente lavagem pela chuva; (2) exsudação de compostos voláteis de partes verdes vivas da planta; (3) decomposição de resíduos de plantas (por exemplo, queda de serapilheira ou raízes mortas); e (4) exsudação radicular (ALBUQUERQUE *et al.*, 2011; SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2013; RICE, 1984)

O estudo e a compreensão da alelopatia desempenha um papel fundamental no meio ambiente, contribuindo para o controle de ervas daninhas, na proteção de cultivos e restabelecimento das culturas. A implementação adequada do princípio alelopático pode promover melhoras na produtividade das culturas através do controle ecológico de ervas daninhas, pragas, doenças, conservação de nitrogênio em terras cultivadas e especialmente na síntese de novos agroquímicos. Baseados em produtos naturais, a síntese de novas estruturas bioativas ganharam proeminente atenção de cientistas envolvidos na pesquisa alelopática. (CHON; NELSON, 2010).

2.4 MECANISMO DE AÇÃO E FUNÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ALELOPÁTICAS

Estudos dos efeitos dos aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta denotam manifestações secundárias de reações ocorridas a nível molecular e celular inicialmente. O modo de ação das substâncias alelopáticas pode ser dividido em ação direta e indireta. A ação direta ocorre quando os compostos se ligam às membranas da planta receptora ou penetra nas suas células, interferindo diretamente no seu metabolismo. A ação indireta inclui

alterações no microambiente do solo, modificando a biodisponibilidade de nutrientes e influenciando a população de microrganismos e suas atividades (FERREIRA; AQUILA, 2000; XIE *et al.*, 2010).

Os compostos alelopáticos podem afetar características morfológicas e fisiológicas seja nos processos da germinação ou no crescimento e desenvolvimento das plântulas, desencadeando uma diversidade de respostas na assimilação de nutrientes, fotossíntese, respiração, nas relações hídricas, abertura dos estômatos e disponibilidade mineral. Tais alterações podem ocorrer em diferentes níveis celulares, seja na divisão e alongamento ou nas estruturas que controlam a permeabilidade das membranas, a síntese proteica, interação com hormônios, efeito sobre as enzimas, metabolismo respiratório, fotossíntese, absorção de nutrientes, inibição da síntese de proteínas e mudanças no metabolismo lipídico (CORRÊA *et al.*, 2008; GATTI; PEREZ; LIMA, 2004; RICE, 1984; SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2013).

Em estudos laboratoriais, os efeitos provocados sobre a planta alvo podem ser observados em parâmetros que avaliem o atraso ou a inibição completa da germinação de sementes, na paralisação do crescimento, injúria do sistema radicular, necrose da radícula ou até mesmo a ausência de raízes devido à inibição do ciclo celular. Também é verificado clorose, murcha das folhas e a completa morte das plantas (CORREIA; CENTURION; ALVES, 2005; SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Essa interação do aleloquímico com a planta alvo, quando observado em ambientes naturais, resultam de uma interação complexa entre os fatores genéticos e ambientais (RODRIGUES *et al.* 1999).

Entre os grupos de metabólitos secundários de compostos com potencial alelopático já descritos, destacam-se os fenóis, terpenos, poliacetilenos, ácidos graxos, peptídeos glicosídeos, taninos, alcaloides, cianogênicos, sesquiterpenos, flavonóides, ácidos fenólicos (FILHO *et al.*, 2013; REIGOSA *et al.*, 2013).

Dentro do grande número de metabólitos secundários já isolados e descritos na literatura apenas uma pequena parte desses compostos têm seus modos de ação identificados. Muitas destas substâncias operam por mecanismos que, de forma geral, envolvem a síntese de aminoácidos (glutamina sintetase, aspartato aminotransferase, ornitina carbamiltransferase, β -cistationase), a síntese de pigmentos (ALA sintetase), as funções da membrana plasmática (H⁺-ATPase, NADH oxidase), a fotossíntese (CF1 ATPase), a síntese de lipídeos (AcetilCoA transacilase, 3-oxoacil-ACP sintase, ceramida sintase) e a síntese de ácidos nucléicos (RNA polimerase, adenilsuccinatosintase, AMP desaminase) (VYVYAN, 2002).

2.5 UTILIZAÇÃO DE ALELOQUÍMICOS COMO BIOHERBICIDAS

Devido ao grande uso extensivo de herbicidas e por possuírem ciclos curtos, muitas plantas daninhas tem desenvolvido resistência aos herbicidas comerciais utilizados em larga escala e muitas vezes empregado de forma indevida (POWLES; YU, 2010).

Tais herbicidas provocam um estresse rápido e extremo nas plantas alvos e alguns estudos já mostraram que há uma semelhança entre os sítios e o mecanismo de ação de substâncias químicas isoladas a partir das plantas e de herbicidas sintéticos. Outra possibilidade para utilização de aleloquímicos é a existência de uma ação oposta aos herbicidas convencionais, ou seja, os sítios e os mecanismos de ação são diferentes dos herbicidas sintéticos o que pode ser usado na produção de outras formas de combater as plantas daninhas resistentes (SANTOS; REZENDE, 2008).

Os herbicidas atuais agem sobre a inibição de transporte de elétrons para NADPH, na produção de ATP e no ciclo de redução de carbono, levando a deficiência de carboidratos e de estresse oxidativo, além de inibir a fotossíntese (POWLES; YU, 2010). Os aleloquímicos são uma fonte potencial para modelos e novos tipos estruturais de herbicidas (HERNÁNDEZ-TERRONES *et al.*, 2007).

Esses herbicidas naturais são usados com a finalidade de diminuir o impacto ambiental causado por herbicidas sintéticos nas áreas agrícolas (XUAN *et al.*, 2005), especialmente no cultivo orgânico. A produção agrícola tradicional com o uso de herbicidas sintéticos tem um custo maior e aumentam os riscos de acúmulo de resíduos tóxicos e distúrbios do meio ambiente. Os herbicidas provenientes de aleloquímicos têm como vantagens o tempo de meia vida mais curto e geralmente não são considerados potencialmente tóxicos (DUKE *et al.*, 2000; MATSUMOTO *et al.*, 2010).

2.6 BIOENSAIOS VEGETAIS

Os bioensaios constituem um método para a medição da resposta de organismos expostos a diferentes concentrações de uma amostra, realizados em laboratórios sob condições específicas e controladas (RIZZO, 2011). Os estudos de fitotoxicidade utilizam diversos parâmetros com a finalidade de averiguar os efeitos tóxicos das substâncias testadas. Os principais parâmetros avaliados são: taxa de germinação; índice de velocidade de germinação; alongamento de raiz; biomassa fresca; biomassa seca; tempo médio de germinação; taxa de

plântulas normais desenvolvidas; alongamento da parte aérea; alongamento do hipocótilo; número de sementes mortas e sementes não germinadas; índice de velocidade de emergência; percentagem de emergência; além de aspectos micromorfológicos de plântulas, índice de efeito alelopático (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011; SIMÕES *et al.*, 2013).

Algumas plantas apresentam excelentes indicadores de efeitos citogenéticos e mutagênicos, podendo ser usadas tanto em ambientes fechados (*in door*) quanto abertos (*in situ*). Os bioensaios que utilizam os vegetais para testar e monitorar o grau de toxicidade de agentes genotóxicos presentes no ambiente, são muito eficientes e apresentam alta sensibilidade, podendo detectar agentes mesmo em baixas concentrações (ALVES *et al.*, 2003). A literatura descreve que nos estudos sobre os efeitos de aleloquímicos podem ser utilizadas como bioensaios as sementes nativas ou de espécies cultivadas, entre elas se destacam a alface e a cebola (DOS SANTOS *et al.*, 2017; FERREIRA; AQUILA, 2000; SIMÕES *et al.*, 2013).

A principal vantagem do uso de *Lactuca sativa* como planta alvo nos estudos alelopáticos reside na sensibilidade da espécie, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos e baixo custo de pesquisa. Além disso, a espécie apresenta outras peculiaridades que favorecem sua utilização como: a germinação rápida, em aproximadamente 24h; o crescimento linear em ampla faixa de variação de pH; a baixa sensibilidade aos potenciais osmóticos dos extratos; o pequeno número de cromossomos e a presença de cromossomos grandes, sendo as duas últimas características facilitadoras para as análises citogenéticas (DOS SANTOS, S. C. *et al.*, 2017; RICE, 1984; SIMÕES *et al.*, 2013). Além disso Souza Filho; Guilhon; Santos (2010) relatam que em bioensaios onde se avalia diferentes plantas alvo, incluindo a *L. sativa*, observa-se que a tendência geral é de que os maiores efeitos inibitórios sejam verificados sobre a alface.

Do ponto de vista da ecologia química, as publicações mais frequentes dizem respeito à alelopatia, embora a maioria desses estudos tenha sido realizada em extratos e sua atividade fitotóxica tenha sido testada na germinação e crescimento de espécies cultivadas, em condições de laboratório. Muitos autores como (CALLAWAY; INDERJIT, 2003; KAUR *et al.*, 2009; MEINERS *et al.*, 2012; SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010), discutem que esses ensaios não representam as condições naturais presentes nos ecossistemas. Por exemplo, algumas publicações mostraram que a microbiota pode alterar a atividade aleloquímica (INDERJIT *et al.*, 2008; KAUR *et al.*, 2009). No entanto, os ensaios de fitotoxicidade podem ser usados para biodirigir o isolamento e identificação dos compostos responsáveis pela fitotoxicidade (INDERJIT; WESTON, 2000; MACÍAS; CASTELLANO; MOLINILLO, 2000). Após a identificação dessas substâncias, elas podem ser utilizadas em estudos de campo,

como na avaliação de sua concentração no solo, a interação com outras substâncias e microrganismos, seu modo de ação e outros (NOVAES *et al.*, 2013).

3 JUSTIFICATIVA

O potencial alelopático de espécies desse gênero pode ser utilizado com diferentes finalidades, dentre elas a busca por defensivos agrícolas, diminuindo o uso de herbicidas sintéticos, substituindo-os por processos naturais, manejo e controle das plantas daninhas por meio de rotação de cultivos e com sistemas adequados de semeadura entre as espécies (SOUTO *et al.*, 2015). Além disso, há atividades biológicas das substâncias alelopáticas como a ação contra os microrganismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento da planta (FERREIRA; AQUILA, 2000).

4 OBJETIVOS

A sessão a seguir trata dos objetivos gerais e específicos deste trabalho.

4.1 Objetivos gerais

Realizar o estudo químico e fitotóxico de extrato hidroetanólico de folhas fracionados de *Duranta erecta* L. em bioensaio com *Lactuca sativa* L. e identificar os metabólitos secundários com maior potencial aleloquímico.

4.2 Objetivos específicos

Obter extrato seco e suas partições em diferentes polaridades de folhas de *Duranta erecta* L.;

Realizar a triagem fitoquímica preliminar do extrato seco por meio de ensaios qualitativos;

Realizar a análise química do extrato seco e das frações por Cromatografia em Camada Delgada (CCD);

Avaliar os efeitos fitotóxico e citogenotóxico das frações de *Duranta erecta* L. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.

REFERÊNCIAS

- ABOU-SETTA, L. M.; NAZIF, N. M.; SHAHAT, A. A. Phytochemical Investigation and Antiviral Activity of *Duranta repens*. v. 3, n. 11, p. 1426–1433, 2007.
- AHMAD, N. *et al.* Repenins A-D, four new antioxidative coumarinolignoids from *Duranta repens* Linn. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 13, p. 3521–3524, 2009.
- AHMAD, S. *et al.* A new steroid from *Duranta repens*. **Fitoterapia**, v. 69, n. 5, p. 448–450, 1998.
- AHMED, W. S. *et al.* New triterpene saponins from *duranta repens* linn, and their cytotoxic activity. **Molecules**, v. 14, n. 5, p. 1952–1965, 2009.
- ALBUQUERQUE, M. B. *et al.* Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n. 2, p. 379–395, 2011.
- ALVES, E. C. *et al.* Fotossíntese, transpiração e condutância estomática de plantas de pimentão submetidas a diferentes doses de N. In: **Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica**. [s.l.: s.n.].
- ALVES, E. S. *et al.* Biomonitoramento indoor do potencial mutagênico do ar em laboratórios e herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. **Hoehnea**, v. 30, n. 2, p. 89–94, 2003.
- ALVES, S. M.; SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: (Eds.). . In: SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Eds.). . **Alelopatia princípios básicos e aspectos gerais**. Belém, Bra ed. [s.l.] Embrapa Amazônia Orienta, 2002. p. 25–48.
- BARBOSA, E. G.; PIVELLO, V. R.; MEIRELLES, S. T. Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 825–831, 2008.
- BASTOS, D. H. M. *et al.* Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex*). **Molecules**, v. 12, p. 423–432, 2007.
- BASTOS, R. G. *et al.* Chemical characterization and antimicrobial activity of hydroethanolic crude extract of *Eugenia florida* DC (Myrtaceae) leaves. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 6, p. 110–115, 2016.
- BATISTA, T. M. V. **Fotossíntese e condutância estomática de tomate SM-16 e mariana cultivados com diferentes tipos de cobertura do solo**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal Rural do Semiárido (Agronomia, Área de concentração: Fitotecnia). Mossoró – RN, 2011.
- 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. 521–525, 2011.
- BOVANOVA, L.; BRANDŠTETEROVA, E.; BAXA, S. HPLC determination of stevioside in plant material and food samples. **Zeitschrift for Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v. 207, n. 5, p. 352–355, 1998.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, Volume 2**. 5ª ed. Brasília: 2010, 2010. v. 1
- BURIOL, L. *et al.* Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 296–302, 2009.
- CALLAWAY, R. M.; INDERJIT. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 1–11, 2003.
- CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para**

farmácia magistral. São Paulo: Pharmabooks, 2009.

CHIAPUSIO, G. et al. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 11, p. 2445–2453, 1997.

CHON, S.-U.; NELSON, C. J. Allelopathy in Compositae plants . A review To cite this version : Review article. **Agronomy Journal**, v. 30, n. 2, p. 349–358, 2010.

CHON, S. U.; JENNINGS, J. A.; NELSON, C. J. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) autotoxicity: Current status. **Allelopathy Journal**, v. 18, n. 1, p. 1–24, 2006.

CHUNG, I. M.; HAHN, S. J.; AHMAD, A. Confirmation of potential herbicidal agents in hulls of rice, *Oryza sativa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6, p. 1339–1352, 2005.

CORRÊA, P. G. et al. HERBIVORIA E ANATOMIA FOLIAR EM PLANTAS TROPICAIS BRASILEIRAS Priscila. **Scientia**, v. 06, n. 19, p. 85–106, 2008.

CORREIA, N. M.; CENTURION, M. A. P. D. C.; ALVES, P. L. D. C. A. Influência de extratos aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, v. 35, p. 498–503, 2005.

DE ALMEIDA, G. D. et al. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237–4247, 2008.

DOS SANTOS, S. C. et al. Genotypeselection for plant bioassays using *Lactuca Sativa* L. and *Allium Cepa* L. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, n. 6, p. 2201–2212, 2017.

DUKE, S. O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed Research**, v. 40, n. 1, p. 99–111, 2000.

DUKE, S. O. Proving Allelopathy in Crop–Weed Interactions. **Weed Science**, v. 63, n. SP1, p. 121–132, 2015.

EBERLEIN, C. V. Germination of *Sorghum alnum* Seeds and Longevity in Soil. **Weed Science**, v. 35, n. 6, p. 796–801, 1987.

FAR, M. H.; BAGHERZADEH, A. Assessing Allelopathic Index for Estimating Allelopathic potential of Ajowan Extracts. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 21, n. 2, p. 165–172, 2018.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alellopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology. **Revista Brasileira De Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Vii, p. 175–204, 2000.

FERREIRA, D. F. Sisvar : A Guide for Its Bootstrap Procedures in Multiple Comparisons Sisvar : um guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2000, p. 109–112, 2014.

FILHO, A. J. C. et al. TRITERPENÓIDES, FENÓLICOS E EFEITO FITOTÓXICO DAS FOLHAS DE *flavescens* DC (*Myrtaceae*). **Química Nova Nova**, v. 40, n. 3, p. 252–259, 2016.

FILHO, A. L. M. et al. Potencialidade Alelopática De Oaca (*Eupatorium Laevigatum* Lam .) Sobre Alfaca (*Lactuca Sativa* L .). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 2, p. 29–36, 2013.

FOSSEN, T. et al. Anthocyanins from a Norwegian potato cultivar. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 433–437, 2003.

GAO, X. et al. 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.

GATTI, A. B. et al. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado . **Revista Brasileira de Biociências**, p. 174–176, 2007.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. DE; 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. 425–430, 2004.

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.

GONÇALVES, T. S. Interações ecológicas e evolutivas entre: plantas, herbívoros e seus inimigos naturais. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 03, p. 1–9, 2015.

GUSMAN, G. S.; COUTO, A. H.; VESTENA, B. E S. Alelopatia de extratos aquosos de *Bacharis dracunculifolia* DC. sobre a germinação e crescimento de *Raphanus sativus* L. e de *Citrullus lantanus* (THUNB.) M. & N. **Revista Brasileira da FAMINAS**, v. 3, n. 1, p. 2007, 2008.

HARDIN, J. W.; ARENA, J.; DURHAM, N. Human Poisoning from Native and Cultivated Plants. **Duke University Press**, p. 1969, 1969.

HEMAVATHY J, A. T. A study on larvicidal assay on *Duranta Repens* Linn . and *Vitex Negundo* Linn . against *Culex Quinquefasciatus* say. **International Journal of Advanced Science and Research**, v. 1, n. December 2015, p. 18–20, 2016.

HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G. et al. Allelopathic Action of *Cecropia pachystachya* Extracts on the Growth of Guinea Grass (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 763–769, 2007.

HIRADATE, S. et al. Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 7, p. 1223–1228, 1999.

HOFFMANN, C. E. F. et al. Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L . e *Dieffenbachia picta* schott em sementes de *Lactuca Sativa* L . e *Bidens pilosa* L . **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 6, n. 1, p. 11–21, 2007.

IAS. **International Allelopathy Society (IAS). What is Allelopathy?** Disponível em: <<http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>>. Acesso em: 27 fev. 2019.

IJAZ, F. et al. Two new anti-plasmodial flavonoid glycosides from *Duranta repens*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 773–778, 2010.

INDERJIT et al. Phytotoxic effects of (±)-Catechin In vitro, in soil, and in the field. **PLoS ONE**, v. 3, n. 7, 2008.

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.

JATOBÁ, L. DE J.; GUALTIER, S. C. J. **Compostos com potencial alelopático em *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze**. [s.l: s.n.].

JUSTESEN, U. Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision activation mass spectrometry for the characterisation of flavonoids in extracts of fresh herbs. **Journal of Chromatography A**, v. 902, n. 2, p. 369–379, 2000.

KAPINGUA, M. C. et al. Diterpenoids from the roots of *Croton macrostachys*. **Phytochemistry**, v. 54, n. 14, p. 767–770, 2000.

KAUR, H. et al. Taking ecological function seriously: Soil microbial communities can obviate allelopathic effects of released metabolites. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, p. 1–6, 2009.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: 2ed, 2008.

KHAN, M. A. et al. ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF *DURANTA REPENS* (LINN.) FRUITS AGAINST H₂O₂ INDUCED CELL DEATH INVITRO. **Afr J Tradit Complement Altern Med.**, v. 10, p. 436–441, 2013.

- KOBAYASHI, W. et al. Tetrasaccharide multi-esters and xanthone glycosides from the roots of *Polygala wattersii*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 8, p. 1121–1126, 2000.
- KONG, C.; HU, F. E. I.; XU, X. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Ageratum conyzoides* under stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 6, p. 1173–1182, 2002.
- KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 246–251, 2011.
- LANNANG, A. M. et al. Antioxidant benzophenones and xanthenes from the root bark of *Garcinia smeathmannii*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 20, n. 2, p. 247–252, 2006.
- LEÓN-GONZÁLEZ, A. J. et al. Chemo-protective activity and characterization of phenolic extracts from *Corema album*. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 728–738, 2012.
- LIU, X. et al. Isolation and Identification of Potential Allelochemicals from Aerial Parts of *Avena fatua* L. and Their Allelopathic Effect on Wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 3492–3500, 2016.
- LUKHITWITAYAWUID, K. et al. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 1, p. 1468–1478, 1993.
- MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512–2521, 2000.
- MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 61–69, 2006.
- MATSUMOTO, R. S. et al. Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631–635, 2010.
- MEINERS, S. J. et al. Developing an ecological context for allelopathy. **Plant Ecology**, v. 213, n. 12, p. 1861–1867, 2012.
- MORITA, H. et al. Cephalozomines A-F, Potent Cytotoxic Alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana*. **Tetrahedron**, v. 56, n. 27, p. 2929–2934, 2000.
- MORITA, H.; YOSHINAGA, M. Cephalozomines G, H, J, K, L, and M, new alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana*. **TETRAHEDRON**, v. 58, p. 5489–5495, 2002.
- NIKKON, F. et al. Antishigellosis and Cytotoxic Potency of Crude Extracts and Isolated Constituents from *Duranta repens*. **The Korean Society of Mycology**, v. 36, n. 3, p. 173–177, 2008.
- NIKKON, F. et al. Larvicidal effects of stem and fruits of *Duranta repens* against the mosquito *Culex quinquefasciatus*. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 4, p. 1709–1713, 2009.
- NOVAES, P. et al. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 839–855, 2013.
- OGBUAGU, A. S. et al. Quantitative Determination of Some Secondary Metabolites and the Anti Bacterial Effects of the Leaf Extracts of *Duranta erecta*. **American Journal of Biomedical Science and Engineering**, v. 1, n. 5, p. 8287, 2015.
- OGUNSUSI, M. et al. Allelopathic effects of alkaloid fraction of *Crotalaria retusa* Linn on growth and some biochemical parameters of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2018.
- OLIVEIRA, L. G. A. et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum cernuum* Vell. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 44, n. 3, p. 538–543, 2013.

- PASCHOLATI, S. F. Mecanismo de resistência das plantas a fitopatógenos. In: MARIATH, J. E. A.; SANTOS, R. P. (Eds.). **Os Avanços da Botânica no Início do Século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética**. [s.l.] Sociedade Botânica do Brasil, 2006. p. 656–659.
- PASTORI, T. B et al. Genotoxic and antiproliferative action of polygonum punctatum eliott (Polygonaceae) on the cell cycle of allium cepa L [Ação genotóxica e antiproliferativa de Polygonum punctatum Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de Allium cepa L]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 186–194, 2015.
- PATRA, A. et al. The protoberberine alkaloids of Stephania suberosa. **Phytochemistry**, v. 26, n. 2, p. 547–549, 1987.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. November, p. 146–152, 2012.
- PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de Andira humilis Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de Lactuca sativa L. e Raphanus sativus L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. POTENCIAL ALELOPÁTICO DE Mimosa caesalpinaefolia Benth SOBRE SEMENTES DE Tabebuia alba (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 130–136, 2001.
- PIRES, M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: J, R. S. O. (Ed.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. [s.l: s.n.]. p. 95–124.
- POWLES, S. B.; YU, Q. **Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides**. [s.l: s.n.]. v. 61
- PURI, A. V. Duranta repens linn . (verbenaceae): a comprehensive review of pharmacognostic , ethnomedicinal , pharmacological , and phytochemical aspects. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91–96, 2018.
- QIU, S.-X. et al. Isolation and Characterization of Flaxseed (Linum usitatissimum) Constituents. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 1, p. 1–7, 2003.
- REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629–646, 2013.
- REZENDE, F. P. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Aplicação de extratos de folhas e tubérculos de Cyperus rotundus L. e de auxinas sintéticas na estaquia caulinar de Duranta repens L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 639–645, 2014.
- RIBEIRO, L. D. O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [Stryphnodendron adstringens (Mart .) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 2, p. 220–225, 2012.
- RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4311–4340, 2011.
- RODRIGUES, L. C. DE A. et al. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com Lactuca sativa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.
- ROY, S. et al. Aqueous extracts of Duranta repens (Verbenaceae) as an alternative to control tea red spider mite, Oligonychus coffeae (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 36, n. 2, p. 82–90, 2016.
- SALAMA, M. et al. Repennoside – A new iridiod glucoside from Duranta repens fruits. **J Pharm Sci**, v. 8, p. 212–21, 1992.
- SANTOS, S. et al. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de

- calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Ecletica Quimica**, v. 36, n. 2, p. 51–68, 2011.
- SANTOS, S.; REZENDE, M. O. O. Avaliação Do Potencial Herbicida De Compostos Secundários Na Germinação De Sementes De Plantas Daninhas Encontradas Em Pastagens. **Revista Analytica**, n. 32, p. 72–78, 2008.
- SASAMOTO, H.; FUJII, Y.; ASHIHARA, H. Effect of purine alkaloids on the proliferation of lettuce cells derived from protoplasts. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 5, p. 69–72, 2015.
- SCANLAN, S. *Duranta erecta* poisoning in nine dogs and a cat. **Australian Veterinary Journal**, v. 84, n. 10, p. 367–370, 2006.
- SCHOCK, A. A. **Características fisiológicas e anatômicas de pinhão manso conduzidos em diferentes condições de luminosidade**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Pelotas., 2012.
- SCOGNAMIGLIO, M. et al. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on Mediterranean biomes. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 803–830, 2013.
- SHAHAT, A. A. et al. Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of *Duranta repens*. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 11, p. 1071–1073, 2005.
- SHARMA, P. et al. Phytochemical analysis and antifungal potential of *Duranta erecta* against some phytopatogenic fungi. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 08, p. 2686–2689, 2012.
- SIKARWAR, M. et al. Evaluation of *Duranta repens* for its antifungal potential. **International Journal of Medicinal Plants**, v. 106, n. January, p. 390–395, 2014.
- SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29–36, 2013.
- SINGH, H. et al. Durantol - a phytosterol antifungal contributor from *Duranta repens* Linn. For organic Management of Sorghum Downy Mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n. 3, p. 671–682, 2016.
- SOUSA, R. F. DE; SOUSA, J. A. DE. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais Secondary metabolics associated with water stress and its functions on vegetable tissues. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2017.
- SOUTO, J. S. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de moringa na germinação e no crescimento inicial da alface. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 19, n. 10, p. 5771–5779, 2015.
- 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.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Embrapa Am ed. Belém: Embrapa, 2002.
- STANTON, M. A. **Respostas a herbivoria em *Asclepias cursassavica* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): defender, crescer ou reproduzir**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2008.
- SUBRAMANIAN, S.; NAIR, A. Scutellarein and pectolinarigenin from the leaves of *Clerodendron phlomidis* and *Duranta repens*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 3095–6, 1972.
- SUBSONGSANG, R.; JIRAUNGKOORSKUL, W. An updated review on phytochemical properties of “Golden Dewdrop” *Duranta erecta*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 10, n. 20, p. 2016–2018, 2016.

- TAKATA, W. H. S.; SILVA, E. G. DA; BARDIVIESSO, D. M. Enraizamento de estacas de *Duranta repens* linn “aurea” em função de doses de IBA. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 21, n. 1, p. 1–9, 2012.
- TAKEDA, Y. et al. Iridoid glucosides from the leaves and stems of *Duranta erecta*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 4, p. 829–833, 1995.
- TREZZIA, M. M. et al. Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. **Journal of Plant Interactions**, v. 11, n. 1, p. 53–60, 2016.
- TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**, v. 27, n. 3, p. 23–32, 2010.
- VYVYAN, J. R. Allelochemicals as lead for new herbicides and agrochemicals. **TETRAHEDRON**, v. 58, n. 599, p. 1631–1646, 2002.
- WANG, J. I. A. et al. FLAVONOIDS FROM *BIDENS PILOSA* VAR. *RADIATA*. **Phytochemistry**, v. 28, p. 7–10, 1997.
- WILLIAMSON, B. G.; RICHARDSON, D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 1, p. 181–187, 1988.
- WINK, M. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. **Planta**, p. 365–368, 1983.
- WINK, M. Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary Metabolites. In **Annual Plant Reviews online**, J. A. Roberts (Ed.), 2018.
- WINK, M.; LATZ-BRUNING, B. Allelopathic properties of alkaloids and other natural products. In: **Allelopathy: Organisms, processes, and applications**. American C ed. [s.l.: s.n.].
- XIE, L. J. et al. Allelochemical mediated invasion of exotic plants in China. **Allelopathy Journal**, v. 25, n. 1, p. 31–50, 2010.
- XUAN, T. D. et al. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: An overview. **Crop Protection**, v. 24, n. 3, p. 197–206, 2005.
- YOUSEF, F WAHBA KHALII, S K, PAPPAS, S. P. Separation and characterization of a new alkaloid from the fruit of *Duranta repens*. **Bd.**, p. 173–175, [s.d.].
- ZHANG, T. T. et al. The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 1, p. 71–77, 2010.
- ZHAO, M. et al. Seven quassinoids from fructus bruceae with cytotoxic effects on pancreatic adenocarcinoma cell lines. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 12, p. 1796–1800, 2011.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO I: Fitotoxicidade e citotoxicidade foliar de *Duranta erecta* sob estresse de poda em bioensaio com *Lactuca sativa*.

AUTORES: Vítor Mezzalira Betelli, João Vitor Calvelli Barbosa, Leticia Moreira Leite, Renan Gomes Bastos, Marcelo Aparecido da Silva, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

Artigo redigido conforme as normas da Revista Ciência Agronômica

ARTIGO II: Alterações fisiológicas de liofilizado hidroetanólico de pingo de ouro (*Duranta erecta* L.) sobre Berinjela (*Solanum melongena* L.).

AUTORES: João Vitor Calvelli Barbosa, Daniela Vilas Boas Braga, Pâmela Ingrid Alves, Josiele Silva, Valdir Veroneze Junior, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa, Thiago Correia de Souza

ARTIGO III: Bioprospecção e citotoxicidade de partições de (*Duranta erecta* L.)

AUTORES: João Vitor Calvelli Barbosa, Renan Gomes Bastos, Vítor Mezzalira Betelli, Jade Del Nero, Ana Caroline Zanatta, Wagner Vilegas, Marcelo Aparecido da Silva, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

ARTIGO I: Fitotoxicidade e citotoxicidade foliar de *Duranta erecta* sob estresse de poda em bioensaio com *Lactuca sativa*.

AUTORES: Vítor Mezzalira Betelli, João Vitor Calvelli Barbosa, Leticia Moreira Leite, Renan Gomes Bastos, Marcelo Aparecido da Silva, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

1 **Fitotoxicidade e citotoxicidade foliar de *Duranta erecta***
2 **sob estresse de poda em bioensaio com *Lactuca sativa*.¹**

3
4 leaf Phytotoxicity and cytotoxicity of *Duranta erecta*
5 under stress in bioassay with *Lactuca sativa*.

6
7 **RESUMO** - Durante o processo evolutivo, as plantas desenvolveram complexos mecanismos
8 de defesa, destacando a produção de compostos aleloquímicos que variam na quantidade e
9 qualidade de acordo com diversos fatores. Assim, objetivou investigar o efeito fitotóxico e
10 citotóxico de extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas de *Duranta erecta* L. sob diferentes
11 manejos, a saber, estresse de poda e sem poda em bioensaio com *Lactuca sativa* L.. Para
12 ambos os manejos, os extratos foram obtidos pelos métodos de decocção (aquoso) e
13 percolação exaustiva com etanol (50%) seguindo de liofilização. Os ensaios de fitotoxicidade
14 foram conduzidos por 7 dias em BOD (Demanda Biológica de Oxigênio) a 25 °C com
15 fotoperíodo de 12/12horas, sendo aplicadas soluções preparadas a partir dos liofilizados nas
16 concentrações de 2,5; 5; 10; 20 e 40 mg.mL⁻¹. O bioensaio de citotoxicidade foi realizado nas
17 mesmas condições e concentrações, porém as pontas de raízes foram coletadas até as primeiras
18 72 horas, de acordo com o período de germinação de cada tratamento, e as lâminas foram
19 confeccionadas pelo método de esmagamento. Os dados coletados demonstram que, todos os
20 extratos de *D. erecta* possuem potencial alelopático. A citotoxicidade foi acentuada inibindo
21 drasticamente o índice mitótico, porém estatisticamente igual entre os tratamentos. Para as
22 formas de extração observamos que o extrato aquoso foi mais efetivo na inibição da
23 germinação final e índice de efeito alelopático. Sendo assim concluímos que a prática da poda
24 promoveu aumento no efeito fitotóxico de plantas de *D. erecta*, reduzindo todos os parâmetros
25 do bioensaio.

26 **Palavras-chave:** Pingo-de-ouro. Alelopatia. Bioensaios. Alface. Índice de efeito alelopático.

27 **ABSTRACT** - During the evolutionary process the plants developed complex defense
28 mechanisms, highlighting the production of allelochemical compounds. They vary in quantity
29 and quality according to several factors. The objective of this study was to investigate the

¹ Trabalho de conclusão de curso do primeiro autor, apresentado ao Curso de Biotecnologia – Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL-MG, sendo parte da pesquisa realizada nesta Dissertação.

30 phytotoxic effect of aqueous and hydroethanolic extracts of *Duranta erecta* L. leaves under
31 different management, namely, pruning stress and without pruning in bioassay with *Lactuca*
32 *sativa* L.. For both treatments extracts were obtained by decoction methods (aqueous) and
33 exhaustive percolation with ethanol (50%) followed by lyophilization. Phytotoxicity assays
34 were carried out for 7 days in BOD (Biological Oxygen Demand) at 25 ° C with photoperiod
35 of 12/12 hours, and solutions were prepared from the freeze-dried solutions at concentrations
36 of 2.5; 5; 10; 20 and 40 mg.mL⁻¹. The cytotoxicity bioassay was performed at the same
37 conditions and concentrations, but the root tips were collected up to the first 72 hours, according
38 to the germination period of each treatment, and the slides were made by the crushing method.
39 The collected data show that all extracts of *D. erecta* have allelopathic potential. The
40 cytotoxicity was accentuated drastically inhibiting the mitotic index, but statistically equal
41 between the treatments. For the extraction forms we observed that the aqueous extract was more
42 effective in inhibiting the final germination and allelopathic effect index. Therefore, the practice
43 of pruning promoted an increase in the phytotoxic effect of *D. erecta* plants, reducing all
44 bioassay parameters.

45 **Key words:** Golden Dewdrop. Allelopathy. Bioassays. Lettuce. Allelopathic effect index.

46 INTRODUÇÃO

47 O gênero *Duranta* spp., pertencente à família Verbenaceae, compreende cerca de 35
48 espécies. *Duranta erecta* (sin *D. repens* L.), se destaca entre elas por suas características
49 botânico-agronômicas e adaptabilidade às condições climáticas do Brasil (PURI, 2018;
50 SIKARWAR et al., 2014; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010)

51 Normalmente conhecida como Pingo-de-ouro, é oriunda das florestas abertas nas Índias
52 Ocidentais, da região norte do Paquistão e da América do Sul (AHMAD et al., 2009). É um
53 arbusto lenhoso cuja altura pode variar de 1,5 até 4m, suas folhas são amarelas douradas. A
54 espécie em questão é amplamente utilizada em jardins e canteiros de vias urbanas, pelo fato de

55 não possuir exigências com relação a sua adaptação e cultivo. Seu crescimento é rápido e é
56 propagada principalmente por estaquias (TAKATA; SILVA; BARDIVIESSO, 2012).

57 Por ser amplamente utilizada em áreas de jardinagem a espécie em questão sofre
58 constantemente o processo de poda, estresse similar a herbívora. Normalmente, as plantas
59 apresentam sistemas de defesa química contra a herbivoria. As vias de produção do
60 metabolismo secundário podem ser estimuladas com incremento na produção dessas
61 substâncias de acordo com o estresse a qual ela está submetida (KONG; HU; XU, 2002;
62 MEINERS et al., 2012).

63 As interações bioquímicas em plantas e entre elas ocorrem a partir da liberação no
64 ambiente de substâncias que são produzidas via metabolismo secundário que podem
65 influenciar os aspectos ecológicos do local, sobre o crescimento e desenvolvimento de outras
66 plantas e organismos, num fenômeno conhecido como alelopatia (OLIVEIRA et al., 2013;
67 TREZZIA et al., 2016).

68 Os estudos sobre os efeitos alelopáticos já são substanciais quanto aos aspectos
69 germinativos e de crescimento e desenvolvimento inicial de plantas-alvo, mas ainda
70 incipientes quando a temática relacionada à ação fitotóxica sobre o comportamento do ciclo
71 celular e do complemento cromossômico dos biotestes (MARASCHIN-SILVA; AQUILA,
72 2006; REIGOSA et al., 2013).

73 Compreender a interação das plantas no meio ambiente, bem como a ação de compostos
74 por elas produzidos em bioensaios vegetais, pode subsidiar programas de controle de plantas
75 daninhas buscando obter produtos eficientes no controle e/ou eliminação de invasoras sem
76 causar grandes impactos ao ambiente (XIE et al., 2010).

77 O emprego do bioteste com *Lactuca sativa* (alface) especialmente a cultivar *Babá de*
78 *Verão*, se demonstrou um modelo mais eficiente na avaliação do efeito alelopático devido a

79 sua sensibilidade a produtos químicos em geral, seu rápido crescimento (DOS SANTOS et
80 al., 2017).

81 Os relatos sobre a ação alelopática de *Duranta* spp. ainda são incipientes na literatura,
82 em especial sobre os aspectos citogenéticos de organismos alvo submetidos a diferentes
83 aleloquímicos complexadas ou isoladas.

84 Assim, o presente trabalho, tem como objetivo analisar o efeito citogenototóxico de
85 extratos aquosos e hidroetanólico de folhas de *Duranta erecta* L. sob estresse mecânico (com
86 poda) e em cultivo livre (sem poda) sobre a fisiologia, ciclo celular de células meristemáticas
87 de *Lactuca sativa* L (cv. *Babá de Verão*).

88 **METERIAL E MÉTODOS**

89 **Coleta e preparo das amostras**

90 O material foi coletado na microrregião de Alfenas, sendo obtidos nas respectivas
91 coordenadas; população 1 (com poda) S21° 25' 09.7" HO 45° 56' 55.8", população 2 (sem
92 poda) S 21° 30' 22" HO 46° 11' 45.2". Exsicatas dos espécimes coletados foram depositadas
93 no Herbário da Universidade Federal de Alfenas.

94 Após a coleta, as folhas foram secas em estufa com circulação de ar a temperatura de
95 45°C até o peso constante. Em seguida foram trituradas em moinho de facas (Skymssen-
96 TA04) e padronizado o tamanho das partículas pelo processo de agitador de tamises
97 eletromagnético (Bertel®).

98 O extrato aquoso foi obtido pelo método de decocção a temperatura de 100°C em chapa
99 de aquecimento por 15 min. Após repouso de 30min foi realizado a filtragem em papel filtro
100 até atingir a temperatura ambiente. O extrato hidroetanólico (1:1) foi obtido pelo método de
101 percolação exaustiva descrito na farmacopeia brasileira (BRASIL, 2010).

102 Ambos os extratos foram concentrados em evaporador rotatório a 40°C sob pressão de
103 400 mmHg seguido de liofilização (Liofilizador – Liotop L101) e armazenamento a -20°C.

104 Os extratos secos por liofilização foram solubilizados nas concentrações de 2,5; 5; 10; 20 e
 105 40 mg mL⁻¹ para condução dos bioensaios vegetais.

106 A triagem fitoquímica preliminar foi realizada em triplicata por meio de reações
 107 químicas para identificação de alcaloides, antocianidinas, antraquinonas, compostos
 108 fenólicos, cumarinas, esteroides e triterpenoides, flavonoides, heterosídeos cardioativos,
 109 polissacarídeos, saponinas, taninos, terpenos (CARDOSO *et al.* 2009)

110 **Ensaio de Fitotoxicidade**

111 Os bioensaios foram conduzidos em placas de Petri 70 mm de diâmetro contendo duas
 112 folhas de papel Germitest® umedecidas com 3mL de solução, nas diferentes concentrações
 113 dos extratos (2,5; 5; 10; 20 e 40 mg mL⁻¹) e água destilada foi usada como controle. Para cada
 114 repetição foi distribuído uniformemente 30 cipselas de *Lactuca sativa L.* cv. Babá de Verão
 115 (ISLA PAK Sementes Ltda). As placas foram mantidas em câmara de germinação do tipo
 116 BOD – Demanda Biológica de Oxigênio (Ethiktechnology® 411FPD) – a 25°C, com
 117 fotoperíodo de 12 horas. A porcentagem de Germinação Inicial (%Gi) foi avaliada com 24hs
 118 e a Germinação Final (%Gf) ao termino do experimento (7º dia) segundo adaptações de
 119 (RIBEIRO *et al.*, 2012). O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) (CHIAPUSIO *et al.*,
 120 1997) foi analisado de 4 em 4 horas, até completar 48hs e até o 7º dia com intervalos de 12
 121 horas. A partir desses dados, em intervalos de 24 horas, foi calculado o índice de efeito
 122 alelopático (RI) (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011; WILLIAMSON;
 123 RICHARDSON, 1988) em intervalos de 24 horas utilizando-se das seguintes fórmulas:

$$124 \quad (I) \quad RI = 1 - C/T \quad (T \geq C) \quad \text{ou} \quad RI = T/C - 1 \quad (T < C)$$

125 Onde: C = velocidade de germinação do controle; T = velocidade de germinação do
 126 tratamento.

127 Para a Velocidade de Germinação (VG), usou-se:

$$128 \quad (II) \quad VG (\%) = \frac{\sum (Gt/D)}{\sum (Gc/D)} \times 100$$

129 Onde: G_t = número de sementes germinadas diariamente do tratamento; G_c = número de
130 sementes germinadas diariamente do controle; D = número de dias correspondente

131 O alongamento de raiz (AR), comprimento de parte aérea (CPA) foram mensurados a
132 partir de 10 plântulas escolhidas aleatoriamente de cada repetição, medidas com paquímetro
133 digital (DIGIMESS® 150mm). Todo material vegetal foi posteriormente pesado, compondo
134 a biomassa fresca (BF), e levado a estufa com circulação de ar a 70°C até atingir peso
135 constante, compondo a biomassa seca (BS).

136 **Ensaio de Citotoxicidade**

137 Raízes de *L. sativa* expostas aos tratamentos descritos anteriormente foram coletadas,
138 fixadas em Carnoy 3:1 (álcool etílico: ácido acético P.A.) e armazenadas a -18 ± 1 °C. As
139 lâminas foram confeccionadas pelo método de esmagamento (RODRIGUES et al., 2013). Para
140 determinação do índice mitótico (IM) foram analisadas 1000 células por tratamento, sendo o
141 cálculo realizado por meio da expressão:

$$142 \quad (III) \quad IM = (NCM/NTC) \times 100$$

143 Onde: NCM = número de células em mitose; NTC = número total de células analisadas

144 **Análise Estatística**

145 O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro
146 tratamentos e seis concentrações (4x6), com três repetições de 30 sementes cada. As médias
147 foram submetidas à análise de variância por meio do teste de Scott-Knott a 5% e posterior
148 análise de regressão, com ajuste da curva de acordo com a significância estatística ($p < 0,05$) dos
149 coeficientes do modelo. utilizando o programa Sisvar versão 5.4 (FERREIRA, 2014).

150 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

151 A triagem fitoquímica realizada (Tabela 1) mostra que para os extratos das plantas com
152 poda apenas os heterosídeos cardioativos e as cumarinas se mostraram ausentes, já nos extratos
153 das plantas sem poda, as antraquinonas e também os heterosídeos cardioativos foram ausentes.

154 Apesar de ambos os extratos apresentarem grande parte dos metabólitos avaliados,
 155 sendo a maioria deles em comum, os testes realizados foram de caráter qualitativo, ou seja,
 156 indicando presença ou ausência. O estresse mecânico causado pela poda, pode gerar aumento
 157 na produção desses compostos, potencializando o efeito alelopático.

Teste Fitoquímico	Com poda	Sem poda
Compostos Fenólicos	+	+
Antraquinonas	+	-
Flavonóides	+	+
Antrocianinas	+	+
Taninos	+	+
Polissacarídeos	+	+
Heterosídeos Cardioativos	-	-
Saponinas	+	+
Alcalóides	+	+
Cumarinas	-	+
Terpenos	+	+

158 **Tabela 1.** Análise fitoquímica dos extratos de *Duranta erecta* L., onde os resultados mostram a
 159 presença (+) ou ausência (-) dos metabólitos.

160
 161 O teste F da análise de variância revelou que os efeitos significativos entre as médias dos
 162 tratamentos ocorreram nas variáveis germinação inicial (Gi), germinação final (Gf), índice de
 163 velocidade de germinação (IVG), índice de efeito alelopático (RI), comprimento de parte aérea
 164 (CPA), massa fresca (MF) e massa seca (MS) (Tabela 2).

165 As concentrações utilizadas para todos os tratamentos foram significantes para
 166 demonstrar o efeito inibitório de todos os parâmetros avaliados. Já para a interação das
 167 concentrações com os tratamentos não houve significância apenas para alongamento de raiz e
 168 parte aérea.

169 Ao avaliar as médias dos tratamentos, observa-se para a Gi que plantas sob o estresse da
 170 poda, independente da forma de extração, apresentaram efeito inibitório 35% superior a plantas
 171 com crescimento livre. Destaca-se também os parâmetros de IVG e RI do manejo com poda
 172 que demonstram inibição superior a aproximadamente 21 e 66%. O método de extração aquosa,

173 no manejo com poda, se mostrou superior em comparação com a extração hidroetanólica apenas
174 para a Gf e o RI em 3,5% e 11,4% respectivamente.

175 **Tabela 2.** Resumo da análise de variância e comparativo entre os tratamentos nas diferentes
176 formas de manejo (com e sem poda) de acordo com o método extrativo aquoso (**Aq**) e
177 hidroetanólico (**HE**) sobre bioensaio de *Lactuca sativa* L. cv. Babá de Verão. Para os parâmetros
178 de (**Gi**) germinação inicial com 24hs; (**Gf**) germinação final com 168 horas; (**IVG**) índice de
179 velocidade de germinação; (**RI**) índice de efeito alelopático; (**AR**) Alongamento de raiz (mm);
180 (**CPA**) comprimento da parte aérea (mm); (**MF**) massa fresca (mg); (**MS**) massa seca (mg);
181 (**IM**) índice mitótico. Letras iguais entre os tratamentos não diferem estatisticamente pelo teste
182 de Scott-Knott ($p>0,05$).

Tratamento	Gi	Gf	IVG	RI	AR	PA	MF	MS	IM
Com Poda HE	52,59 c	94,25 b	4,88 b	-0,217 b	5,63 a	7,50 b	177,06 b	22,70 b	7,54 a
Com Poda Aq	55,74 c	90,92 c	4,75 b	-0,245 c	4,81 a	6,99 b	183,35 b	24,17 a	6,70 a
Sem Poda HE	79,26 a	97,41 a	5,99 a	-0,084 a	6,06 a	7,26 b	193,42 a	22,22 b	8,41 a
Sem Poda Aq	71,29 b	98,70 a	5,96 a	-0,095 a	6,49 a	8,64 a	190,21 a	24,25 a	8,91 a
Tratamento (T)	2894,1*	217,4*	8,15*	0,12*	9,34ns	6,50*	957,8**	19,13*	17,1ns
Concentração (C)	13926,2*	573,8*	53,69*	0,43*	1018,8*	115,4*	43553*	27,54*	1781*
TxC	683,9*	156,8*	0,91*	0,02*	6,15ns	2,69ns	1593,3*	4,64*	74,9*
CV%	13,34	4,24	8,09	-23,10	52,64	16226	9,09	3,52	50,1
Resíduo	48	48	48	48	48	48	48	48	48

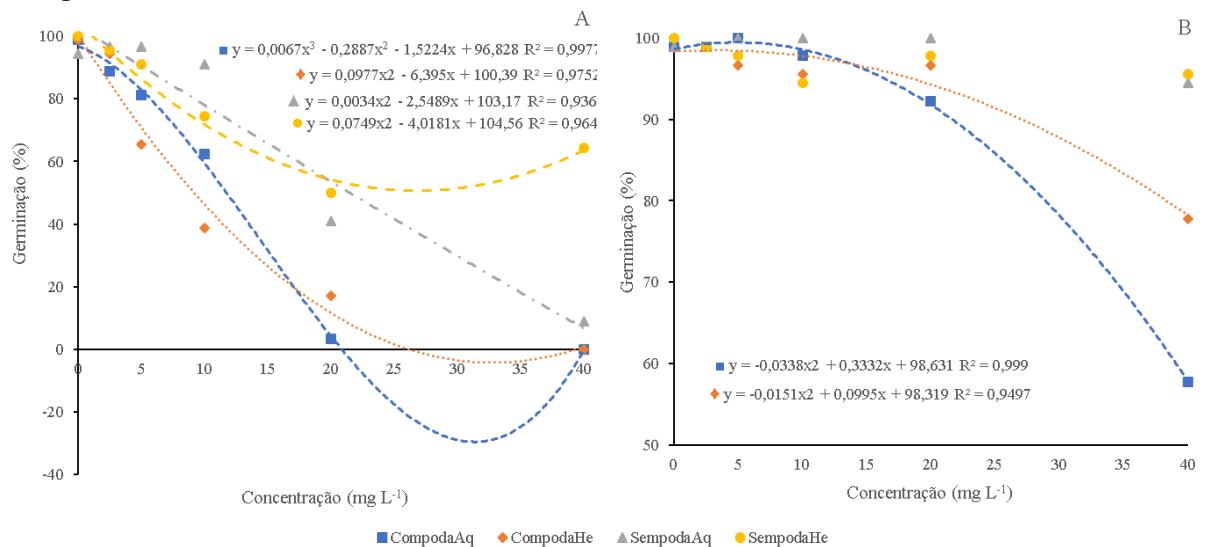
ns, Não significativo a 5%, ** Significativo a 5%, * Significativo a 1% pelo teste F; C.V. (%) - Coeficiente de variação

183 Na Figura 1 observa-se o comportamento da germinação inicial (Gi) com 24 horas e a
184 germinação final (Gf) com 168 horas após exposição de sementes de *L. sativa* aos diferentes
185 tratamentos de extratos de *D. erecta*. Os efeitos fitotóxicos mais acentuados para a Gi (Figura
186 1A) foram causados por extratos de plantas com poda, atingindo inibição de 50% nas
187 concentrações de 12 e 9 mg.ml⁻¹ para extrato aquoso e hidroetanólico. Os mesmos extratos
188 inibem 100% da germinação inicial respectivamente em 21 e 26 mg.ml⁻¹.

189 O efeito inibitório sobre a Gf (Figura 1B) não se mostrou tão efetivo, atingindo uma
190 concentração letal de 50% (CL50) apenas para os extratos de plantas com poda aquoso e
191 hidroetanólico nas concentrações de 43 e 60 mg.ml⁻¹. O extrato aquoso e hidroetanólico de
192 plantas sem poda não apresentaram efeitos significativos de ordem linear, quadrática e cúbica
193 entre as concentrações. Periotto; Perez; Lima, (2004) utilizando extratos aquosos de caules e

194 folhas de *Andira humilis* em bioensaio com *Lactuca sativa* L. Oliveira *et al.*, (2013) verificou
 195 que fitotoxidez *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de extrato acetato-etílico de
 196 folhas de *Solanum cernuum* foi menos pronunciada, ocorrendo redução de cerca de 10% na G
 197 com extrato a 1.000 mg L⁻¹, já *Bidens pilosa* teve redução de 50% na G com uso de extrato a
 198 200 mg L⁻¹. Redução na G foi evidenciada por Hoffmann *et al.*, (2007) em sementes de *Lactuca*
 199 *sativa* e *Bidens pilosa* com extrato aquoso de *Nerium oleander* L.

200 **Figura 1.** Germinação inicial (**Gi**) e germinação final (**Gf**) de sementes de *Lactuca sativa* L.
 201 submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta*
 202 *erecta* com e sem manejo de poda. (A) Gi com 24 horas (B) Gf com 168 horas após plotagem
 203 do experimento.



204

205 De acordo com a Tabela 3 podemos notar que os valores de pH variaram entre 5,2 e 5,6
 206 estando estes valores dentro da faixa de não influencia para a germinação de sementes de *L.*
 207 *sativa*, valores semelhantes foram encontrados por (EBERLEIN, 1987; GATTI; PEREZ;
 208 LIMA, 2004; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Enquanto que o potencial osmótico (PO)
 209 variou entre -0,12 a -0,25 MPa. Segundo Gatti, Perez e Lima (2004), valores da osmolaridade
 210 abaixo de -0,2 MPa não afetam a germinação final de *L. sativa*, enquanto valores de -0,3MPa
 211 permitem a germinação de 33% das sementes. Sendo que os extratos obtidos pelo processo de
 212 extração hidroetanólica apresentaram maior PO, demonstrando a maior capacidade extrativa

213 desse processo, contudo a germinação final desses extratos foram superiores ao relatado por
 214 Gatti, Perez e Lima (2004). Os mesmos autores relatam em seus resultados que os extratos de
 215 *Aristolochia esparanzae* variaram de -0,13 a -0,23 MPa e consideraram que soluções com
 216 potenciais osmóticos próximos de -0,2 MPa não interferiram significativamente na germinação
 217 das sementes de alface, assim o valor máximo do PO encontrado nesse trabalho encontrasse
 218 dentro do limite de tolerância.

219 **Tabela 3.** Características físico-químicas dos extratos de folha de plantas com poda e sem poda
 220 de *Duranta erecta* L. medidos na concentração de 40mg.ml⁻¹.

Extrato	pH	PO (Mpa)
Com poda hidroetanólico	5,2	-0,25
Com poda aquoso	5,37	-0,12
Sem poda hidroetanólico	5,35	-0,25
Sem poda aquoso	5,6	-0,17

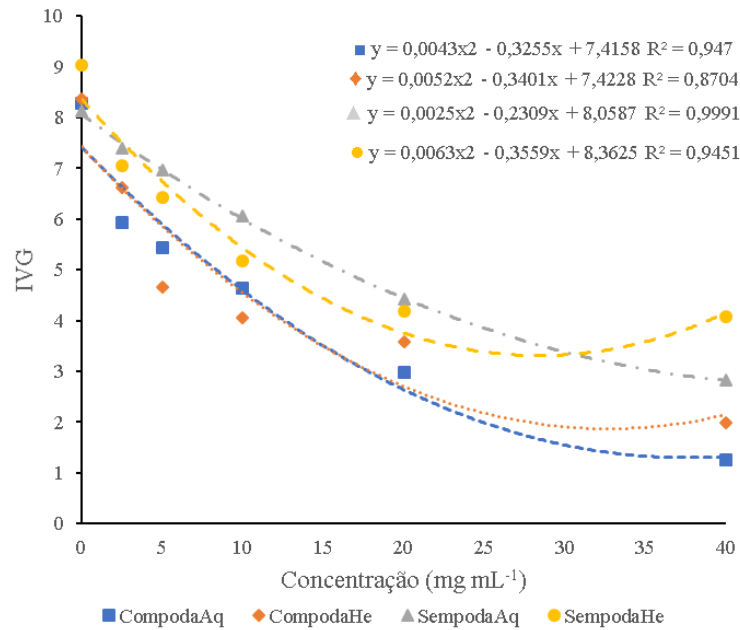
PO, potencial osmótico

221 A maior inibição da germinação foi encontrada para o extrato aquoso com poda, o qual
 222 apresentou o menor PO (-0,12MPa), demonstrando assim que não houve interferência do pH e
 223 do PO sobre a redução na velocidade e percentagem de germinação destas sementes (Figura 1
 224 e) e que tais efeitos tenham acontecido, principalmente, pela presença de substâncias com
 225 atividade alelopática.

226 A Figura 2 demonstra a diminuição na vigorosidade das sementes de *L. sativa* que
 227 tiveram o índice de velocidade de germinação (IVG) significativamente afetada em todas as
 228 concentrações. Sendo que para o extrato aquoso de plantas sem poda essa redução é
 229 significativa apenas a partir da concentração de 5 mg.ml⁻¹ (P<0,05). Enquanto que para os
 230 demais tratamentos a partir da menor concentração esse efeito já é significativo. A maior
 231 concentração causou atraso na germinação para todos os tratamentos das plantas com poda
 232 aquoso (85%), com poda hidroetanólico (77%), sem poda aquoso (66%) e sem poda
 233 hidroetanólico (52%) em relação ao controle. De forma semelhante Tur; Borella; Pastorini,
 234 (2010) em seus experimentos verificaram que a concentração de extratos de folhas de *Duranta*
 235 *erecta* diminuíram proporcionalmente o IVG das sementes de alface e sobre o tomate. Oliveira
 236 *et al.*, (2013) com o estudo de extrato com acetato-etílico de *Solanum cernuum* verificou para
 237 sementes de alface e sorgo que, até a concentração de 500 mg L⁻¹ não ocorrem variações
 238 significativas, no entanto em picão preto, o IVG é reduzido a cerca de 50% com extrato a 145

239 mg L⁻¹. Muitas vezes o efeito alelopático não se manifesta apenas sobre a porcentagem de
 240 germinação, mas, se torna mais evidente sobre a velocidade de germinação Gatti *et al.*, (2007)
 241 tal efeito se torna ainda mais notável sobre o índice de efeito alelopático (Figura 3) e
 242 alongamento de raiz (Figura 4).

243 **Figura 2.** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* L.
 244 submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta*
 245 *erecta* com e sem manejo de poda.

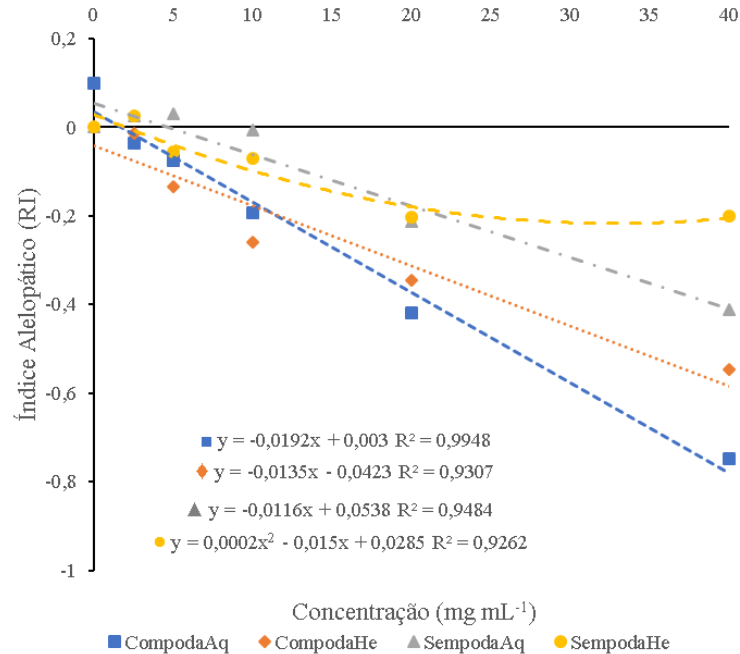


246 Para o índice alelopático (RI) (Figura 3) os extratos das plantas sem poda demonstraram
 247 atividade estimulatória nas menores concentrações, sendo iguais estatisticamente ao controle
 248 ($P < 0,05$). Assim para o extrato aquoso até a concentração de 5 mg.ml⁻¹ houve estímulo e para
 249 o hidroetanólico apenas para a concentração de 2,5 mg.ml⁻¹.

250 Os extratos da planta com poda, já nas menores concentrações, mostraram os menores
 251 valores para RI, ou seja, maior potencial fitotóxico. A inibição mais pronunciada foi observada
 252 para extrato aquoso com poda chegando a 75% para concentração de 40mg.ml⁻¹. Essa mesma
 253 concentração se mostrou 20% maior que o extrato hidroetanólico da mesma planta. Da mesma
 254 forma foi encontrado efeito inibitório sobre as sementes de rabanete, em todas as concentrações
 255 de extrato de *Schinus molle* (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011). GAO *et al.*,

256 (2009) demonstra que o mesmo extrato pode exercer estímulo e inibição de acordo com a
 257 concentração e a planta alvo.

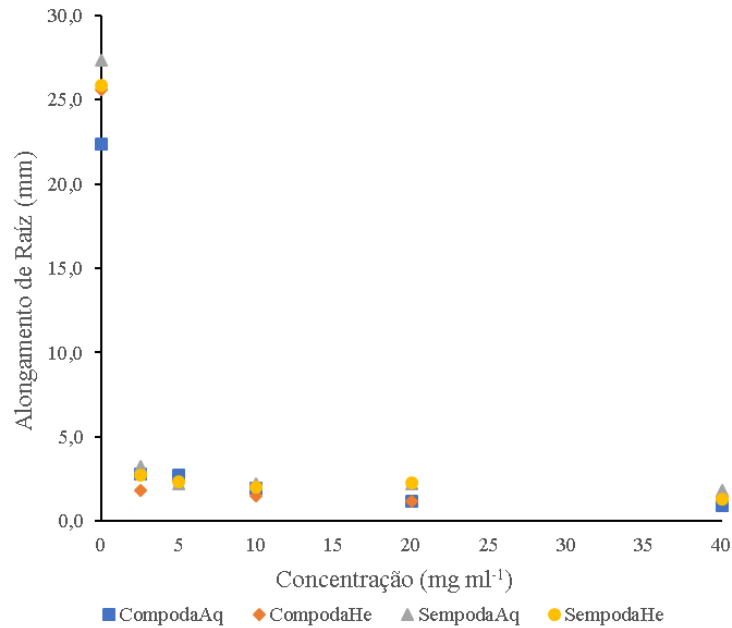
258 **Figura 3.** Índice de Efeito Alelopático (RI) de sementes de *Lactuca sativa* L. submetidas a
 259 diferentes concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta erecta* com e
 260 sem manejo de poda.



261 Para o Alongamento de raiz (AR), na Figura 4, nenhum dos modelos de regressão, seja
 262 de ordem linear, quadrática e cúbica aplicados foram representativos para a análise das
 263 concentrações. Sendo que todos os tratamentos não diferiram entre si (Tabela 2) nem as
 264 concentrações (2,5; 5; 10; 20 e 40 mg.ml⁻¹) apresentaram resultados estatisticamente iguais.
 265 Porém, todas essas concentrações diferiram do controle (P<0,05). Assim, a partir da
 266 concentração 2,5mg.ml⁻¹ a diminuição do AR foi da ordem de 90% para todos os extratos e a
 267 40 mg.ml⁻¹ foi de 95% também para todos os tratamentos. Hoffmann *et al.*, (2007) afirma que
 268 que o sistema radicular é mais sensível à ação dos aleloquímicos, pois seu alongamento depende
 269 de divisões celulares que, se inibidas comprometem o seu desenvolvimento normal. Fato esse
 270 que corrobora com os dados verificados para o índice mitótico na Figura 7. Outros experimentos
 271 relatam que baixas concentrações de extratos de raízes de plantas jovens de *Eucalyptus grandis*
 272 exercem efeitos estimulatórios sobre a radícula de rabanete e feijão (ZHANG et al., 2010).

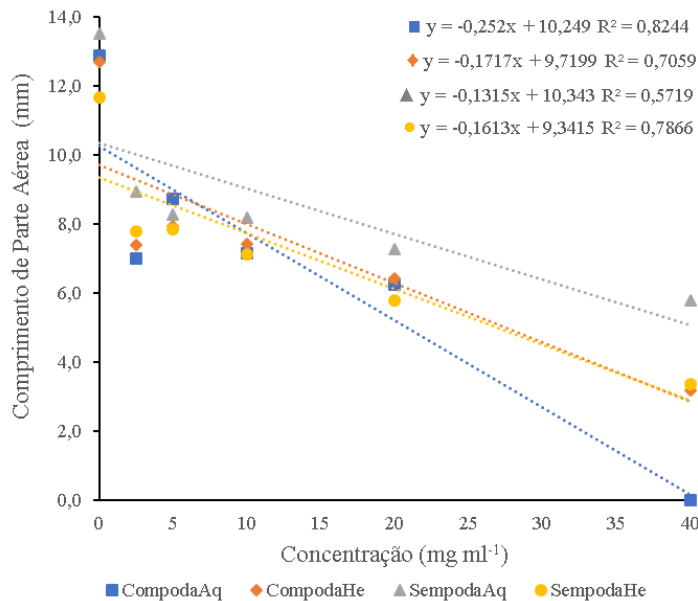
273 Oliveira *et al.*, (2013) relatou que o comprimento de raiz de *L. sativa* foi menos sensível ao
 274 extrato acetato-etílico de *Solanum cernuum*, enquanto *Sorghum bicolor L.* e *Bidens pilosa L.*
 275 tiveram seu sistema radicular intensamente afetados nas em todas as concentrações.

276 **Figura 4.** Alongamento de Raiz (AR) de sementes de *Lactuca sativa L.* submetidas a diferentes
 277 concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta erecta* com e sem
 278 manejo de poda.



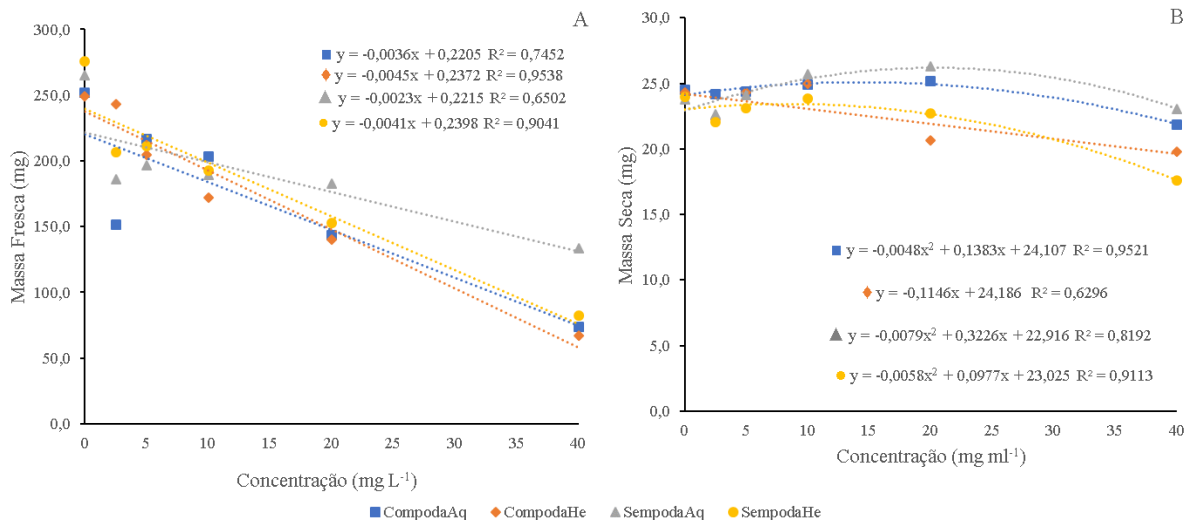
279 O comprimento de parte aérea (CPA) de *L. sativa* foi reduzido para todos os tratamentos
 280 (Figura 5). Para plantas com poda, ambas formas de extração inibiram o crescimento a partir
 281 da menor concentração. Destacando-se a concentração de 40 mg.ml⁻¹, do extrato aquoso que
 282 levou a inibição total da parte aérea. Enquanto que o extrato hidroetanólico a concentração de
 283 40 mg.ml⁻¹ reduziu a parte aérea em 75%. Comportamento semelhante foi verificado para as
 284 plantas sem poda, onde todas as concentrações diferem do controle, sendo a de 40 mg.ml⁻¹
 285 possui inibição mais evidente para extrato aquoso (57%) e hidroetanólico (71%). Esse baixo
 286 desenvolvimento da parte aérea observado pode ser uma das consequências da pequena
 287 formação do sistema radicular das plântulas, o que pode comprometer todo o resto do
 288 desenvolvimento das plântulas.

289 **Figura 5.** Comprimento de Parte Aérea (CPA) de sementes de *Lactuca sativa* L. submetidas a
 290 diferentes concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta erecta* com e
 291 sem manejo de poda.



292 A Figura 6 demonstra o comportamento da massa fresca e seca de plântulas de *L. sativa*.
 293 Pode ser observado que a diminuição no peso acompanha o mesmo comportamento
 294 concentração dependente, como observado para o CPA. Já o AR por não possuir diferença
 295 significativa entre as concentrações não influenciou muito na massa final das plântulas de
 296 alface.

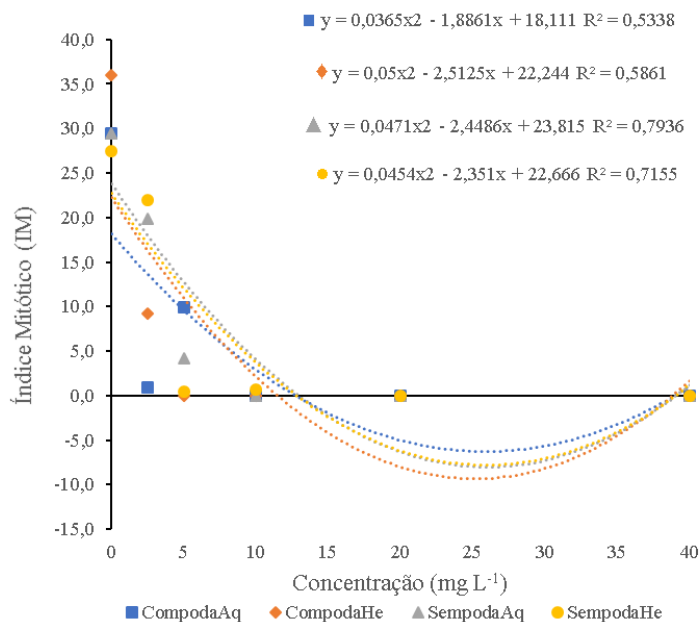
297 **Figura 6.** Massa fresca (MF) e Massa seca (MS) de sementes de *Lactuca sativa* L. submetidas
 298 a diferentes concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta erecta*
 299 e sem manejo de poda.



300 A concentração de 40mg.ml⁻¹ provocou a maior inibição na massa fresca (Figura 6 A)
 301 para todos os extratos, sendo que extrato de plantas sob estresse da poda reduziu em 71%
 302 (aquoso) e 74% (hidroetanólico) enquanto os extratos das plantas com crescimento livre
 303 reduziram em 48% (aquoso) e 68% (hidroetanólico). Alterações na massa seca (Figura 6 B)
 304 foram mais evidentes para as maiores concentrações de 20 e 40 mg.ml⁻¹ para todos os
 305 tratamentos.

306 O índice mitótico (IM) foi bruscamente reduzido para todos os tratamentos, sendo que na
 307 menor concentração de 2,5 mg.ml⁻¹ a inibição da divisão celular chegou a 97% (com poda
 308 aquoso), 70% (com poda hidroetanólico), 35 % (sem poda aquoso) e 28% (sem poda
 309 hidroetanólico) (Figura 7). Tais resultados estão diretamente relacionados com o alongamento
 310 de raiz (Figura 4) que foi intensamente afetado. A contar da concentração de 10 mg.ml⁻¹ não foi
 311 mais possível observar divisão celular, exceto para o extrato hidroetanólico de plantas sem poda
 312 que apresentaram 0,67% de índice mitótico, nessa concentração. Reduzindo para 0 “zero” a
 313 partir da concentração de 20 mg.ml⁻¹

314 **Figura 7.** Índice Mitótico (IM) de sementes de *Lactuca sativa* L. submetidas a diferentes
 315 concentrações de extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *Duranta erecta* com e sem
 316 manejo de poda.



317 Os efeitos da citotoxicidade podem ser constatados pelo fenômeno da inibição da divisão
318 celular. O índice mitótico é usado como indicador de proliferação adequada das células
319 (PASTORI et al., 2015). A partir disso pode-se afirmar que plantas sob o estresse da poda,
320 podem ativar mecanismos e vias metabólicas que levam ao aumento do efeito fitotóxico e da
321 interação alelopática. Sousa e Sousa (2017), afirmam em seus estudos que o estresse hídrico
322 em plantas leva a um acúmulo de metabólitos secundários em seus tecidos e esse acúmulo se
323 mostrou um importante mecanismo evolutivo. Da mesma forma Kong; Hu; Xu, (2002)
324 verificaram que *A. conyzoides* podem produzir mais aleloquímicos voláteis sob condições
325 adversas de deficiência de nutrientes, competição com *B. pilosa*, infecção por *E. cichoracearum*
326 e por *A. gossypii*. Já para o dano físico e o tratamento com 2,4-D observaram não afetar o
327 potencial alelopático de *A. conyzoides*. Já para *D. erecta*, do presente estudo, observou que a
328 prática da poda, semelhante ao dano físico, foi estimulatória no efeito alelopático.

329

CONCLUSÃO

330 Todos os tratamentos demonstram que as folhas de *Duranta erecta* L. são potencialmente
331 fitotóxicas, com efeito alelopático sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa* L.

332

333

Os resultados demonstraram que o extrato aquoso de plantas com poda possui seu efeito
fitotóxico amplificado em comparação com plantas sem poda.

334

335

336

337

O extrato aquoso de folhas de *Duranta erecta* L. apresentou maior efeito inibitório para
os parâmetros de germinação final e o índice de efeito alelopático. Para o mesmo extrato os
efeitos mais efetivos se mostraram em menor concentração. Sendo assim, esse processo se torna
mais interessante devido ao seu baixo custo, velocidade e facilidade de obtenção.

338

AGRADECIMENTOS

339

340

341

342

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. A FAPEMIG pelo
fomento à pesquisa pelo APQ-01250-18. Ao CNPq e a Universidade Federal de Alfenas,
UNIFAL-MG.

REFERÊNCIAS

- 343
- 344 ABOU-SETTA, L. M.; NAZIF, N. M.; SHAHAT, A. A. Phytochemical Investigation and Antiviral
345 Activity of *Duranta repens*. v. 3, n. 11, p. 1426–1433, 2007.
- 346 AHMAD, N. et al. Repenins A-D, four new antioxidative coumarinolignoids from *Duranta repens*
347 Linn. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 13, p. 3521–3524, 2009.
- 348 AHMAD, S. et al. A new steroid from *Duranta repens*. **Fitoterapia**, v. 69, n. 5, p. 448–450, 1998.
- 349 AHMED, W. S. et al. New triterpene saponins from *duranta repens* linn, and their cytotoxic activity.
350 **Molecules**, v. 14, n. 5, p. 1952–1965, 2009.
- 351 ALBUQUERQUE, M. B. et al. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A
352 review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n. 2, p. 379–395, 2011.
- 353 ALVES, E. C. et al. Fotossíntese, transpiração e condutância estomática de plantas de pimentão
354 submetidas a diferentes doses de N. In: **Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica**. [s.l.:
355 s.n.].
- 356 ALVES, E. S. et al. Biomonitoramento indoor do potencial mutagênico do ar em laboratórios e
357 herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. **Hoehnea.**, v. 30, n. 2, p. 89–94,
358 2003.
- 359 ALVES, S. M.; SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: (Eds). . In: SOUZA
360 FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Eds.). . **Alelopatia princípios básicos e aspectos gerais**. Belém, Bra
361 ed. [s.l.] Embrapa Amazônia Orienta, 2002. p. 25–48.
- 362 BARBOSA, E. G.; PIVELLO, V. R.; MEIRELLES, S. T. Allelopathic evidence in *Brachiaria*
363 *decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of Biology and**
364 **Technology**, v. 51, n. 4, p. 825–831, 2008.
- 365 BASTOS, D. H. M. et al. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex*).
366 **Molecules**, v. 12, p. 423–432, 2007.
- 367 BASTOS, R. G. et al. Chemical characterization and antimicrobial activity of hydroethanolic crude
368 extract of *Eugenia florida* DC (Myrtaceae) leaves. **International Journal of Pharmacy and**
369 **Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 6, p. 110–115, 2016.
- 370 BATISTA, T. M. V. **Fotossíntese e condutância estomática de tomate SM-16 e mariana**
371 **cultivados com diferentes tipos de cobertura do solo**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal
372 Rural do Semiárido (Agronomia, Área de concentração: Fitotecnia). Mossoró – RN, 2011.
- 373 BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z. Atividade alelopática de extratos de folhas
374 de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. **Revista Brasileira de**
375 **Biociências**, v. 9, n. 3, p. 521–525, 2011.
- 376 BOVANOVA, L.; BRANDŠTETEROVA, E.; BAXA, S. HPLC determination of stevioside in plant
377 material and food samples. **Zeitschrift for Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v. 207, n.
378 5, p. 352–355, 1998.
- 379 BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, Volume 2**. 5ª ed. Brasília: 2010, 2010. v. 1
- 380 BURIOL, L. et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma
381 alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 296–302, 2009.
- 382 CALLAWAY, R. M.; INDERJIT. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and Soil**,
383 v. 256, n. 1, p. 1–11, 2003.
- 384 CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para**
385 **farmácia magistral**. São Paulo: Pharmabooks, 2009.

- 386 CHIAPUSIO, G. et al. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the
387 germination process ? **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 11, p. 2445–2453, 1997.
- 388 CHON, S.-U.; NELSON, C. J. Allelopathy in Compositae plants . A review To cite this version :
389 Review article. **Agronomy Journal**, v. 30, n. 2, p. 349–358, 2010.
- 390 CHON, S. U.; JENNINGS, J. A.; NELSON, C. J. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) autotoxicity: Current
391 status. **Allelopathy Journal**, v. 18, n. 1, p. 1–24, 2006.
- 392 CHUNG, I. M.; HAHN, S. J.; AHMAD, A. Confirmation of potential herbicidal agents in hulls of
393 rice, *Oryza sativa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6, p. 1339–1352, 2005.
- 394 CORRÊA, P. G. et al. HERBIVORIA E ANATOMIA FOLIAR EM PLANTAS TROPICAIS
395 BRASILEIRAS Priscila. **Scientia**, v. 06, n. 19, p. 85–106, 2008.
- 396 CORREIA, N. M.; CENTURION, M. A. P. D. C.; ALVES, P. L. D. C. A. Influência de extratos
397 aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, v. 35,
398 p. 498–503, 2005.
- 399 DE ALMEIDA, G. D. et al. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista**
400 **Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237–4247, 2008.
- 401 DOS SANTOS, S. C. et al. Genotypeselection for plant bioassays using *Lactuca Sativa* L. and *Allium*
402 *Cepa* L. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, n. 6, p. 2201–2212, 2017.
- 403 DUKE, S. O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed**
404 **Research**, v. 40, n. 1, p. 99–111, 2000.
- 405 DUKE, S. O. Proving Allelopathy in Crop–Weed Interactions. **Weed Science**, v. 63, n. SP1, p. 121–
406 132, 2015.
- 407 EBERLEIN, C. V. Germination of *Sorghum alnum* Seeds and Longevity in Soil. **Weed Science**, v.
408 35, n. 6, p. 796–801, 1987.
- 409 FAR, M. H.; BAGHERZADEH, A. Assessing Allelopathic Index for Estimating Allelopathic potential
410 of Ajowan Extracts. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 21, n. 2, p. 165–172, 2018.
- 411 FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alellopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology. **Revista**
412 **Brasileira De Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Vii, p. 175–204, 2000.
- 413 FERREIRA, D. F. Sisvar : A Guide for Its Bootstrap Procedures in Multiple Comparisons Sisvar : um
414 guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n.
415 2000, p. 109–112, 2014.
- 416 FILHO, A. J. C. et al. TRITERPENOIDES, FENÓLICOS E EFEITO FITOTÓXICO DAS FOLHAS
417 DE ' *flavescens* DC (*Myrtaceae*). **Química Nova Nova**, v. 40, n. 3, p. 252–259, 2016.
- 418 FILHO, A. L. M. et al. Potencialidade Alelopática De Oaca (*Eupatorium Laevigatum* Lam .) Sobre
419 Alface (*Lactuca Sativa* L .). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n.
420 2, p. 29–36, 2013.
- 421 FOSSEN, T. et al. Anthocyanins from a Norwegian potato cultivar. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p.
422 433–437, 2003.
- 423 GAO, X. et al. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata* on the germination and growth of wheat,
424 sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. **Weed Biology and Management**, v. 9, n. 3, p. 243–249,
425 2009.
- 426 GATTI, A. B. et al. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de
427 Cerrado . **Revista Brasileira de Biociências**, p. 174–176, 2007.
- 428 GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de

- 429 Aristolochia esperanzae O. Kuntze na germinação e no crescimento de Lactuca sativa L. e Raphanus
430 sativus L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- 431 GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de
432 metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.
- 433 GONÇALVES, T. S. Interações ecológicas e evolutivas entre: plantas, herbívoros e seus inimigos
434 naturais. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 03, p. 1–9, 2015.
- 435 GUSMAN, G. S.; COUTO, A. H.; VESTENA, B. E S. Alelopatia de extratos aquosos de *Bacharis*
436 *dracunculifolia* DC. sobre a germinação e crescimento de *Raphanus sativus* L. e de *Citrullus lantanus*
437 (THUNB.) M. & N. **Revista Brasileira da FAMINAS**, v. 3, n. 1, p. 2007, 2008.
- 438 HARDIN, J. W.; ARENA, J.; DURHAM, N. Human Poisoning from Native and Cultivated Plants.
439 **Duke University Press**, p. 1969, 1969.
- 440 HEMAVATHY J, A. T. A study on larvicidal assay on *Duranta Repens* Linn . and *Vitex Negundo*
441 Linn . against *Culex Quinquefasciatus* say. **International Journal of Advanced Science and**
442 **Research**, v. 1, n. December 2015, p. 18–20, 2016.
- 443 HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G. et al. Allelopathic Action of *Cecropia pachystachya* Extracts on
444 the Growth of Guinea Grass (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 763–769, 2007.
- 445 HIRADATE, S. et al. Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*. **Phytochemistry**,
446 v. 52, n. 7, p. 1223–1228, 1999.
- 447 HOFFMANN, C. E. F. et al. Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L . e *Dieffenbachia picta*
448 schott em sementes de *Lactuca Sativa* L . e *Bidens pilosa* L . **Revista de Ciências Agroveterinárias**,
449 v. 6, n. 1, p. 11–21, 2007.
- 450 IAS. **International Allelopathy Society (IAS). What is Allelopathy?** Disponível em:
451 <<http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>>. Acesso em: 27 fev. 2019.
- 452 IJAZ, F. et al. Two new anti-plasmodial flavonoid glycosides from *Duranta repens*. **Journal of**
453 **Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 773–778, 2010.
- 454 INDERJIT et al. Phytotoxic effects of (±)-Catechin In vitro, in soil, and in the field. **PLoS ONE**, v. 3,
455 n. 7, 2008.
- 456 INDERJIT; WESTON, L. A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field
457 responses? **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2111–2118, 2000.
- 458 JATOBÁ, L. DE J.; GUALTIER, S. C. J. **Compostos com potencial alelopático em *Aristolochia***
459 ***esperanzae* O. Kuntze.** [s.l: s.n.].
- 460 JUSTESEN, U. Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision activation
461 mass spectrometry for the characterisation of flavonoids in extracts of fresh herbs. **Journal of**
462 **Chromatography A**, v. 902, n. 2, p. 369–379, 2000.
- 463 KAPINGUA, M. C. et al. Diterpenoids from the roots of *Croton macrostachys*. **Phytochemistry**, v.
464 54, n. 14, p. 767–770, 2000.
- 465 KAUR, H. et al. Taking ecological function seriously: Soil microbial communities can obviate
466 allelopathic effects of released metabolites. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, p. 1–6, 2009.
- 467 KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: 2ed, 2008.
- 468 KHAN, M. A. et al. ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF *DURANTA REPENS* (LINN.) FRUITS
469 AGAINST H₂O₂ INDUCED CELL DEATH INVITRO. **Afr J Tradit Complement Altern Med.**, v.
470 10, p. 436–441, 2013.
- 471 KOBAYASHI, W. et al. Tetrasaccharide multi-esters and xanthone glycosides from the roots of

- 472 Polygala wattersii. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 8, p. 1121–1126, 2000.
- 473 KONG, C.; HU, F. E. I.; XU, X. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from
474 *Ageratum conyzoides* under stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 6, p. 1173–1182, 2002.
- 475 KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion**
476 **in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 246–251, 2011.
- 477 LANNANG, A. M. et al. Antioxidant benzophenones and xanthenes from the root bark of *Garcinia*
478 *smearmannii*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 20, n. 2, p. 247–252, 2006.
- 479 LEÓN-GONZÁLEZ, A. J. et al. Chemo-protective activity and characterization of phenolic extracts
480 from *Corema album*. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 728–738, 2012.
- 481 LIU, X. et al. Isolation and Identification of Potential Allelochemicals from Aerial Parts of *Avena*
482 *fatua* L. and Their Allelopathic Effect on Wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.
483 64, n. 18, p. 3492–3500, 2016.
- 484 LUKHITWITAYAWUID, K. et al. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of. **Journal**
485 **of Natural Products**, v. 56, n. 1, p. 1468–1478, 1993.
- 486 MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic
487 bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food**
488 **Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512–2521, 2000.
- 489 MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na
490 germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n.
491 1, p. 61–69, 2006.
- 492 MATSUMOTO, R. S. et al. Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae).
493 **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631–635, 2010.
- 494 MEINERS, S. J. et al. Developing an ecological context for allelopathy. **Plant Ecology**, v. 213, n. 12,
495 p. 1861–1867, 2012.
- 496 MORITA, H. et al. Cephalozomines A-F, Potent Cytotoxic Alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia*
497 var. *nana*. **Tetrahedron**, v. 56, n. 27, p. 2929–2934, 2000.
- 498 MORITA, H.; YOSHINAGA, M. Cephalozomines G, H, J, K, L, and M, new alkaloids from
499 *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana*. **TETRAHEDRON**, v. 58, p. 5489–5495, 2002.
- 500 NIKKON, F. et al. Antishigellosis and Citotoxic Potency of Crude Extracts and Isolated Constituents
501 from *Duranta repens*. **The Korean Society of Mycology**, v. 36, n. 3, p. 173–177, 2008.
- 502 NIKKON, F. et al. Larvicidal effects of stem and fruits of *Duranta repens* against the mosquito *Culex*
503 *quinquefasciatus*. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 4, p. 1709–1713, 2009.
- 504 NOVAES, P. et al. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry**
505 **Reviews**, v. 12, n. 4, p. 839–855, 2013.
- 506 OGBUAGU, A. S. et al. Quantitative Determination of Some Secondary Metabolites and the Anti
507 Bacterial Effects of the Leave Extracts of *Duranta erecta*. **American Journal of Biomedical Science**
508 **and Engineering**, v. 1, n. 5, p. 8287, 2015.
- 509 OGUNSUSI, M. et al. Allelopathic effects of alkaloid fraction of *Crotalaria retusa* Linn on growth and
510 some biochemical parameters of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). **International Journal of Plant**
511 **Physiology and Biochemistry**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2018.
- 512 OLIVEIRA, L. G. A. et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum*
513 *cernuum* Vell. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 44, n. 3, p. 538–543, 2013.
- 514 PASCHOLATI, S. F. Mecanismo de resistência das plantas a fitopatógenos. In: MARIATH, J. E. A.;

- 515 SANTOS, R. P. (Eds.). . **Os Avanços da Botânica no Início do Século XXI: morfologia, fisiologia,**
516 **taxonomia, ecologia e genética.** [s.l.] Sociedade Botânica do Brasil, 2006. p. 656–659.
- 517 PASTORI, T. . B et al. Genotoxic and antiproliferative action of polygonum punctatum ellioti
518 (Polygonaceae) on the cell cycle of allium cepa L [Ação genotóxica e antiproliferativa de Polygonum
519 punctatum Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de Allium cepa L]. **Revista Brasileira de**
520 **Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 186–194, 2015.
- 521 PATRA, A. et al. The protoberberine alkaloids of Stephania suberosa. **Phytochemistry**, v. 26, n. 2, p.
522 547–549, 1987.
- 523 PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios
524 antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. November, p. 146–152, 2012.
- 525 PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de Andira humilis Mart. ex
526 Benth na germinação e no crescimento de Lactuca sativa L. e Raphanus sativus L. **Acta Botanica**
527 **Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- 528 PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. POTENCIAL ALELOPÁTICO DE Mimosa
529 caesalpinaefolia Benth SOBRE SEMENTES DE Tabebuia alba (Cham.) Sandw. **Floresta e**
530 **Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 130–136, 2001.
- 531 PIRES, M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: J, R. S. O. (Ed.). . **Biologia e Manejo de Plantas**
532 **Daninhas.** [s.l: s.n.]. p. 95–124.
- 533 POWLES, S. B.; YU, Q. **Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides.** [s.l: s.n.]. v. 61
- 534 PURI, A. V. Duranta repens linn . (verbenaceae): a comprehensive review of pharmacognostic ,
535 ethnomedicinal , pharmacological , and phytochemical aspects. **Asian Journal of Pharmaceutical and**
536 **Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91–96, 2018.
- 537 QIU, S.-X. et al. Isolation and Characterization of Flaxseed (Linum usitatissimum) Constituents.
538 **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 1, p. 1–7, 2003.
- 539 REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629–646,
540 2013.
- 541 REZENDE, F. P. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Aplicação de extratos de
542 folhas e tubérculos de Cyperus rotundus L. e de auxinas sintéticas na estaquia caulinar de Duranta
543 repens L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 639–645, 2014.
- 544 RIBEIRO, L. D. O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [Stryphnodendron
545 adstringens (Mart .) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n.
546 2, p. 220–225, 2012.
- 547 RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater
548 treatment. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4311–4340, 2011.
- 549 RODRIGUES, L. C. DE A. et al. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego
550 urbano em bioensaio com Lactuca sativa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**,
551 v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.
- 552 ROY, S. et al. Aqueous extracts of Duranta repens (Verbenaceae) as an alternative to control tea red
553 spider mite, Oligonychus coffeae (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Tropical Insect**
554 **Science**, v. 36, n. 2, p. 82–90, 2016.
- 555 SALAMA, M. et al. Repennoside – A new iridiod glucoside from Duranta repens fruits. **J Pharm Sci**,
556 v. 8, p. 212–21, 1992.
- 557 SANTOS, S. et al. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de
558 calopogônio (Calopogonium mucunoides) utilizando eletroforese capilar. **Ecletica Quimica**, v. 36, n.

- 559 2, p. 51–68, 2011.
- 560 SANTOS, S.; REZENDE, M. O. O. Avaliação Do Potencial Herbicida De Compostos Secundários Na
561 Germinação De Sementes De Plantas Daninhas Encontradas Em Pastagens. **Revista Analytica**, n. 32,
562 p. 72–78, 2008.
- 563 SASAMOTO, H.; FUJII, Y.; ASHIHARA, H. Effect of purine alkaloids on the proliferation of lettuce
564 cells derived from protoplasts. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 5, p. 69–72, 2015.
- 565 SCANLAN, S. *Duranta erecta* poisoning in nine dogs and a cat. **Australian Veterinary Journal**, v.
566 84, n. 10, p. 367–370, 2006.
- 567 SCHOCK, A. A. **Características fisiológicas e anatômicas de pinhão manso conduzidos em**
568 **diferentes condições de luminosidade**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal de Pelotas,
569 Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Pelotas., 2012.
- 570 SCOGNAMIGLIO, M. et al. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on
571 Mediterranean biomes. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 803–830, 2013.
- 572 SHAHAT, A. A. et al. Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of *Duranta repens*.
573 **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 11, p. 1071–1073, 2005.
- 574 SHARMA, P. et al. Phytochemical analysis and antifungal potential of *Duranta erecta* against some
575 phytopatogenic fungi. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and**
576 **Research**, v. 3, n. 08, p. 2686–2689, 2012.
- 577 SIKARWAR, M. et al. Evaluation of *Duranta repens* for its antifungal potential. **International**
578 **Journal of Medicinal Plants**, v. 106, n. January, p. 390–395, 2014.
- 579 SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e
580 toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29–36, 2013.
- 581 SINGH, H. et al. Durantol - a phytosterol antifungal contributor from *Duranta repens* Linn. For
582 organic Management of Sorghum Downy Mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n.
583 3, p. 671–682, 2016.
- 584 SOUSA, R. F. DE; SOUSA, J. A. DE. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas
585 funções nos tecidos vegetais Secondary metabolics associated with water stress and its functions on
586 vegetable tissues. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2017.
- 587 SOUTO, J. S. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de moringa na germinação e no
588 crescimento inicial da alface. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 19, n. 10, p. 5771–5779,
589 2015.
- 590 SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em
591 estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. **Planta**
592 **Daninha**, v. 28, n. 3, p. 689–697, 2010.
- 593 SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Embrapa
594 Am ed. Belém: Embrapa, 2002.
- 595 STANTON, M. A. **Respostas a herbivoria em *Asclepias cursassavica* (Apocynaceae):**
596 **Asclepiadoideae): defender, crescer ou reproduzir**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, São
597 Paulo, 2008.
- 598 SUBRAMANIAN, S.; NAIR, A. Scutellarein and pectolinarigenin from the leaves of *Clerodendron*
599 *phlomides* and *Duranta repens*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 3095–6, 1972.
- 600 SUBSONGSANG, R.; JIRAUNGKOORSKUL, W. An updated review on phytochemical properties
601 of “Golden Dewdrop” *Duranta erecta*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 10, n. 20, p. 2016–2018, 2016.

- 602 TAKATA, W. H. S.; SILVA, E. G. DA; BARDIVIESSO, D. M. Enraizamento de estacas de *Duranta*
603 *repens* linn “aurea” em função de doses de IBA. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 21,
604 n. 1, p. 1–9, 2012.
- 605 TAKEDA, Y. et al. Iridoid glucosides from the leaves and stems of *Duranta erecta*. **Phytochemistry**,
606 v. 39, n. 4, p. 829–833, 1995.
- 607 TREZZIA, M. M. et al. Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. **Journal**
608 **of Plant Interactions**, v. 11, n. 1, p. 53–60, 2016.
- 609 TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens*
610 sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**,
611 v. 27, n. 3, p. 23–32, 2010.
- 612 VYVYAN, J. R. Allelochemicals as lead for new herbicides and agrochemicals. **TETRAHEDRON**,
613 v. 58, n. 599, p. 1631–1646, 2002.
- 614 WANG, J. I. A. et al. FLAVONOIDS FROM *BIDENS PILOSA* VAR. *RADIATA*. **Phytochemistry**,
615 v. 28, p. 7–10, 1997.
- 616 WILLIAMSON, B. G.; RICHARDSON, D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses
617 with independent controls. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 1, p. 181–187, 1988.
- 618 WINK, M. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. **Planta**, p. 365–368, 1983.
- 619 WINK, M. Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary
620 Metabolites. In **Annual Plant Reviews online**, J. A. Roberts (Ed.), 2018.
- 621 WINK, M.; LATZ-BRUNING, B. Allelopathic properties of alkaloids and other natural products. In:
622 **Allelopathy: Organisms, processes, and applications**. American C ed. [s.l: s.n.].
- 623 XIE, L. J. et al. Allelochemical mediated invasion of exotic plants in China. **Allelopathy Journal**, v.
624 25, n. 1, p. 31–50, 2010.
- 625 XUAN, T. D. et al. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant
626 allelopathy: An overview. **Crop Protection**, v. 24, n. 3, p. 197–206, 2005.
- 627 YOUSEF, F WAHBA KHALII, S K, PAPPAS, S. P. Separation and characterization of a new
628 alkaloid from the fruit of *Duranta repens*. **Bd.**, p. 173–175, [s.d.].
- 629 ZHANG, T. T. et al. The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic
630 *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 1, p. 71–77, 2010.
- 631 ZHAO, M. et al. Seven quassinoids from fructus *bruceae* with cytotoxic effects on pancreatic
632 adenocarcinoma cell lines. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 12, p. 1796–1800, 2011.
- 633
- 634

ARTIGO II: Alterações fisiológicas de liofilizado hidroetanólico de pingo de ouro (*Duranta erecta* L.) sobre Berinjela (*Solanum melongena* L.).

AUTORES: João Vitor Calvelli Barbosa, Daniela Vilas Boas Braga, Pâmela Ingrid Alves, Josiele Silva, Valdir Veroneze Junior, Geraldo Alves da Silva, Thiago Correia de Souza, Sandro Barbosa.

1
2 **Alterações fisiológicas e morfológicas promovidas por extrato hidroetanólico**
3 **de pingo de ouro (*Duranta erecta* L.) sobre berinjela (*Solanum melongena* L.).**

4
5 **Physiological and morphological changes promoted by Golden Dewdrop**
6 **(*Duranta erecta* L.) hydroethanolic extract on eggplant (*Solanum melongena* L.).**

7
8
9 **RESUMO** – *Duranta erecta* L. (Verbenaceae) é uma planta arbustiva amplamente cultivada
10 em paisagismo urbano e residencial. Seus compostos são amplamente estudados e é conhecido
11 possuir atividades alelopáticas. Porém, seus mecanismos de interferência na interação
12 planta/planta são inexistentes. Diferentes características fisiológicas e morfológicas de *Solanum*
13 *melongena* L. foram analisadas após serem expostas a extratos hidroetanólicos de folhas de *D.*
14 *erecta*. Em baixa concentração houve um incremento significativo de 7,27% na fotossíntese
15 líquida, de 77% na condutância estomática e de 55% na transpiração. Enquanto que a
16 concentração interna de carbono aumentou 16% e 19,37% para as concentrações de 10 e 30
17 mg.ml⁻¹. Reduções foram observadas para a concentração de 30 mg.ml⁻¹ levando a danos da
18 ordem 70,4 % na fotossíntese líquida, de 56% na condutância estomática, de 38,5% na
19 transpiração, 30,8% no teor relativo de clorofila, 34% no comprimento de raiz e 17% na massa
20 seca. O potencial hídrico foi reduzido em 25,6 e 59 % para ambas as concentrações,
21 respectivamente para 10 e 30 mg.ml⁻¹. Severos danos sobre o sistema radicular foram
22 observados, causando necrose e morte das raízes.

23 **Palavras-chave:** Pingo-de-ouro. Alelopatia. Fotossíntese. Efeito alelopático.

24
25 **ABSTRACT** – *Duranta erecta* L. (Verbenaceae) a shrub plant widely cultivated in urban and
26 residential landscaping. Their compounds are widely studied and it is known to possess
27 allelopathic activity. However, its mechanisms of interference in plant / plant interaction are
28 non-existent. Different physiological and morphological characteristics of *Solanum melongena*
29 L. were analyzed after being exposed to hydroethanolic extracts of leaves of *D. erecta*. At low
30 concentration there was a significant increase of 7.27% in liquid photosynthesis, 77% in

31 stomatal conductance and 55% in transpiration. While the internal carbon concentration
32 increased by 16% and 19.37% for the concentrations of 10 and 30 mg.ml⁻¹. Reductions were
33 observed for the concentration of 30 mg.ml⁻¹ leading to damages of 70.4% in liquid
34 photosynthesis, 56% in stomatal conductance, 38.5% in transpiration, 30.8% in the relative
35 chlorophyll content, 34% in root length and 17% in dry mass. The water potential was reduced
36 by 25.6 and 59% for both concentrations, respectively, for 10 and 30 mg.ml⁻¹. Severe damage
37 on the root system was observed, causing root necrosis and death.

38 **Key words:** Golden Dewdrop. Allelopathy. Photosynthesis. Allelopathic effect.

39
40
41

42 INTRODUÇÃO

43 Durante o processo evolutivo, as plantas desenvolveram complexos mecanismos de
44 defesa, seja para a competição planta/planta, através dos aleloquímicos, ou como meio de
45 prevenção à herbívora e a colonização por microrganismos patogênicos. Essas defesas podem
46 ser do tipo estrutural, química e biótica (STANTON, 2008), podendo ser constitutivas ou
47 induzidas por agentes bióticos e abióticos (GONÇALVES, 2015).

48 A competição entre as plantas leva, em algumas espécies, a produção de aleloquímicos
49 que irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta (GONÇALVES, 2015).
50 Tais metabólitos secundários promovem efeitos nocivos ou benéficos (SOUTO et al., 2015),
51 podendo ser liberados por volatilização, exudação radicular, lixiviação e a decomposição de
52 resíduos (DUKE, 2015).

53 Os estudos sobre as influências aleloquímicas entre as espécies são de suma
54 importância, pois possibilita o conhecimento dos efeitos e das interações inter e intraespecíficas
55 (REIGOSA et al., 2013). Tais substâncias tem demonstrado possuir sítios e mecanismos de
56 ação diferentes dos herbicidas sintéticos, podendo ser usado no combate e controle das plantas
57 daninhas resistentes aos herbicidas convencionais (SANTOS; REZENDE, 2008).

58 Os mecanismos de ação dessas substâncias podem afetar diferentes processos
59 fisiológicos da respiração, fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, abertura e
60 fechamento de estômatos, nível de fitormônios, disponibilidade mineral, divisão e alongamento
61 celular, estrutura e permeabilidade de membranas e parede celular (DE ALMEIDA et al., 2008).

61 Para melhor compreensão dessas interações e elucidação de possíveis mecanismos de
 62 ação dessas substâncias é necessário a utilização de plantas com conhecido potencial
 63 alelopático. O gênero *Duranta* sp., pertencente à família Verbenaceae, compreende cerca de 35
 64 espécies, sendo a maioria adaptada ao Brasil (PURI, 2018). *Duranta erecta* L. (sin: *D. repens*
 65 L., *D. plumieri* Jacq.) popularmente conhecida como Pingo-de-ouro e Goldendew drop é um
 66 arbusto lenhoso que pode atingir de 1,5 a 4m de altura, apresenta as folhas amarelas douradas
 67 e frutos alaranjados. São amplamente empregadas na jardinagem urbana e residencial. Sendo
 68 altamente resistente ao pleno sol, climas quentes e úmidos, além de pouca exigência no cultivo
 69 e altamente competitivas (TAKATA; SILVA; BARDIVIESSO, 2012).

70 O Pingo-de-ouro possui compostos pertencentes a grupos químicos (HIRADATE et al.,
 71 1999; PURI, 2018; SHARMA et al., 2012; SINGH et al., 2016) conhecidamente relatados como
 72 promotores das atividades alelopáticas. Com destaque para os taninos, alcalóides, flavonóides,
 73 compostos fenólicos, cumarinas e saponinas (FERREIRA; AQUILA, 2000; JATOBÁ;
 74 GUALTIER, 2012; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010).

75 Ainda são poucos os estudos relacionados as interações dos aleloquímicos com a
 76 fisiologia da planta alvo. A maioria desses estudos realizados com extratos e sua atividade
 77 fitotóxica, são testados na germinação e crescimento inicial, em condições laboratoriais. Com
 78 o intuito de conhecer melhor a forma de interação e de interferência desse extrato vegetal sobre
 79 plantas pré-estabelecidas, verificou-se o efeito fitotóxico de duas concentrações de extrato seco
 80 hidroetanólico de *Duranta erecta* L. sobre *Solanum melongena* L. (Solanaceae). Avaliando a
 81 condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), fotossíntese
 82 líquida (A) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), teor de
 83 clorofila (C) (SPAD), potencial hídrico foliar (ψ_w) (Mpa),– Uso e eficiência da água (EUA),
 84 comprimento de parte aérea (CPA) (mm), comprimento de raiz (CR) (mm) e massa seca (PS)
 85 (mg).

86
 87

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação do extrato

89 O extrato hidroetanólico (1:1) foi obtido por meio do método de extração por
 90 percolação exaustiva. Os percolados foram concentrados em rotaevaporador, a temperatura
 91 de 40°C. Posteriormente foram liofilizados (Liofilizador – Liotop L101) e armazenados -
 92 20°C. Os extratos secos solubilizados nas concentrações de 10 e 30 mg mL⁻¹.

93

94 **Condições de crescimento**

95 O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Ambiental e
96 Genotoxicidade da Universidade Federal de Alfenas. As mudas de berinjela foram adquiridas
97 em casa agropecuária no município de Alfenas/MG com 30 dias de semeadura. Em seguida,
98 essas plantas foram transplantadas para recipiente plástico com 500ml de capacidade, utilizando
99 substrato vegetal comercial Mococa[®], e acondicionadas em sala de aclimação a temperatura
100 média de 25° C e fotoperíodo de 12/12 horas.

101 Após sete dias de aclimação as plantas foram submetidas ao estresse alelopático. Para
102 isso, foi realizado um ciclo de 4 regas aplicadas diretamente no solo de forma homogênea por
103 toda a superfície. Assim, foi administrada as unidades experimentais o volume de 25ml, nas
104 devidas concentrações de 10, 30mg/ml e água. Após esses ciclos as plantas foram mantidas sem
105 rega por 72hs, totalizando 144 horas desde a primeira exposição ao extrato alelopático.

106

107 **Trocas gasosas**

108 Os parâmetros de trocas gasosas foram medidos utilizando-se um analisador de gases
109 por infravermelho (IRGA, modelo LI-6400XT, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EUA). Foram
110 realizadas 3 medições intercaladas com o ciclo de aplicação dos extratos de *D. erecta* L. Ou
111 seja, as tomadas de dados foram realizadas com 24, 72 e 144 horas após a primeira exposição,
112 entre as 10 e 11 horas. Foi utilizada uma folha totalmente expandida e madura. Os parâmetros
113 avaliados foram a taxa de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (gs), transpiração
114 (E) e concentração de CO₂ interna (Ci). A área da câmara utilizada é respectiva a área de foliar
115 mensurada, correspondendo a 6 cm², o fluxo de ar na câmara foi com uma concentração de CO₂
116 de 380 mmol mol⁻¹ e uma densidade de fluxo de fótons (PPFD) de 1400 μmol m² s⁻¹.

117

118 **Potencial hídrico foliar**

119 O potencial hídrico foliar foi determinado ao meio dia (Ψ_{md}) com auxílio de uma
120 bomba de pressão tipo Scholander (modelo 3115), utilizando uma folha totalmente expandida
121 de cada planta analisada. As leituras foram realizadas no último dia do experimento, após 144
122 horas da primeira exposição ao extrato de *D. erecta* L..

123

124 **Teor de clorofila**

125 A determinação indireta do teor de clorofila foi realizada pelo valor SPAD utilizando o
126 clorofilômetro SPAD 502 PLUS (KONICA MINOLTA). Foram realizadas 3 medidas

127 juntamente com as análises de trocas gasosas, sendo que para cada planta foi selecionada uma
128 folha e feito 6 medidas compondo um valor médio.

129

130 **Medidas de biomassa**

131 Ao final do experimento, foram avaliadas as seguintes características das plantas:
132 Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca da planta (PS). As
133 medidas foram tomadas utilizando paquímetro digital. Para obtenção da massa seca, as folhas,
134 caules e raízes foram lavadas e transferidas para estufa de circulação forçada de ar, a 60°C, até
135 peso constante.

136

137 **Análise Estatística**

138 O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três tratamentos
139 compostos de 5 repetições. Os tratamentos foram compostos de dois extratos foliares de
140 *Duranta erecta* L. nas concentrações de 10 e 30 mg mL⁻¹ e controle (apenas água), constituindo
141 15 unidades experimentais. As médias foram submetidas à análise de variância por meio do
142 teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) utilizando o programa Sisvar versão 5.4 (FERREIRA, 2014)

143

144

RESULTADOS E DISCUSSÃO

145 A aplicação do extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L. sobre plantas de *Solanum*
146 *melongena* L. demonstrou influência em todos os parâmetros analisados, entre eles destaca-se
147 a condutância estomática (g_s) (mol H₂O m⁻²s⁻¹), transpiração (E) (mmol H₂O m⁻²s⁻¹),
148 fotossíntese líquida (A) (μmol de CO₂ m⁻²s⁻¹), na concentração interna de carbono (C_i) (μmol
149 m⁻²s⁻¹) e teor de clorofila.

150 Na menor concentração (10mg/ml) a taxa fotossintética (Figura 1A) teve um aumento
151 (7,3%) quando comparado com o controle a partir de 48 horas, seguido de acréscimo dos
152 parâmetros de condutância estomática (g_s), transpiração (E) (Figura 1B; C). Segundo Alves et
153 al., (2011) a fotossíntese aumenta de acordo com o acréscimo da condutância estomática, e este
154 aumento é relacionado a uma maior abertura estomática, fato que conseqüentemente, ocasiona
155 uma maior taxa de transpiração. A condutância estomática representa uma variável chave para
156 predizer o uso da água e a fotossíntese líquida, sendo controlada pela turgidez das células

157 guardas, que regulam a abertura ou fechamento dos estômatos, sendo a intensidade luminosa
 158 um dos principais fatores responsáveis por este processo (BATISTA, 2011; SCHOCK, 2012).

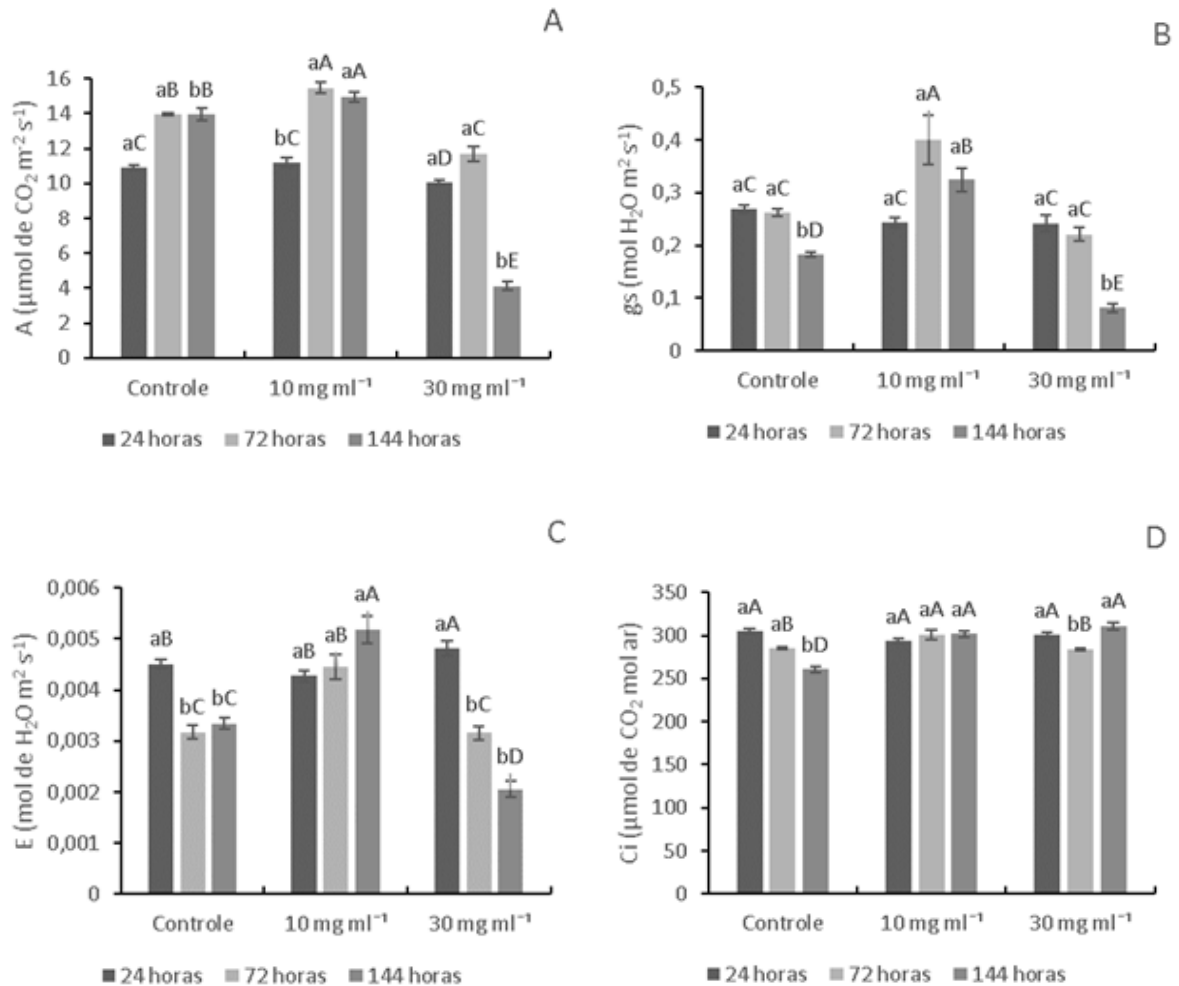


Figura 1. Parâmetros de trocas gasosas de berinjela (*Solanum melongena* L.) expostas ao estresse alelopático de extratos *Duranta erecta* L. após 24, 72 e 144 horas. A, Fotossíntese líquida (A) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); B, Condutância estomática (gs) ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); C, Transpiração (E) ($\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); D, Concentração interna de carbono (Ci) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

159 Em contrapartida, na concentração de 30mg/ml observou-se redução da taxa
 160 fotossintética, condutância estomática, transpiração e teor de clorofila, a partir da primeira
 161 aplicação. Contudo o decréscimo da fotossíntese (Figura 1A) foi mais drástico após 144 horas
 162 da primeira exposição ao extrato de *D. erecta*, chegando a provocar uma redução de 70,5%,
 163 seguido de redução em 56% na condutância estomática (Figura 1B), 39% na taxa de
 164 transpiração (Figura 1C). A fotossíntese e a transpiração estão intimamente relacionadas entre
 165 si através dos estômatos, pois ao mesmo tempo em que os estômatos oferecem resistência à
 166 difusão da água dentro da folha para a atmosfera, evitando a desidratação, constituem também

167 em uma barreira para a aquisição de CO₂. Desse modo, reduções na condutância estomática
 168 com o intuito de diminuir a perda de água também reduzem as taxas fotossintéticas devido à
 169 queda no Ci (BATISTA, 2011).

170 Contudo, verificou que a concentração de Ci se estabilizou nas plantas *S. melongena*
 171 nas concentrações de 10 e 30 mg.ml⁻¹ (Figura 1D), sendo a concentração de CO₂ superior ao
 172 controle em cerca de 20% em 144 horas, o que pode sugerir uma inibição no mecanismo de
 173 fixação do CO₂, e possíveis danos a ação da Rubisco, assim como foi verificado em plantas
 174 sobre forte déficit hídrico, como descrito por Medrano et al., (2002) e Parry et al., (2002), onde
 175 a seca provoca a redução do metabolismo do mesófilo ao diminuir a ativação e a atividade da
 176 Rubisco carboxilase.

177 A presença de saponinas nos extratos de *D. erecta* L., entre outros efeitos, apresentam
 178 ação sobre a membrana das células, modificando a permeabilidade celular e a capacidade
 179 hídrica. Outros compostos como flavonóides e compostos fenólicos representam uma
 180 importante classe com forte atividade biológica e sua presença em vegetais está associada com
 181 funções de defesa, controle de hormônios vegetais, inibição de enzimas e agentes alelopáticos
 182 (ALVES; SANTOS, 2002)

183 Da mesma forma, foi encontrada redução do potencial hídrico das plantas de Berinjela
 184 em 26 e 59% nas respectivas concentrações de 10 e 30 mg.ml⁻¹ (Figura 2).

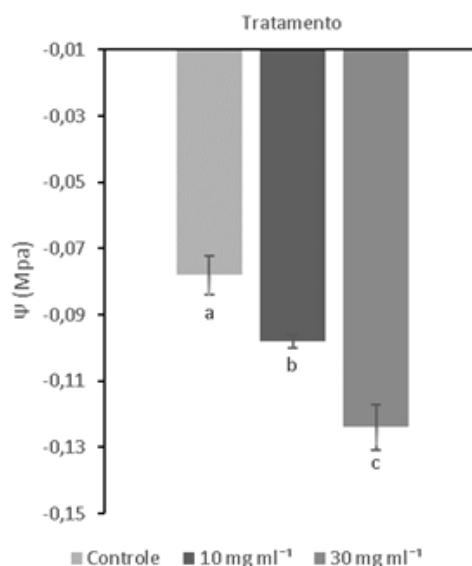


Figura 2. Eficiência do uso da água (EUA) ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) / ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em *Solanum melongena* L. expostas a extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L.

185 Verifica-se na Figura 3 que as plantas de *S. melongena* em 24 horas após serem regadas
 186 com os extratos de *D. erecta*, apresentam o mesmo teor relativo de clorofila para as
 187 concentrações testadas. Valor esse que se mantém no mesmo patamar para 10 mg.ml⁻¹
 188 comparado ao controle e decai em aproximadamente 38% para as duas últimas avaliações no
 189 tratamento de 30 mg.ml⁻¹. Tal decréscimo da clorofila está diretamente relacionado a queda na
 190 taxa fotossintética para o tratamento de 30 mg.ml⁻¹.

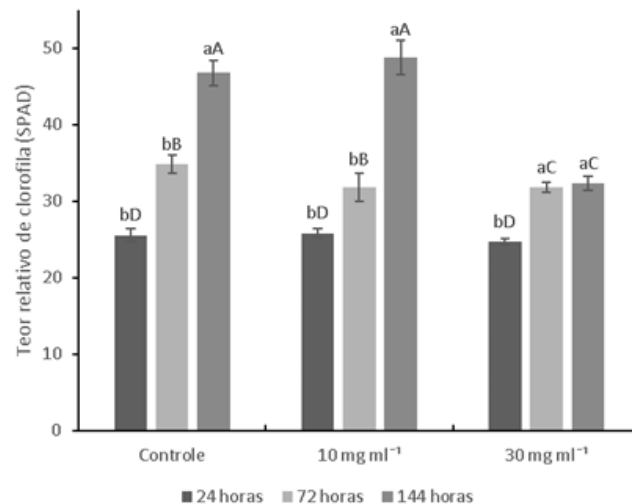


Figura 3. Teor relativo de clorofila (SPAD) de plantas *Solanum melongena* L. expostas a extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L.

191 De acordo com Kerbauy (2008), plantas cloróticas normalmente apresentam deficiência
 192 de alguns elementos essenciais como o nitrogênio e o magnésio. Com a omissão de nutrientes
 193 em morangueiros, especialmente a macro nutrientes, afeta severamente o crescimento e o
 194 desenvolvimento das plantas. Embora observado a redução no teor de clorofila dos tratamentos,
 195 o comprimento de parte aérea das plantas de berinjela não demonstrou nenhuma alteração,
 196 permanecendo semelhantes ao controle (Figura 4A). Enquanto que o comprimento de raiz foi
 197 reduzido em ambos os tratamentos. Sendo que a concentração de 30 mg.ml⁻¹ causou redução
 198 em 34% e severos danos ao sistema radicular. Danos causados as raízes podem estar
 199 relacionados com a queda na taxa fotossintética e do potencial hídrico devido a ineficiência na
 200 absorção de nutrientes.

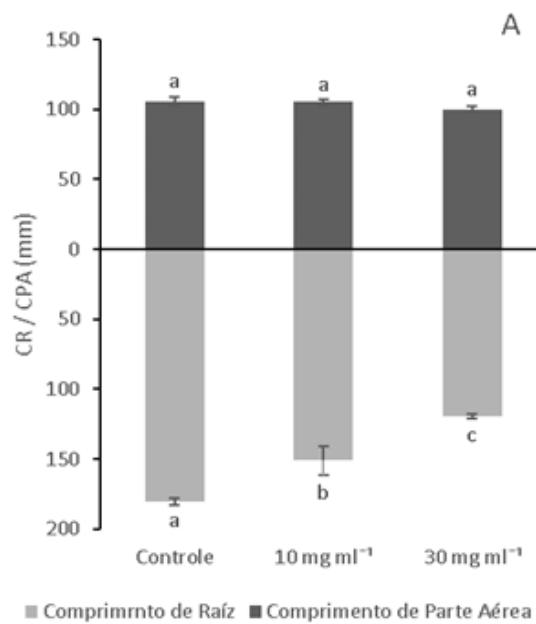


Figura 4. Comprimento de parte aérea (CPA) e Comprimento de raiz (CR) de plantas de *Solanum melongena* L. expostas a extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L.

201 Segundo Ferreira; Aquila, (2000) e Gusman; Couto; Vestena, (2008), a raiz torna-se o
 202 parâmetro mais afetado quando comparado a parte aérea, devido ao seu contato direto com o
 203 tratamento e os aleloquímicos presentes no mesmo. Assim, a presença de anormalidades nas
 204 raízes (Figura 5) indica bom parâmetro de fitotoxicidade. Apresentando visivelmente mais finas
 205 e necrosadas.



206 **Figura 5.** Imagens mostrando condição de plantas de *Solanum melongena* L. após 144 horas
 207 da primeira exposição a extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L.. A, Sistema radicular após
 208 ser lavado; B, Condição do sistema radicular na sustentação do solo.

209 A massa seca (Figura 6) de plantas de *S. melongena* sofreu um decréscimo de 15% em
 210 relação ao controle, a perda de massa está relacionada ao dano severo causado nas raízes para
 211 concentração de 30 mg.ml⁻¹.

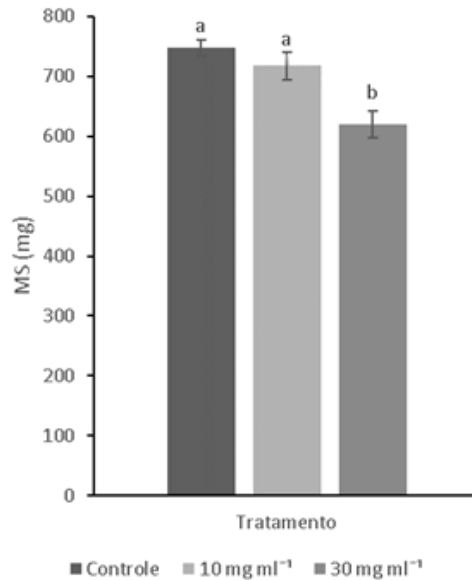


Figura 6. Massa seca (MS) (mg) de plantas de *Solanum melongena* L. expostas a extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L.

212

213

CONCLUSÃO

214

215 O extrato hidroetanólico seco das folhas de *Duranta erecta* L. aplicado diretamente
 216 sobre o solo pode exercer efeito estimulatório em baixas concentrações sobre os parâmetros de
 217 condutância estomática, transpiração e fotossíntese líquida sobre plantas de *Solanum*
melongena L.. Porém, levou a diminuição no potencial hídrico e no comprimento de raiz.

218

219 A concentração de 30 mg.ml⁻¹ se mostrou eficiente em diminuir todos os parâmetros
 220 avaliados, causando danos aos mecanismos fisiológicos da fotossíntese, demonstrando ser a
Duranta erecta L promissora na pesquisa de controle alternativo de plantas daninhas.

221

AGRADECIMENTOS

222

223 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
 224 Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. A FAPEMIG pelo
 225 fomento à pesquisa pelo APQ-01250-18. Ao CNPq e a Universidade Federal de Alfenas,
 UNIFAL-MG.

226

227

228

REFERÊNCIAS

- 229 ABOU-SETTA, L. M.; NAZIF, N. M.; SHAHAT, A. A. Phytochemical Investigation and Antiviral
230 Activity of *Duranta repens*. v. 3, n. 11, p. 1426–1433, 2007.
- 231 AHMAD, N. et al. Repenins A-D, four new antioxidative coumarinolignoids from *Duranta repens*
232 Linn. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 13, p. 3521–3524, 2009.
- 233 AHMAD, S. et al. A new steroid from *Duranta repens*. **Fitoterapia**, v. 69, n. 5, p. 448–450, 1998.
- 234 AHMED, W. S. et al. New triterpene saponins from *duranta repens* linn, and their cytotoxic activity.
235 **Molecules**, v. 14, n. 5, p. 1952–1965, 2009.
- 236 ALBUQUERQUE, M. B. et al. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A
237 review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n. 2, p. 379–395, 2011.
- 238 ALVES, E. C. et al. Fotossíntese, transpiração e condutância estomática de plantas de pimentão
239 submetidas a diferentes doses de N. In: **Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica**. [s.l.:
240 s.n.].
- 241 ALVES, E. S. et al. Biomonitoramento indoor do potencial mutagênico do ar em laboratórios e
242 herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. **Hoehnea.**, v. 30, n. 2, p. 89–94,
243 2003.
- 244 ALVES, S. M.; SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: (Eds.). . In: SOUZA
245 FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Eds.). . **Alelopatia princípios básicos e aspectos gerais**. Belém, Bra
246 ed. [s.l.] Embrapa Amazônia Orienta, 2002. p. 25–48.
- 247 BARBOSA, E. G.; PIVELLO, V. R.; MEIRELLES, S. T. Allelopathic evidence in *Brachiaria*
248 *decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of Biology and**
249 **Technology**, v. 51, n. 4, p. 825–831, 2008.
- 250 BASTOS, D. H. M. et al. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex*.
251 **Molecules**, v. 12, p. 423–432, 2007.
- 252 BASTOS, R. G. et al. Chemical characterization and antimicrobial activity of hydroethanolic crude
253 extract of *Eugenia florida* DC (Myrtaceae) leaves. **International Journal of Pharmacy and**
254 **Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 6, p. 110–115, 2016.
- 255 BATISTA, T. M. V. **Fotossíntese e condutância estomática de tomate SM-16 e mariana**
256 **cultivados com diferentes tipos de cobertura do solo**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal
257 Rural do Semiárido (Agronomia, Área de concentração: Fitotecnia). Mossoró – RN, 2011.
- 258 BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z. Atividade alelopática de extratos de folhas
259 de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. **Revista Brasileira de**
260 **Biociências**, v. 9, n. 3, p. 521–525, 2011.
- 261 BOVANOVA, L.; BRANDŠTETEROVA, E.; BAXA, S. HPLC determination of stevioside in plant
262 material and food samples. **Zeitschrift for Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, v. 207, n.
263 5, p. 352–355, 1998.
- 264 BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, Volume 2**. 5ª ed. Brasília: 2010, 2010. v. 1

- 265 BURIOL, L. et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma
266 alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 296–302, 2009.
- 267 CALLAWAY, R. M.; INDERJIT. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and Soil**,
268 v. 256, n. 1, p. 1–11, 2003.
- 269 CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para**
270 **farmácia magistral**. São Paulo: Pharmabooks, 2009.
- 271 CHIAPUSIO, G. et al. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the
272 germination process ? **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 11, p. 2445–2453, 1997.
- 273 CHON, S.-U.; NELSON, C. J. Allelopathy in Compositae plants . A review To cite this version :
274 Review article. **Agronomy Journal**, v. 30, n. 2, p. 349–358, 2010.
- 275 CHON, S. U.; JENNINGS, J. A.; NELSON, C. J. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) autotoxicity: Current
276 status. **Allelopathy Journal**, v. 18, n. 1, p. 1–24, 2006.
- 277 CHUNG, I. M.; HAHN, S. J.; AHMAD, A. Confirmation of potential herbicidal agents in hulls of
278 rice, *Oryza sativa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6, p. 1339–1352, 2005.
- 279 CORRÊA, P. G. et al. HERBIVORIA E ANATOMIA FOLIAR EM PLANTAS TROPICAIS
280 BRASILEIRAS Priscila. **Scientia**, v. 06, n. 19, p. 85–106, 2008.
- 281 CORREIA, N. M.; CENTURION, M. A. P. D. C.; ALVES, P. L. D. C. A. Influência de extratos
282 aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, v. 35,
283 p. 498–503, 2005.
- 284 DE ALMEIDA, G. D. et al. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista**
285 **Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237–4247, 2008.
- 286 DOS SANTOS, S. C. et al. Genotypeselection for plant bioassays using *Lactuca Sativa* L. and *Allium*
287 *Cepa* L. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, n. 6, p. 2201–2212, 2017.
- 288 DUKE, S. O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed**
289 **Research**, v. 40, n. 1, p. 99–111, 2000.
- 290 DUKE, S. O. Proving Allelopathy in Crop–Weed Interactions. **Weed Science**, v. 63, n. SP1, p. 121–
291 132, 2015.
- 292 EBERLEIN, C. V. Germination of *Sorghum alnum* Seeds and Longevity in Soil. **Weed Science**, v.
293 35, n. 6, p. 796–801, 1987.
- 294 FAR, M. H.; BAGHERZADEH, A. Assessing Allelopathic Index for Estimating Allelopathic potential
295 of Ajowan Extracts. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 21, n. 2, p. 165–172, 2018.
- 296 FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alellopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology. **Revista**
297 **Brasileira De Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Vii, p. 175–204, 2000.
- 298 FERREIRA, D. F. Sisvar : A Guide for Its Bootstrap Procedures in Multiple Comparisons Sisvar : um
299 guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n.
300 2000, p. 109–112, 2014.
- 301 FILHO, A. J. C. et al. TRITERPENÓIDES, FENÓLICOS E EFEITO FITOTÓXICO DAS FOLHAS
302 DE *' flavescens* DC (*Myrtaceae*). **Química Nova Nova**, v. 40, n. 3, p. 252–259, 2016.

- 303 FILHO, A. L. M. et al. Potencialidade Alelopática De Oaca (*Eupatorium Laevigatum* Lam .) Sobre
304 Alface (*Lactuca Sativa* L .). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n.
305 2, p. 29–36, 2013.
- 306 FOSSEN, T. et al. Anthocyanins from a Norwegian potato cultivar. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p.
307 433–437, 2003.
- 308 GAO, X. et al. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata* on the germination and growth of wheat,
309 sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. **Weed Biology and Management**, v. 9, n. 3, p. 243–249,
310 2009.
- 311 GATTI, A. B. et al. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de
312 Cerrado . **Revista Brasileira de Biociências**, p. 174–176, 2007.
- 313 GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de
314 *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus*
315 *sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- 316 GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de
317 metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.
- 318 GONÇALVES, T. S. Interações ecológicas e evolutivas entre: plantas, herbívoros e seus inimigos
319 naturais. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 03, p. 1–9, 2015.
- 320 GUSMAN, G. S.; COUTO, A. H.; VESTENA, B. E S. Alelopatia de extratos aquosos de *Bacharis*
321 *dracunculifolia* DC. sobre a germinação e crescimento de *Raphanus sativus* L. e de *Citrullus lantanus*
322 (THUNB.) M. & N. **Revista Brasileira da FAMINAS**, v. 3, n. 1, p. 2007, 2008.
- 323 HARDIN, J. W.; ARENA, J.; DURHAM, N. Human Poisoning from Native and Cultivated Plants.
324 **Duke University Press**, p. 1969, 1969.
- 325 HEMAVATHY J, A. T. A study on larvicidal assay on *Duranta Repens* Linn . and *Vitex Negundo*
326 Linn . against *Culex Quinquefasciatus* say. **International Journal of Advanced Science and**
327 **Research**, v. 1, n. December 2015, p. 18–20, 2016.
- 328 HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G. et al. Allelopathic Action of *Cecropia pachystachya* Extracts on
329 the Growth of Guinea Grass (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 763–769, 2007.
- 330 HIRADATE, S. et al. Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*. **Phytochemistry**,
331 v. 52, n. 7, p. 1223–1228, 1999.
- 332 HOFFMANN, C. E. F. et al. Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L . e *Dieffenbachia picta*
333 *schott* em sementes de *Lactuca Sativa* L . e *Bidens pilosa* L . **Revista de Ciências Agroveterinárias**,
334 v. 6, n. 1, p. 11–21, 2007.
- 335 IAS. **International Allelopathy Society (IAS). What is Allelopathy?** Disponível em:
336 <<http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>>. Acesso em: 27 fev. 2019.
- 337 IJAZ, F. et al. Two new anti-plasmodial flavonoid glycosides from *Duranta repens*. **Journal of**
338 **Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 773–778, 2010.
- 339 INDERJIT et al. Phytotoxic effects of (±)-Catechin In vitro, in soil, and in the field. **PLoS ONE**, v. 3,
340 n. 7, 2008.
- 341 INDERJIT; WESTON, L. A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field
342 responses? **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2111–2118, 2000.

- 343 JATOBÁ, L. DE J.; GUALTIER, S. C. J. **Compostos com potencial alelopático em *Aristolochia***
344 ***esperanzae* O. Kuntze.** [s.l: s.n.].
- 345 JUSTESEN, U. Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision activation
346 mass spectrometry for the characterisation of flavonoids in extracts of fresh herbs. **Journal of**
347 **Chromatography A**, v. 902, n. 2, p. 369–379, 2000.
- 348 KAPINGUA, M. C. et al. Diterpenoids from the roots of *Croton macrostachys*. **Phytochemistry**, v.
349 54, n. 14, p. 767–770, 2000.
- 350 KAUR, H. et al. Taking ecological function seriously: Soil microbial communities can obviate
351 allelopathic effects of released metabolites. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, p. 1–6, 2009.
- 352 KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: 2ed, 2008.
- 353 KHAN, M. A. et al. ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF *DURANTA REPENS* (LINN.) FRUITS
354 AGAINST H₂O₂ INDUCED CELL DEATH INVITRO. **Afr J Tradit Complement Altern Med.**, v.
355 10, p. 436–441, 2013.
- 356 KOBAYASHI, W. et al. Tetrasaccharide multi-esters and xanthone glycosides from the roots of
357 *Polygala wattersii*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 8, p. 1121–1126, 2000.
- 358 KONG, C.; HU, F. E. I.; XU, X. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from
359 *Ageratum conyzoides* under stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 6, p. 1173–1182, 2002.
- 360 KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion**
361 **in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 246–251, 2011.
- 362 LANNANG, A. M. et al. Antioxidant benzophenones and xanthenes from the root bark of *Garcinia*
363 *smeathmannii*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 20, n. 2, p. 247–252, 2006.
- 364 LEÓN-GONZÁLEZ, A. J. et al. Chemo-protective activity and characterization of phenolic extracts
365 from *Corema album*. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 728–738, 2012.
- 366 LIU, X. et al. Isolation and Identification of Potential Allelochemicals from Aerial Parts of *Avena*
367 *fatua* L. and Their Allelopathic Effect on Wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.
368 64, n. 18, p. 3492–3500, 2016.
- 369 LUKHITWITAYAWUID, K. et al. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of. **Journal**
370 **of Natural Products**, v. 56, n. 1, p. 1468–1478, 1993.
- 371 MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic
372 bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food**
373 **Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512–2521, 2000.
- 374 MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na
375 germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n.
376 1, p. 61–69, 2006.
- 377 MATSUMOTO, R. S. et al. Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae).
378 **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631–635, 2010.
- 379 MEINERS, S. J. et al. Developing an ecological context for allelopathy. **Plant Ecology**, v. 213, n. 12,
380 p. 1861–1867, 2012.
- 381 MORITA, H. et al. Cephalzomines A-F, Potent Cytotoxic Alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia*

- 382 var. nana. **Tetrahedron**, v. 56, n. 27, p. 2929–2934, 2000.
- 383 MORITA, H.; YOSHINAGA, M. Cephalezomines G, H, J, K, L, and M, new alkaloids from
384 *Cephalotaxus harringtonia* var. nana. **TETRAHEDRON**, v. 58, p. 5489–5495, 2002.
- 385 NIKKON, F. et al. Antishigellosis and Citotoxic Potency of Crude Extracts and Isolated Constituents
386 from *Duranta repens*. **The Korean Society of Mycology**, v. 36, n. 3, p. 173–177, 2008.
- 387 NIKKON, F. et al. Larvicidal effects of stem and fruits of *Duranta repens* against the mosquito *Culex*
388 *quinquefasciatus*. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 4, p. 1709–1713, 2009.
- 389 NOVAES, P. et al. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry**
390 **Reviews**, v. 12, n. 4, p. 839–855, 2013.
- 391 OGBUAGU, A. S. et al. Quantitative Determination of Some Secondary Metabolites and the Anti
392 Bacterial Effects of the Leave Extracts of *Duranta eracta*. **American Journal of Biomedical Science**
393 **and Engineering**, v. 1, n. 5, p. 8287, 2015.
- 394 OGUNSUSI, M. et al. Allelopathic effects of alkaloid fraction of *Crotalaria retusa* Linn on growth and
395 some biochemical parameters of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). **International Journal of Plant**
396 **Physiology and Biochemistry**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2018.
- 397 OLIVEIRA, L. G. A. et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum*
398 *cernuum* Vell. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 44, n. 3, p. 538–543, 2013.
- 399 PASCHOLATI, S. F. Mecanismo de resistência das plantas a fitopatógenos. In: MARIATH, J. E. A.;
400 SANTOS, R. P. (Eds.). **Os Avanços da Botânica no Início do Século XXI: morfologia, fisiologia,**
401 **taxonomia, ecologia e genética**. [s.l.] Sociedade Botânica do Brasil, 2006. p. 656–659.
- 402 PASTORI, T. B et al. Genotoxic and antiproliferative action of *Polygonum punctatum* Elliott
403 (*Polygonaceae*) on the cell cycle of *Allium cepa* L [Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum*
404 *punctatum* Elliott (*Polygonaceae*) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L]. **Revista Brasileira de**
405 **Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 186–194, 2015.
- 406 PATRA, A. et al. The protoberberine alkaloids of *Stephania suberosa*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 2, p.
407 547–549, 1987.
- 408 PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios
409 antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. November, p. 146–152, 2012.
- 410 PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex
411 Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica**
412 **Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- 413 PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Mimosa*
414 *caesalpiniaefolia* Benth SOBRE SEMENTES DE *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e**
415 **Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 130–136, 2001.
- 416 PIRES, M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: J, R. S. O. (Ed.). **Biologia e Manejo de Plantas**
417 **Daninhas**. [s.l: s.n.]. p. 95–124.
- 418 POWLES, S. B.; YU, Q. **Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides**. [s.l: s.n.]. v. 61
- 419 PURI, A. V. *Duranta repens* linn. (*verbenaceae*): a comprehensive review of pharmacognostic ,
420 ethnomedicinal , pharmacological , and phytochemical aspects. **Asian Journal of Pharmceutical and**
421 **Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91–96, 2018.

- 422 QIU, S.-X. et al. Isolation and Characterization of Flaxseed (*Linum usitatissimum*) Constituents.
423 **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 1, p. 1–7, 2003.
- 424 REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629–646,
425 2013.
- 426 REZENDE, F. P. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Aplicação de extratos de
427 folhas e tubérculos de *Cyperus rotundus* L. e de auxinas sintéticas na estaquia caular de *Duranta*
428 *repens* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 639–645, 2014.
- 429 RIBEIRO, L. D. O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron*
430 *adstringens* (Mart .) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n.
431 2, p. 220–225, 2012.
- 432 RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater
433 treatment. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4311–4340, 2011.
- 434 RODRIGUES, L. C. DE A. et al. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego
435 urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**,
436 v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.
- 437 ROY, S. et al. Aqueous extracts of *Duranta repens* (Verbenaceae) as an alternative to control tea red
438 spider mite, *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Tropical Insect**
439 **Science**, v. 36, n. 2, p. 82–90, 2016.
- 440 SALAMA, M. et al. Repennoside – A new iridiod glucoside from *Duranta repens* fruits. **J Pharm Sci**,
441 v. 8, p. 212–21, 1992.
- 442 SANTOS, S. et al. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de
443 calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Ecletica Quimica**, v. 36, n.
444 2, p. 51–68, 2011.
- 445 SANTOS, S.; REZENDE, M. O. O. Avaliação Do Potencial Herbicida De Compostos Secundários Na
446 Germinação De Sementes De Plantas Daninhas Encontradas Em Pastagens. **Revista Analytica**, n. 32,
447 p. 72–78, 2008.
- 448 SASAMOTO, H.; FUJII, Y.; ASHIHARA, H. Effect of purine alkaloids on the proliferation of lettuce
449 cells derived from protoplasts. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 5, p. 69–72, 2015.
- 450 SCANLAN, S. *Duranta erecta* poisoning in nine dogs and a cat. **Australian Veterinary Journal**, v.
451 84, n. 10, p. 367–370, 2006.
- 452 SCHOCK, A. A. **Características fisiológicas e anatômicas de pinhão manso conduzidos em**
453 **diferentes condições de luminosidade**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal de Pelotas,
454 Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Pelotas., 2012.
- 455 SCOGNAMIGLIO, M. et al. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on
456 Mediterranean biomes. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 803–830, 2013.
- 457 SHAHAT, A. A. et al. Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of *Duranta repens*.
458 **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 11, p. 1071–1073, 2005.
- 459 SHARMA, P. et al. Phytochemical analysis and antifungal potential of *Duranta erecta* against some
460 phytopatogenic phytopatogenic fungi. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and**
461 **Research**, v. 3, n. 08, p. 2686–2689, 2012.

- 462 SIKARWAR, M. et al. Evaluation of *Duranta repens* for its antifungal potential. **International**
463 **Journal of Medicinal Plants**, v. 106, n. January, p. 390–395, 2014.
- 464 SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e
465 toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29–36, 2013.
- 466 SINGH, H. et al. Durantol - a phytosterol antifungal contributor from *Duranta repens* Linn. For
467 organic Management of Sorghum Downy Mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n.
468 3, p. 671–682, 2016.
- 469 SOUSA, R. F. DE; SOUSA, J. A. DE. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas
470 funções nos tecidos vegetais Secondary metabolics associated with water stress and its functions on
471 vegetable tissues. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2017.
- 472 SOUTO, J. S. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de moringa na germinação e no
473 crescimento inicial da alface. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 19, n. 10, p. 5771–5779,
474 2015.
- 475 SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em
476 estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. **Planta**
477 **Daninha**, v. 28, n. 3, p. 689–697, 2010.
- 478 SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Embrapa
479 Am ed. Belém: Embrapa, 2002.
- 480 STANTON, M. A. **Respostas a herbivoria em *Asclepias cursassavica* (Apocynaceae:**
481 ***Asclepiadoideae*): defender, crescer ou reproduzir**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, São
482 Paulo, 2008.
- 483 SUBRAMANIAN, S.; NAIR, A. Scutellarein and pectolinaringenin from the leaves of *Clerodendron*
484 *phlomides* and *Duranta repens*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 3095–6, 1972.
- 485 SUBSONGSANG, R.; JIRAUNGKOORSKUL, W. An updated review on phytochemical properties
486 of “Golden Dewdrop” *Duranta erecta*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 10, n. 20, p. 2016–2018, 2016.
- 487 TAKATA, W. H. S.; SILVA, E. G. DA; BARDIVIESSO, D. M. Enraizamento de estacas de *Duranta*
488 *repens* linn “aurea” em função de doses de IBA. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 21,
489 n. 1, p. 1–9, 2012.
- 490 TAKEDA, Y. et al. Iridoid glucosides from the leaves and stems of *Duranta erecta*. **Phytochemistry**,
491 v. 39, n. 4, p. 829–833, 1995.
- 492 TREZZIA, M. M. et al. Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. **Journal**
493 **of Plant Interactions**, v. 11, n. 1, p. 53–60, 2016.
- 494 TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens*
495 sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**,
496 v. 27, n. 3, p. 23–32, 2010.
- 497 VYVYAN, J. R. Allelochemicals as lead for new herbicides and agrochemicals. **TETRAHEDRON**,
498 v. 58, n. 599, p. 1631–1646, 2002.
- 499 WANG, J. I. A. et al. FLAVONOIDS FROM *BIDENS PILOSA* VAR. *RADIATA*. **Phytochemistry**,
500 v. 28, p. 7–10, 1997.
- 501 WILLIAMSON, B. G.; RICHARDSON, D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses

- 502 with independent controls. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 1, p. 181–187, 1988.
- 503 WINK, M. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. **Planta**, p. 365–368, 1983.
- 504 WINK, M. Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary
505 Metabolites. In **Annual Plant Reviews online**, J. A. Roberts (Ed.), 2018.
- 506 WINK, M.; LATZ-BRUNING, B. Allelopathic properties of alkaloids and other natural products. In:
507 **Allelopathy: Organisms, processes, and applications**. American C ed. [s.l.: s.n.].
- 508 XIE, L. J. et al. Allelochemical mediated invasion of exotic plants in China. **Allelopathy Journal**, v.
509 25, n. 1, p. 31–50, 2010.
- 510 XUAN, T. D. et al. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant
511 allelopathy: An overview. **Crop Protection**, v. 24, n. 3, p. 197–206, 2005.
- 512 YOUSEF, F WAHBA KHALIL, S K, PAPPAS, S. P. Separation and characterization of a new
513 alkaloid from the fruit of *Duranta repens*. **Bd.**, p. 173–175, [s.d.].
- 514 ZHANG, T. T. et al. The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic
515 *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 1, p. 71–77, 2010.
- 516 ZHAO, M. et al. Seven quassinoids from fructus bruceae with cytotoxic effects on pancreatic
517 adenocarcinoma cell lines. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 12, p. 1796–1800, 2011.
- 518
- 519

520 **ARTIGO III:** Bioprospecção e citotoxicidade de partições de (*Duranta erecta* L.)

521

522 **AUTORES:** João Vitor Calvelli Barbosa, Vítor Mezzalira Betelli, Jade Del Nero, Renan de Oliveira
523 Gomes, Wagner Vilegas, Marcelo Aparecido da Silva, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

524

525

Bioprospecção e citogenotoxicidade de frações de *Duranta erecta* L.Bioprospecting and cytotoxotoxicity of *Duranta erecta* L fractions.

RESUMO – Algumas plantas possuem uma interessante forma de sobressair em ambientes que estão sob alta competitividade, pela produção de alguns metabolitos com capacidade de interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outras plantas, que podem influenciar estimulando ou inibindo a flora e microfauna. Esse potencial, denominado de alelopatia é relacionado a presença de compostos fenólicos, cumarinas, terpenoides, flavonoides, taninos e alcaloides. Nesse contexto, a *Duranta erecta* L., conhecida como Pingo-de-ouro, possui diversos compostos com possível potencial aleloquímico. Assim, o objetivo do presente trabalho foi de identificar os compostos químicos presentes no extrato foliar hidroetanólico de *D. erecta* e simultaneamente investigar os efeitos fitotóxicos e citogenotóxicos de frações em ampla polaridade em bioensaio com *Lactuca sativa*. Após a extração hidroetanólica por percolação exaustiva, o extrato foi concentrado em evaporador rotatório e liofilizados. A caracterização química foi feita por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas, no modo negativo e positivo. O fracionamento do extrato seco foi realizado em funil de separação pelo processo de extração líquido-líquido, com hexano, éter etílico, diclorometano, acetato de etila e butanol. Após serem concentradas em capela de exaustão sob chapa de aquecimento, as mesmas foram submetidas a reações químicas qualitativas para detectar os grupos de substâncias presentes. As soluções para os bioensaios foram realizadas em Tween 80 a 4% nas concentrações de 300, 600 e 1200 ppm, sendo utilizados como controles a água destilada e Tween 80 à 4%. Os bioensaios foram conduzidos com 30 sementes de alface em Placas de Petri, com 3 repetições, e mantidas em câmara de germinação a 24°C, com fotoperíodo de 12 horas sendo avaliados parâmetros germinativos, morfológicos e citogenéticos das plântulas de alface. Com base na massa molecular e nos padrões de fragmentação, a análise fitoquímica revelou a presença de substâncias das classes dos ácidos fenólicos, flavonoides, xantonas, esteroides, iridoides, saponinas, alcaloides, diterpenos, cumarinas e taninos. As frações das folhas apresentaram potencial alelopático em todos os parâmetros avaliados, principalmente a fração éter etílica e diclorometana, que foram as mais fito e citotóxicas. Assim, a espécie *D. erecta* apresenta um potencial aleloquímico e pode subsidiar pesquisas para desenvolvimento de métodos alternativos e ecológicos no controle de plantas daninhas, devido a seus metabólitos secundários que mostraram promissora atividade.

Palavras-chave: Alelopatia. Bioprospecção. Índice de efeito alelopático.

INTRODUÇÃO

560

561

562 A produção agrícola é por vezes influenciada por diversos fatores que determinam o custo
563 de produção e a produtividade. Dentre essas interferências, a competição por água, luz,
564 nutrientes acabam a elevar o custo de produção, dada a necessidade de manejo de plantas
565 invasoras, eliminando ou minimizando a interferência que elas exercem, para se evitar e reduzir
566 a perda qualitativa e quantitativa na produção (SOUZA FILHO; ALVES, 2002). O manejo das
567 plantas daninhas vem sendo baseado principalmente no controle químico, que utilizado em
568 larga escala e muitas vezes de forma indevida, levam as plantas daninhas de ciclos curtos a
569 desenvolverem resistência a esses herbicidas (POWLES; YU, 2010).

570

571 Essa interação entre as plantas ocorre não apenas por competição, mas muitas plantas
572 invasoras possuem vantagens adaptativas baseadas na produção e liberação de biomoléculas no
573 ambiente. Essas são produzidas em sua maioria via metabolismo secundário e denominadas de
574 aleloquímicos, que podem influenciar estimulando (+) ou inibindo (-) o crescimento e
575 desenvolvimento de outras plantas e organismos, num fenômeno conhecido como alelopatia
576 (IAS, 2019; OLIVEIRA et al., 2013). Essa capacidade pode constituir um trunfo importante
577 para gerar estratégias complementares aos herbicidas, e nesse sentido, a busca por meios
578 alternativos está aumentando em importância e necessidade, de modo a reduzir a dependência
579 do controle químico e para mitigar os impactos ambientais que esses compostos geram
(TREZZIA et al., 2016).

580

581 Plantas com conhecido efeito alelopático produzem, entre seus metabólitos secundários,
582 compostos majoritários do grupo dos ácidos fenólicos, cumarinas, terpenoides, flavonoides,
583 taninos e alcaloides, (RICE, 1984; SOARES; RODRIGUES; LOPES, 2001; BORELLA;
584 MARTINAZZO; AUMONDE, 2011).

584

585 A bioprospecção desses compostos pode ser realizada por meio de bioensaios vegetais,
que consistem na avaliação e monitoramento da germinação, crescimento inicial de plântulas,

586 alterações no DNA nuclear e na fisiologia de plantas alvo, que deve ser selecionada de acordo
587 com a sensibilidade da espécie altamente a agentes químicos (SIMÕES et al., 2013). O emprego
588 da *Lactuca sativa* (alface) especialmente a cultivar *Babá de Verão*, tem se demonstrado um
589 modelo de rápida germinação e boa homogeneidade dos dados, sendo assim mais eficiente na
590 avaliação do efeito alelopático devido a sua sensibilidade a produtos químicos em geral e seu
591 rápido crescimento (DOS SANTOS et al., 2017).

592 Diversos estudos alelopáticos relatam aspectos germinativos e de desenvolvimento inicial
593 da planta-alvo, mas ainda são incipientes quando a temática relacionada à ação fitotóxica sobre
594 o comportamento do ciclo celular e do complemento cromossômico dos biotestes, assim como
595 a presença e atividade dos compostos bioquímicos. (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2006;
596 REIGOSA et al., 2013). Ensaio biodirigidos constituem em investigar não apenas a atividade
597 alelopática, mas busca compreender os grupos químicos bioativos responsáveis por essa
598 interação planta a planta, para tanto é empregado extrações com diferentes solventes e por
599 fracionamento em ampla polaridade. Tais projetos podem subsidiar programas de controle de
600 plantas daninhas buscando obter produtos eficientes no controle e/ou eliminação de invasoras
601 sem causar grandes impactos ao ambiente (XIE et al., 2010). Esses ensaios são uma ferramenta
602 útil e necessária para determinar o potencial alelopático de um organismo ou de um conjunto
603 de substâncias e em todas as etapas de isolamento, fracionamento e identificação de compostos
604 bioativos (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

605 *Duranta erecta* (Verbenaceae) conhecida como Pingo-de-ouro caracteriza-se como um
606 arbusto lenhoso cuja altura pode variar de 1,5 até 4m, possui folhas amarelas douradas e uma
607 abundante exibição floral violácea ou branca. Sendo amplamente utilizada em jardins e
608 canteiros de vias urbanas, pelo fato de não possuir exigências com seu cultivo e alta
609 adaptabilidade às condições climáticas do Brasil. (SIKARWAR et al., 2014; TAKATA; SILVA;
610 BARDIVIESSO, 2012; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Inúmeros estudos dão destaque

611 a essa planta pela presença de inúmeras substâncias bioativas e de importância farmacológica,
612 devido a constituição bioquímica de suas folhas composta de flavonoides, saponinas, taninos
613 e alcaloides entre outras substâncias minoritárias com amplo potencial (OGBUAGU et al.,
614 2015; PURI, 2018).

615 Os relatos sobre a ação alelopática de *Duranta* spp. ainda são incipientes na literatura
616 (HIRADATE et al., 1999; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010), em especial sobre os aspectos
617 citogenéticos de organismos alvo submetidos a diferentes aleloquímicos complexados ou
618 isolados. Assim, o presente trabalho, tem como objetivo identificar os compostos químicos
619 presentes no extrato hidroetanólico de *Duranta erecta* L. por cromatografia líquida de alta
620 performance acoplado à espectrometria de massas, e investigar a atividade citogenotóxica de
621 frações em diferentes polaridades, obtidas a partir de extratos hidroetanólicos sobre a
622 germinação, morfologia das plântulas e ciclo celular de células meristemáticas de *Lactuca*
623 *sativa* L (cv. *Babá de Verão*).

624 MATERIAL E MÉTODOS

625 Coleta e preparo das amostras

626 As folhas de *D. erecta* foram coletadas no campus da Universidade Federal de Alfenas,
627 estado de Minas Gerais, Brasil (S21° 25' 09.7" HO 45° 56' 55.8"). As exsiccatas foram
628 depositadas no Herbário da mesma universidade.

629 Após a coleta, as folhas foram selecionadas e secas em estufa com circulação de ar a
630 temperatura de 45°C até obtenção de peso constante. Em seguida, foram trituradas em moinho
631 de facas (Skymesen-TA04) e padronizado o tamanho das partículas pelo processo de agitador de
632 tamises eletromagnético (Bertel®). A extração foi realizada pelo processo de percolação
633 exaustiva hidroetanólica (1:1) (BRASIL, 2010). Após, os extratos foram concentrados em
634 evaporador rotatório a 40°C sob pressão de 400 mmHg seguido de liofilização (Liofilizador –
635 Liotop L101) e armazenamento a -20°C. A partir de 20 g do extrato seco, foi realizado o
636 fracionamento de funil de separação pelo processo de extração líquido– líquido. Obtendo-se as

637 frações hexânica (FrHx), fração éter etílica (FrEE), fração diclorometano (FrDcM), fração
638 acetato de etila (FrAcE), fração butanólica (FrBt) e fração aquosa (Fraq). As frações foram
639 concentradas em capela de exaustão sob chapa de aquecimento a (40°C) até a eliminação do
640 solvente.

641 **Caracterização fitoquímica**

642 O extrato liofilizado foi submetido a análises por espectrometria de massas realizadas no
643 Laboratório de Biodiversidade e Sustentabilidade da Universidade Estadual de São Paulo
644 (Unesp), Câmpus Experimental do Litoral Paulista.

645 Os espectros de massas foram obtidos no Espectrômetro de Massas LTQ XL da Thermo
646 Scientific Linear 2D, equipado com o dispositivo de inserção direta da amostra via análise por
647 injeção em fluxo contínuo (FIA). Sendo analisadas no modo de ionização por electrospray (ESI)
648 e as fragmentações em múltiplos estágios (MS^2 , MS^3) realizadas em uma interface do tipo ion-
649 trap (IT). Os modos negativo e positivo foram escolhidos para a geração e a análise dos
650 espectros de massas em primeira-ordem (MS), bem como para os demais experimentos em
651 múltiplos estágios (MS_n), sob as seguintes condições: voltagem do capilar -41 V, voltagem do
652 spray -5 kV, temperatura do capilar 280 °C, gás de arraste (N_2) fluxo 60 (unidades arbitrárias).
653 A faixa de aquisição foi m/z 50-2000, com dois ou mais eventos de varredura realizados
654 simultaneamente no espectrômetro de massas LTQ XL (BASTOS et al., 2016; BOVANOVA;
655 BRANDŠTETEROVÁ; BAXA, 1998)

656 As frações foram submetidas a reações químicas qualitativas com objetivo de detectar os
657 principais grupos de substâncias presentes e envolvidas com a atividade fitotóxica, sendo assim,
658 cada fração foi submetida a reações químicas qualitativas, que resultam no desenvolvimento de
659 coloração, turvação e/ou de precipitado característico. Os testes foram realizados em triplicata,
660 segundo as metodologias descritas por Cardoso (2009) investigando a presença de alcaloides,
661 antocianidinas, antraquinonas, compostos fenólicos, cumarinas, flavonoides, saponinas, taninos
662 e terpenos.

663 **Ensaio de Fitotoxicidade**

664 Os bioensaios foram conduzidos em placas de Petri 70mm de diâmetro contendo duas
 665 folhas de papel Germitest® umedecidas com 3ml das frações FrEtE; FrDcM, FrAcE, FrBt e
 666 FrAq solubilizadas em Tween 80 à 4%, nas concentrações de 1200, 600 e 300 ppm, sendo
 667 utilizado como controle água destilada (controle negativo) e solução de Tween 80 à 4% como
 668 testemunha. As placas foram mantidas em câmara de germinação do tipo B.O.D. (Biochemical
 669 Oxygen Demand) a 24°C, com fotoperíodo de 12 horas. A porcentagem de germinação foi
 670 calculada com 24 horas (germinação inicial - Gi) e com 168 horas (germinação final - Gf) após
 671 a plotagem do experimento, adaptado de Dos Santos et al., (2017). O índice de velocidade de
 672 germinação (IVG) (CHIAPUSIO et al., 1997) foi analisado de 4 em 4 horas, até completar 48hs
 673 e em intervalos de 12 horas até o término do experimento, completando 168 horas, segundo a
 674 equação:

$$675 \quad (I) \quad IVG = N_1/1 + (N_2 - N_1)/2 + (N_3 - N_2)/3 + \dots + (N_n - N_{n-1})/n$$

676 em que $N_1, N_2, N_3, N_n, N_{n-1}$ correspondem ao número de sementes germinadas na primeira,
 677 segunda, terceira, n, n-1 avaliações, respectivamente; e n à avaliação.

678 A velocidade de germinação (VG%) (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011),
 679 foi avaliado em intervalos de 24 horas, segundo as fórmulas:

$$680 \quad (II) \quad VG (\%) = \sum (Gt/D) / \sum (Gc/D \times 100)$$

681 onde, Gt é o número de sementes germinadas diariamente do tratamento; Gc corresponde ao
 682 número de sementes germinadas diariamente do controle; e D é o número de dias
 683 correspondente de cada avaliação.

684 O comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA) foram mensurados a
 685 partir de 10 plântulas escolhidas aleatoriamente de cada repetição, medidas com paquímetro
 686 digital (DIGIMESS® 150mm). As plântulas foram pesadas e compondo a massa fresca (MF),
 687 e levado a estufa com circulação de ar a 70°C até atingir peso constante, para determinar a
 688 massa seca (MS).

689 **Ensaio de Citotoxicidade**

690 O experimento constou das mesmas condições dos ensaios de fitotoxicidade, descrito
 691 anteriormente. Contudo, as raízes de *L. sativa* expostas as frações foram coletadas com 24 e 48
 692 horas de acordo com o tempo de germinação das sementes em cada tratamento. Sendo as
 693 mesmas fixadas em Carnoy 3:1 (álcool etílico: ácido acético P.A.) e armazenadas a -20°C. As
 694 lâminas foram confeccionadas pelo método de esmagamento (RODRIGUES et al., 2013). O
 695 índice mitótico (IM) foi determinado a partir da análise de 1000 células por tratamento, por
 696 meio da expressão:

697 (III)
$$IM = NCM/NTC \times 100$$

698 sendo que NCM é o número de células em mitose; e NTC o número total de células analisadas.

699 A frequência de anormalidades cromossômicas (FAC) foi calculado com base no total de
 700 células avaliadas por tratamento de forma que:

701 (IV)
$$FAC = NAC/NTC \times 100$$

702 onde NAC é o número de anormalidades cromossômicas no tratamento; e NTC é o número
 703 total de células.

704 **Análise Estatística**

705 Os efeitos das frações foram analisados pelo método do índice de resposta (Responsive
 706 Index - RI) elaborado por Williamson e Richardson (1988). O índice de resposta (RI) foi
 707 determinado da seguinte forma:

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

709 sendo C a velocidade de germinação do controle; e T a velocidade de germinação do tratamento.

710 Os valores de RI variam de + 1 a -1, sendo que os valores positivos indicam estimulação
 711 e os valores negativos demonstram o grau de inibição em relação aos controles, que são tratados
 712 como ponto de referência e recebem o valor "0" (zero). Valores absolutos de IR variaram
 713 diretamente de acordo com o impacto dos efeitos.

714 O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com cinco
715 tratamentos e cinco concentrações (5x5), com três repetições de 30 sementes cada. Os RI de
716 cada parâmetro foi submetido à análise de variância por meio do teste de Scott-Knott ($P < 0,05$)
717 utilizando o programa Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2014).

718 RESULTADOS E DISCUSSÃO

719 **Caracterização fitoquímica do extrato hidroetanólico de *D. erecta* L.**

721 Os compostos obtidos pela análise de espectrometria de massas foram registrados com
722 seus respectivos valores para $[M-H]^-$ íons e $[M-H]^+$ íons. Para ambos os modos de análises
723 destes íons, fragmentos em múltiplos estágios foram obtidos, o que permitiu a identificação de
724 20 estruturas químicas entre 36 leituras realizadas pelo equipamento. As moléculas e suas
725 respectivas estruturas foram propostas de acordo com a razão da massa e carga relatada na
726 literatura, assim como com os mecanismos de fragmentação. Os espectros completos de
727 varredura dos íons no modo negativo são mostrados na Figura 1, e os dados de fragmentação
728 são registrados na Tabela 1 para $[M-H]^-$ e na Tabela 2 para $[M-H]^+$. Os espectros de massa em
729 múltiplos fragmentos (MS/MS) são elucidados nas Figura 3-6 para modo de operação negativo
730 e nas Figuras 7-9 para operação em modo positivo. As estruturas químicas e mecanismos de
731 fragmentação para cada composto identificado são elucidados na Figura 10.

733 A fragmentação do íon precursor a m/z 191 $[M-H]^-$ produziu fragmentos a m/z 173 com
734 perda de uma molécula de água $[M-H-18]^-$, m/z 145, sendo uma fragmentação baseada na reação
735 retro-Diels-Alder $[M-H-18-28]^-$ e m/z 101 seguido da perda de uma carboxila, que corresponde
736 à fragmentação do Ácido químico (composto 1). O íon precursor a m/z 255 $[M-H]^-$ sofre a
737 quebra perdendo 44 u.m.a seguida de formação de carboxila, referente a Pinocebrina
738 (composto 2). Os espectros do composto 3 a partir do fragmento detectados a m/z 299 formado
739 pelos fragmentos m/z 283 devido à perda de metila $[M-H-16]^-$ e m/z 227 $[M-H-16-56]^-$ que

740 correspondem a quebra tripla de uma metila, retro-Diels-Alder e uma hidroxila, característica
741 das moléculas de flavonoides, sugerindo segundo a literatura como à Diosmetina.

742 O composto 4 caracterizado pela fragmentação de m/z 329 em m/z 314 $[M-H-16]^-$ pela
743 perda de grupo metila mais um hidrogênio e m/z 285 perdendo uma metoxila, identificado como
744 Betuletol. O diagnóstico do para $[M-H]^-$ em m/z 396 formando fragmentos em MS^2 em m/z 353
745 $[M-H-43]^-$ perdendo uma unidade de isobutenila e m/z 296 que perde a unidade 1-pentenila e
746 um hidrogênio, caracterizaram a Chefouxantona (composto 5). O β -sitosterol foi determinado
747 com base em seu íon precursor m/z 414, seguido de MS^2 para m/z 386 com a perda de carbonila,
748 m/z 372 $[M-H-28-15]^-$ perde uma metila e para m/z 324 há a perda simultânea de 3 metilas e
749 rearranjo eletrônico na molécula, correspondendo ao composto 6.

750 Os iridoídeos Durantereptosídeo A, B e C foram identificados a partir dos fragmentos m/z
751 597, m/z 551 e m/z 567. Sendo que o composto 7 corresponde a fragmentação do $[M-H]^-$ em
752 m/z 551 para MS^2 em m/z 533 perdendo uma molécula de água com rearranjo, a perda de 130
753 u.m.a equivale a unidade de cinamato, m/z 385 $[M-H-18]^-$ para a perda de uma molécula de
754 água, seguido de m/z 371 que corresponde a perda de metila e m/z 241 devido à quebra interna
755 do conjunto de anéis e rearranjo estrutural da molécula constituindo o Durantereptosídeo B.
756 Para a m/z 567 em MS^2 com a formação dos íons m/z 523 $[M-H-44]^-$ pela perda de hidroxila,
757 m/z 387 onde se perde uma molécula de água, um grupo metila seguido de uma unidade
758 paracresol obtendo a identificação para Durantereptosídeo B, sendo o composto 8. O
759 Durantereptosídeo A em fragmentação MS^3 a partir do íon m/z 597 formando por m/z 551 $[M-$
760 $H-46]^-$ perdendo uma metoxila e uma molécula de água, m/z 385 perdendo o grupo cinamato e
761 uma molécula de água seguido de rearranjo estrutural, m/z 295 perdendo a molécula de açúcar,
762 seguido da perda de uma água, um grupo carboxila e rearranjo estrutural e m/z 223 com uma
763 quebra retro-Diels-Alder seguido de rearranjo estrutural (composto 9).

764 A partir do íon precursor a m/z 1005 $[M-H]^-$ e seu espectro MS/MS mostrou íon produto
765 a m/z 977 $[M-H-28]^-$ com a perda de duas metilas, m/z 802 perde-se a raminose e duas metilas,
766 m/z 729 onde sucede a perda de quatro metilas e duas águas, para m/z 592, 391, que corresponde
767 a Durantanina IV, composto 10. Enquanto que a Durantanina V caracterizado em m/z 1219
768 seguido de MS^2 para m/z 1129, 955, 867 corresponde ao composto 11.

769 A Figura 2 representa os espectros completos de varredura dos íons para operação em
770 modo positivo, e os dados de fragmentação são registrados na Tabela 2 para $[M-H]^+$. E seus
771 espectros em múltiplos fragmentos (MS/MS) assim como as estruturas químicas e mecanismos
772 de fragmentação para cada composto identificado são elucidados nas Figuras 7-9.

773 A fragmentação dos compostos no modo de ionização positiva apresentou produtos para
774 íon precursor de m/z 298 apresentou os picos em m/z 280, 266 e 254, sugerindo a formação do
775 composto 12 o Durantol. O composto 13 apresentou espectro de massa com íon precursor em
776 m/z 304 e íons produto em m/z 285, 106 e 102 caracterizado como Cefalezomina H. Para a
777 fragmentação de m/z 343 $[M-H]^+$ e seu espectro MS / MS mostrou características em m/z 342,
778 327, 313 e 297, as fragmentações confirmam a estrutura do Neoclerodanendioliídeo, composto
779 14.

780 A fragmentação do íon precursor a m/z 371 $[M-H]^+$ do composto 15 mostrou um pico em
781 m/z 355 correspondente ao alcaloide Tetraidrostefabina. O composto 16 com íon precursor em
782 m/z 575 apresenta fragmentação em MS^4 para 543, 427, 409, 413, 395, 265, 247 e 215 sendo
783 identificado como Triacetil-D-glicopiranosil-tetraidroxiaurona. Fragmentação de MS^2 com o
784 íon precursor do composto 17 em m/z 683 levaram a íons de produto em m/z 664, 621, 609,
785 412 e 310 sugerindo a presença de Pinoresinol diglicopiranosídeo.

786 A fragmentação do íon precursor do composto 18 em m/z 711 $[M-H]^+$ apresentou picos
787 de fragmentação MS^2 em m/z 692, 607, 579, 531, 429 e 338 caracterizado como a cumarina o
788 Bruceantinosídeo A. O composto 19 apresenta pico precursor de m/z 933 sendo fragmentado

789 em íons de m/z 915, 901, 859, 753, 724, 656, 597, 575, 516 e 333, identificado como a Peonidina
790 3-O-cafeoil-O-ramnosilglicosídeo-5-O-glicosídeo (composto 20). O tanino Waterose H com
791 íon precursor em m/z 1127 fragmentado em m/z 1051, 915, 723, 691 e 575, correspondente ao
792 composto 21.

Tabela 1. Caracterização dos compostos presentes em extrato hidroetânico de folhas de *D. erecta* L. por injeção direta em espectrômetro de massas modo iônico negativo.

Com.	[M-H] ⁻	MS ^a fragmentos	Nome sugerido da estrutura	Classe de Metabólito	Referência
1	191	173, 145, 101	Ácido químico	Ác Fenólico	Bastos et al., 2007
2	255	211	Pinocembrina	Flavonoide	León-González et al., 2012
3	299	283, 227	Diosmetina***	Flavonoide	Justesen (2000)
4	329	314, 285	Betuletol	Flavonoide	Buriol et al., 2009
5	396	353, 296	Chefouxantona	Xantona	Lannang et al., 2006
6	414	386, 372, 324	β-Sitosterol**	Esteróide	Abou-setta; Nazif; Shaha (2007)*
7	551	533, 403, 385, 371, 241	Duranterectosídeo B	Iridoide	Takeda et al., 1995*
8	567	523, 387, 241	Duranterectosídeo C	Iridoide	Takeda et al., 1995*
9	597	551, 385, 295, 223	Duranterectosídeo A	Iridoide	Takeda et al., 1995*
10	1005	977, 802, 729, 592, 391	Durantanina IV	Saponina	Ahmed et al., 2009*
11	1219	1129, 955, 867	Durantanina V	Saponina	Ahmed et al., 2009*

Com, Compostos; [M-H]⁻, taxa de massa iônica / carga; MSⁿ, fragmentações de múltiplos estágios

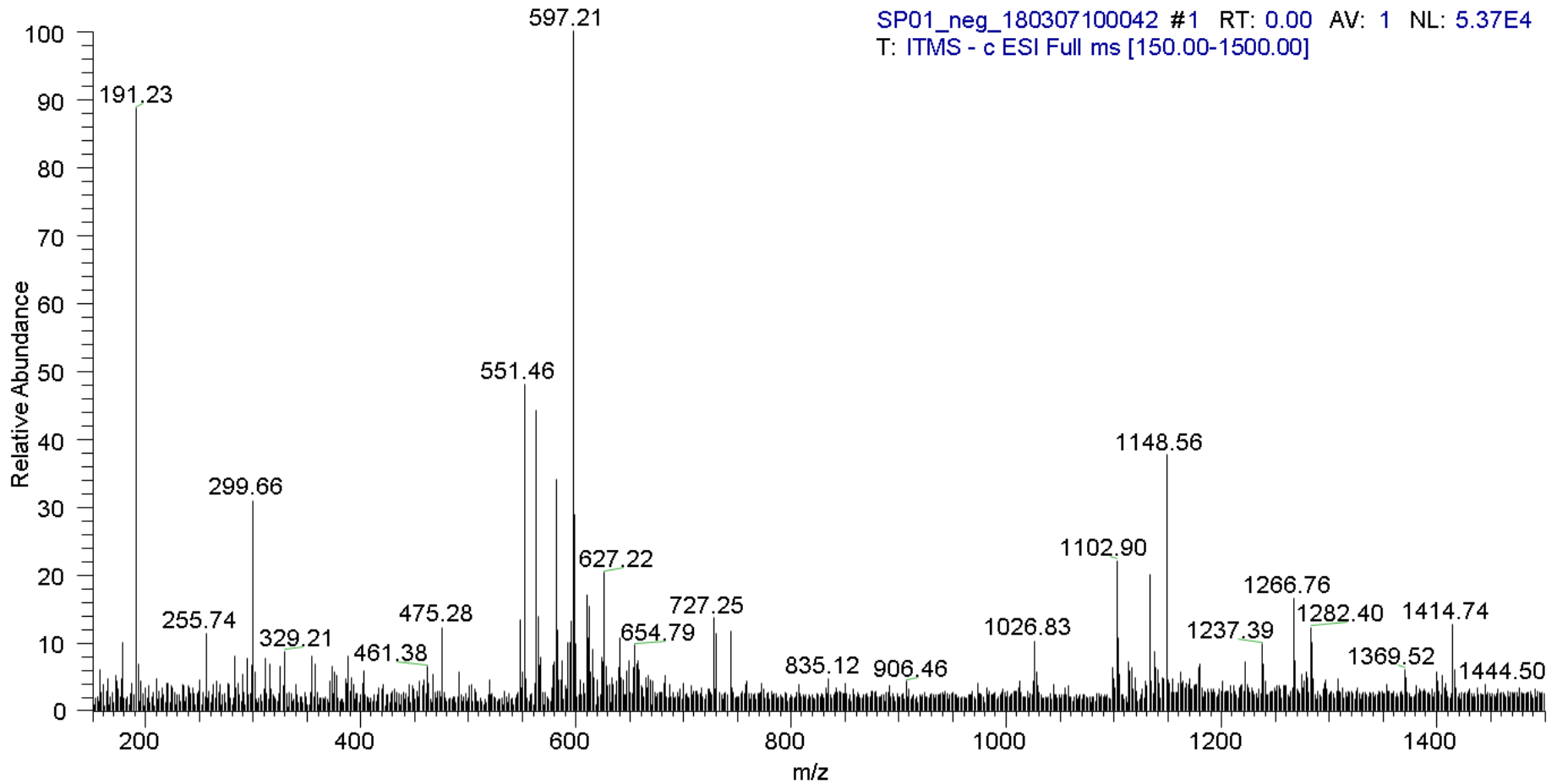
Tabela 2. Caracterização dos compostos presentes em extrato hidroetânico de folhas de *D. erecta* L. por injeção direta em espectrômetro de massas modo positivo.

Com.	[M-H] ⁺	MS ^a fragmentos	Nome sugerido da estrutura	Classe de Metabólito	Referência
12	298	280, 266, 254	Durantol	Esteróide	Singh et al 2016*
13	304	285, 106, 102	Cefalezomina H	Alcaloide	Morita 2002
14	343	342, 327, 313, 297	Neoclerodanendiólídeo	Diterpeno	Kapingua 2000
15	371	355	Tetraidrostefabina	Alcaloide	Patra et al., 1987
16	575	543, 427, 413, 395, 265, 247	Triacetil- <i>D</i> -glicopiranosil-tetraidroxiaurona	Flavonoide	Wang et al., 1997
17	683	664, 621, 609, 412, 310	Pinoresinol diglicopiranosídeo	Iridoide	Qiu et al., 2003
18	711	692, 607, 579, 531, 429, 338	Bruceantinosídeo A	Cumarina	Zhao et al., 2011
19	933	915, 901, 859, 753, 724, 656, 597, 575, 516, 333	Peonidina 3- <i>O</i> -cafeoil- <i>O</i> -ramnosilglicosídeo-5- <i>O</i> -glicosídeo	Antocianidina	Fossen et al., 2003
20	1127	1051, 915, 723, 691, 575	Waterose H	Oligômero	Kobayashi 2000

Com., composto; [M-H]⁺, taxa de massa iônica / carga; MSⁿ, fragmentações de múltiplos estágio.

794

Figura 1. Espectrometria digital em full scan por injeção direta (FIA-ESI-IT-MS) obtido em modo iônico negativo do extrato hidroetanólico das folhas de *D. erecta* L.



795

796 **Figura 2.** Espectrometria digital em full scan por injeção direta (FIA-ESI-IT-MS) obtido em modo iônico positivo do extrato hidroetanólico das
797 folhas de *D. erecta* L.

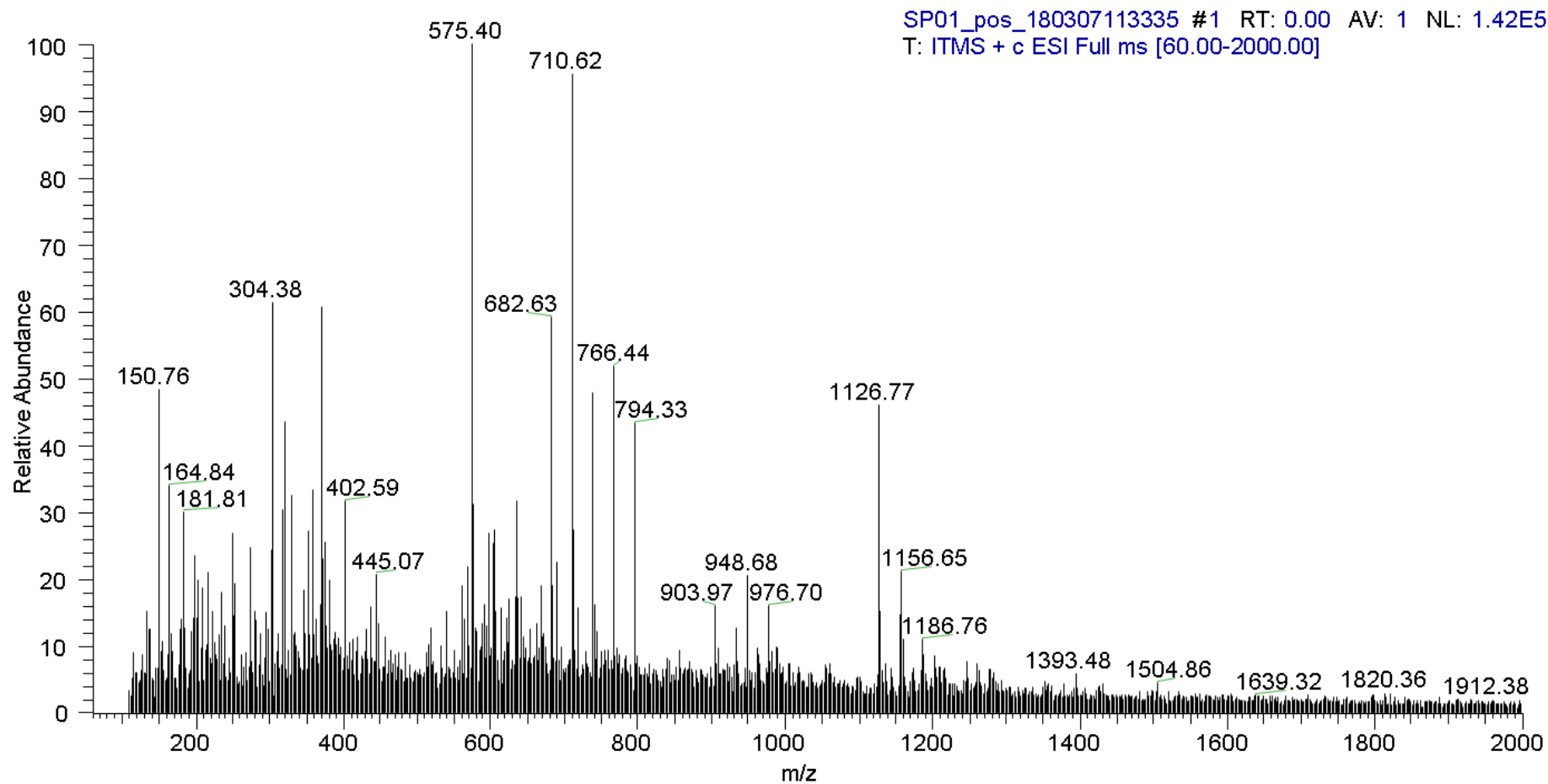
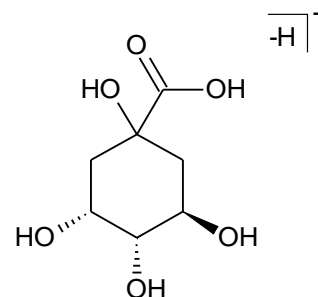
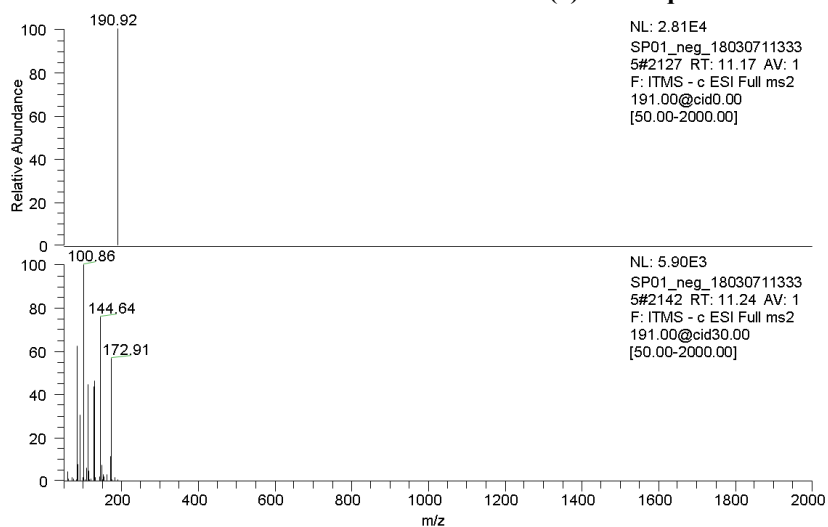
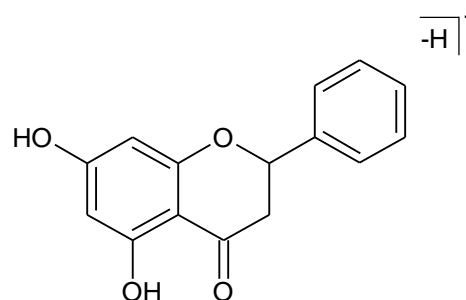
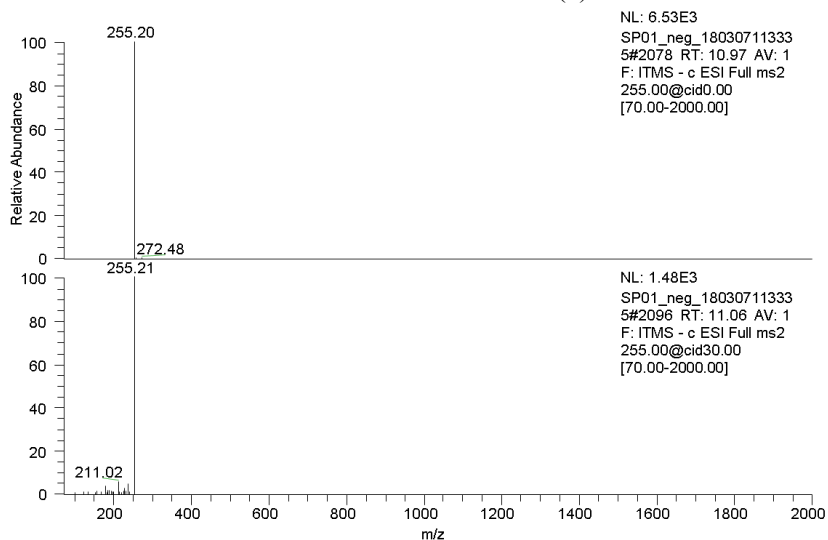


Figure 3. Espectro MS / MS no modo negativo de compostos individuais (m/z 190 a m/z 299).

(1) Ácido químico



(2) Pinocembrina



(3) Diosmetina

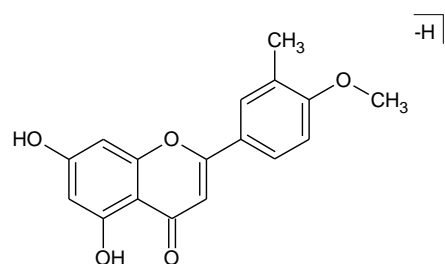
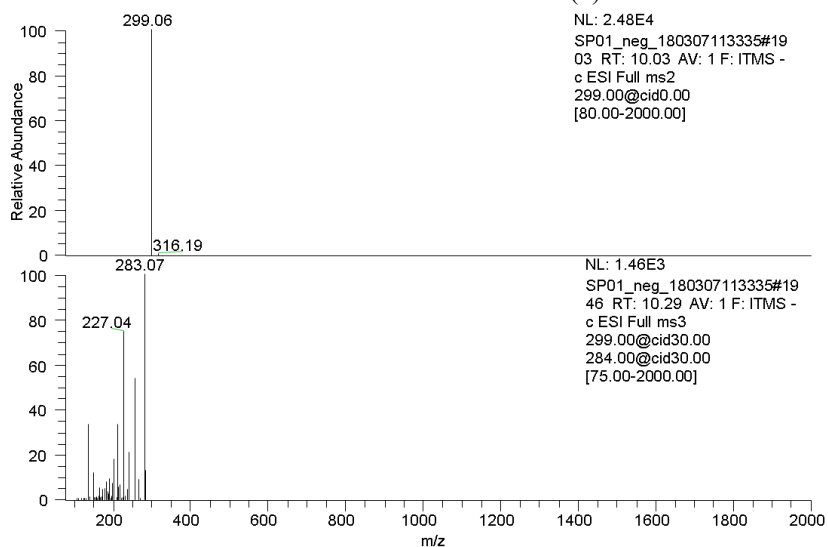


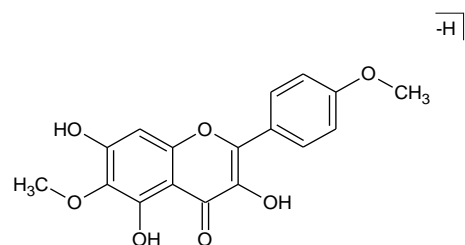
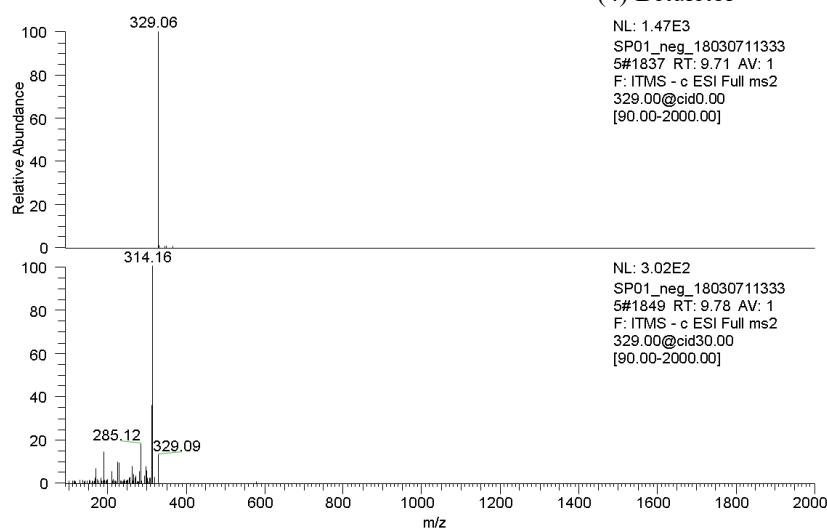
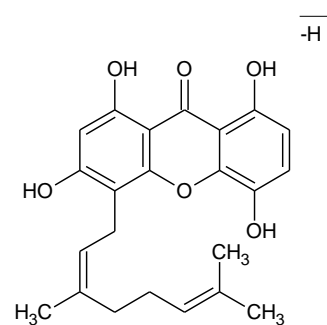
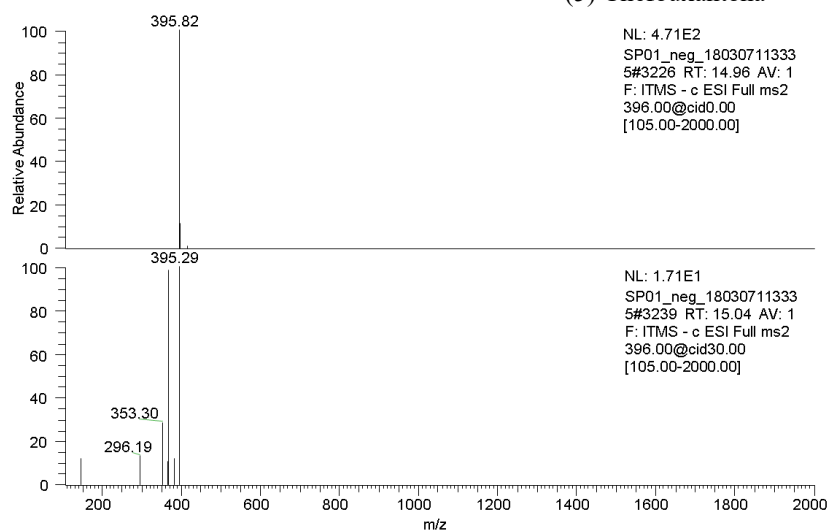
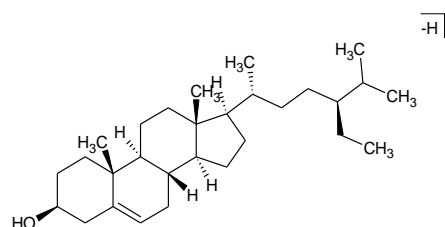
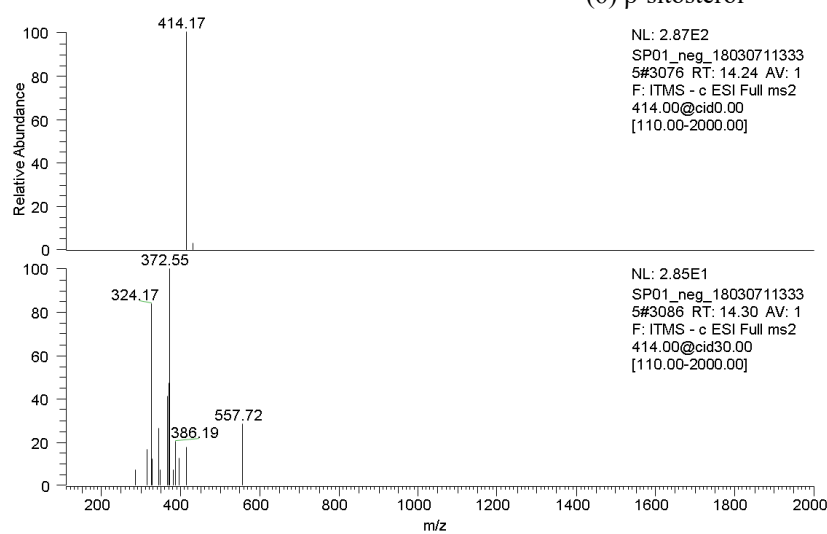
Figure 4. Espectro MS / MS no modo negativo de compostos individuais (m/z 329 a m/z 414).**(4) Betuletol****(5) Chefouxantona****(6) β -sitosterol**

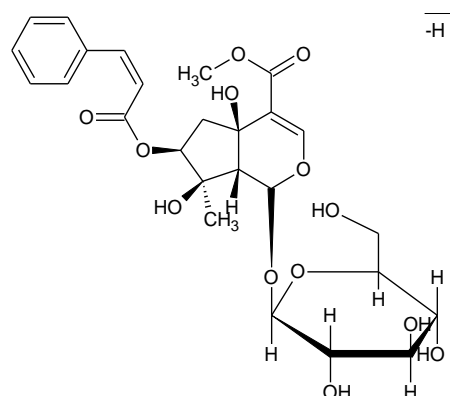
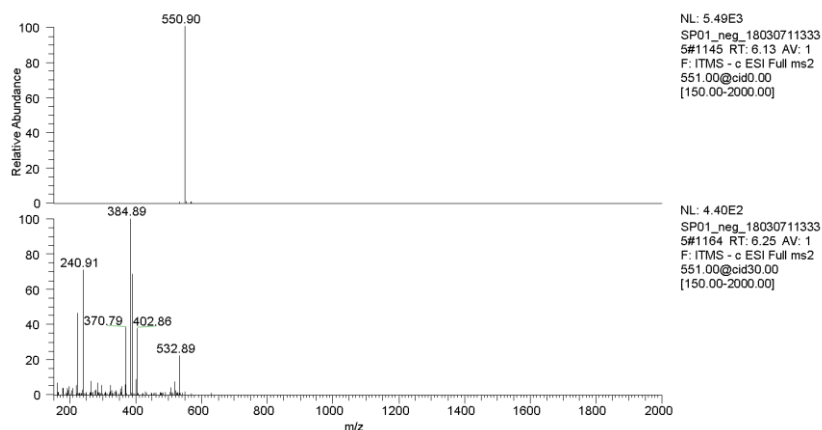
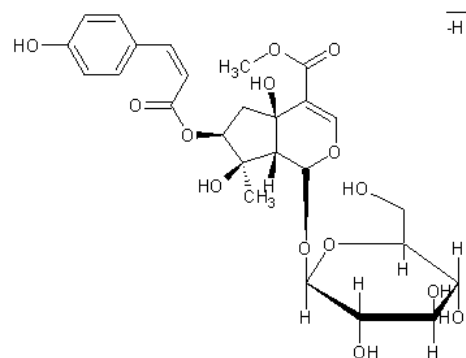
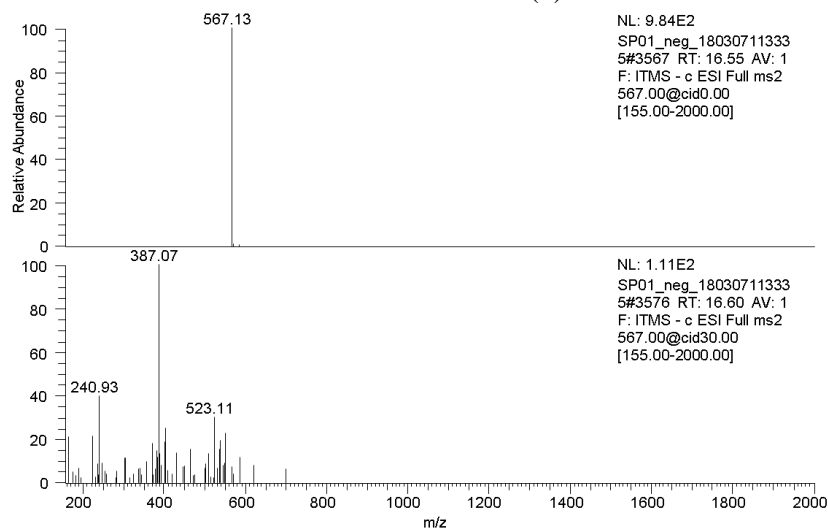
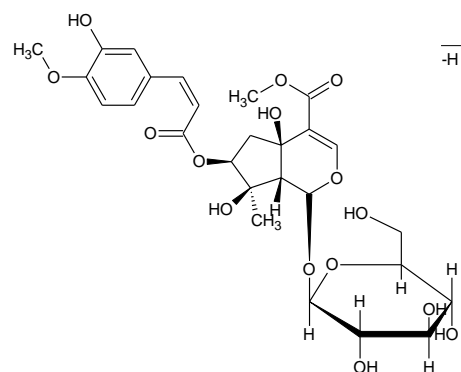
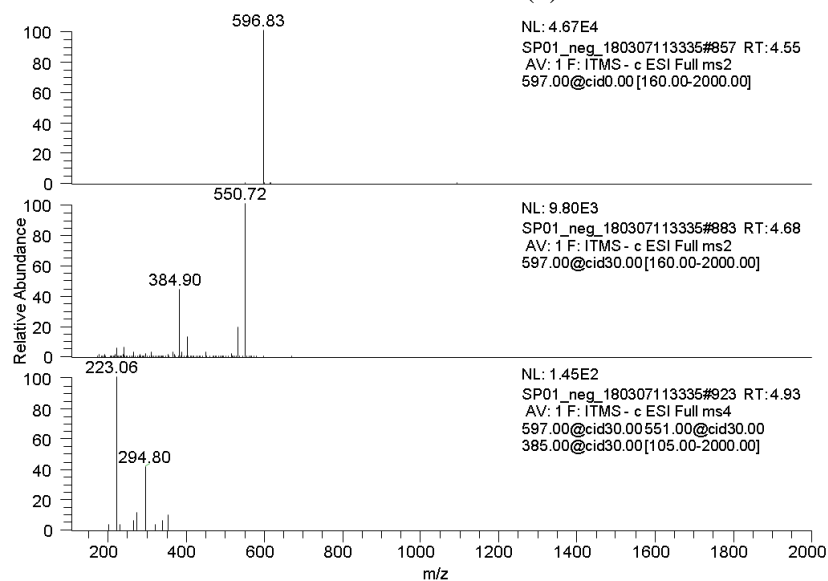
Figure 5. Espectro MS / MS no modo negativo de compostos individuais (m/z 551 a m/z 597).**(7) Duranterectosídeo B****(8) Duranterectosídeo C****(9) Duranterectosídeo A**

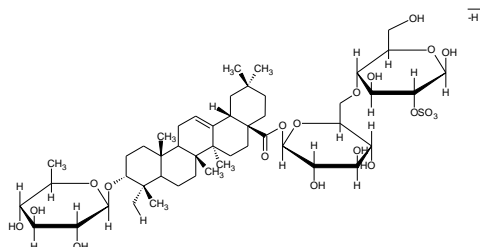
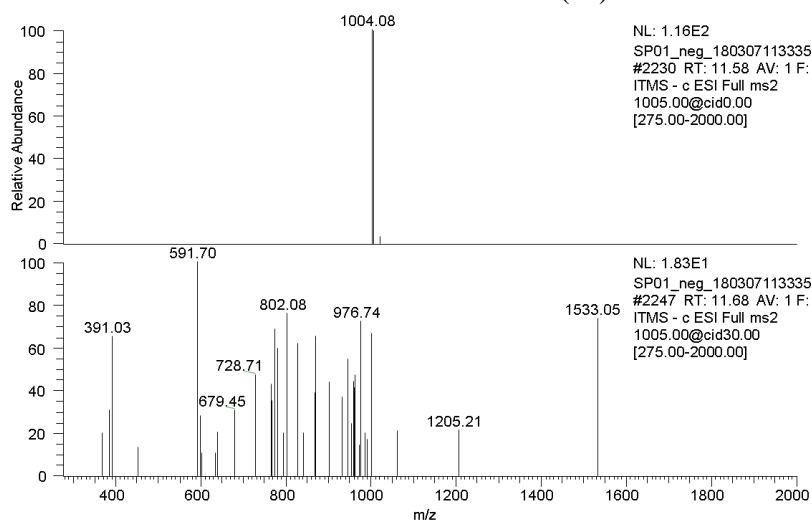
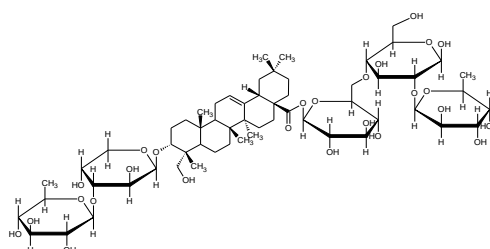
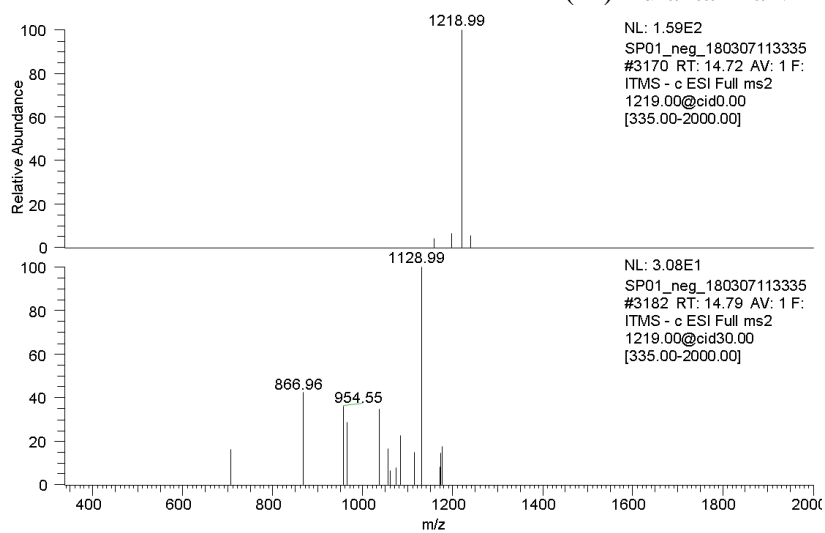
Figure 6. Espectro MS / MS no modo negativo de compostos individuais (m/z 1004 a m/z 1219).**(10) Durantanina IV****(11) Durantanina V**

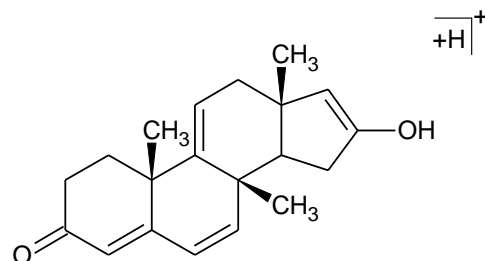
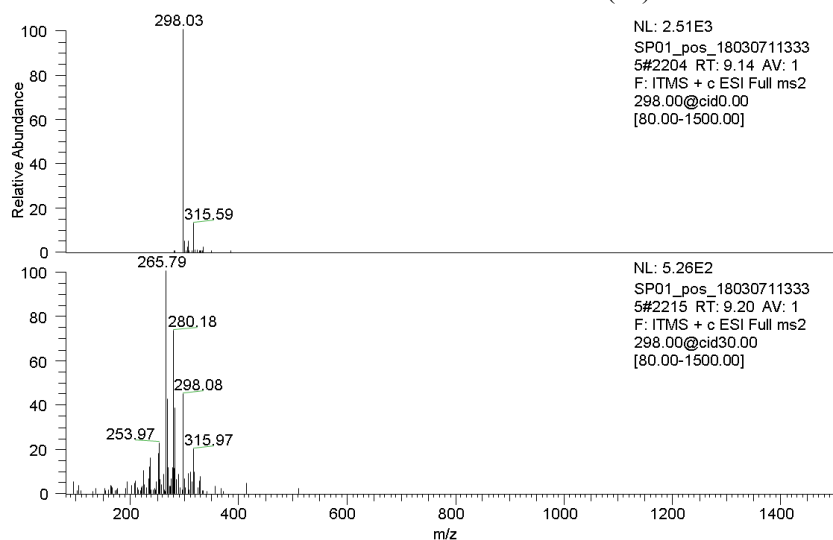
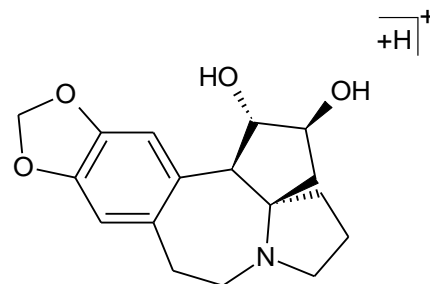
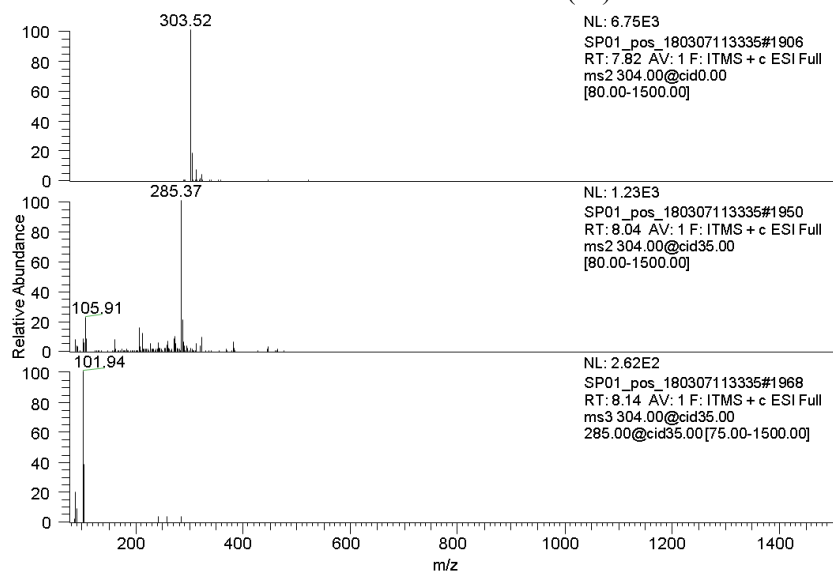
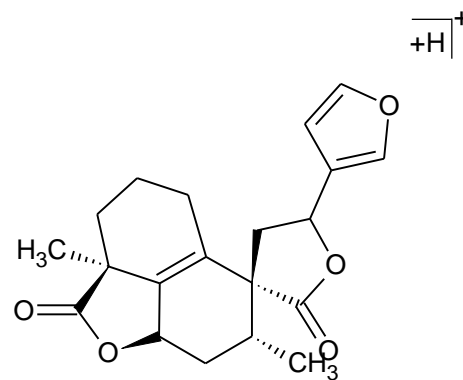
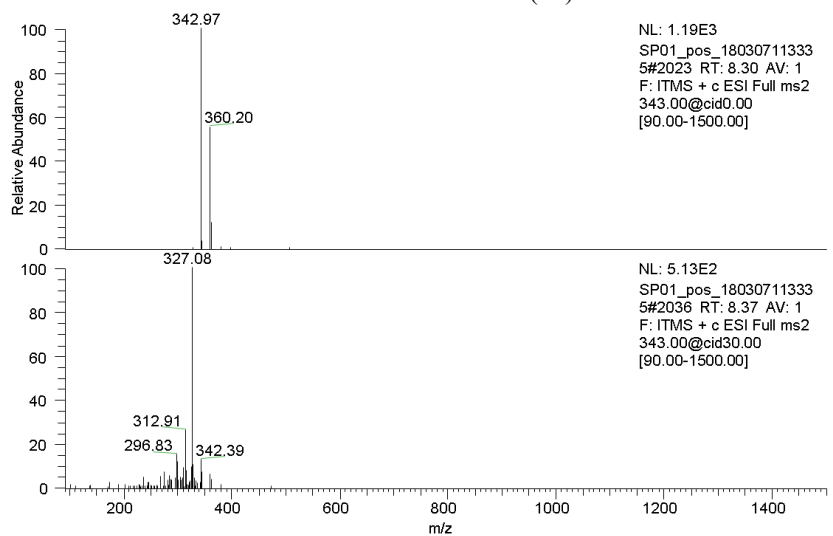
Figure 7. Espectro MS / MS no modo positivo de compostos individuais (m/z 298 a m/z 343).**(12) Durantol****(13) Cefalezomina H****(14) Neoclerodanendiólido**

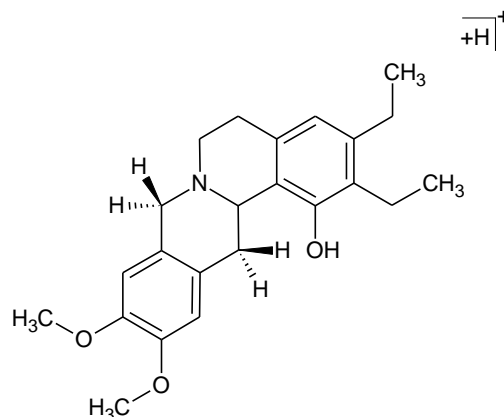
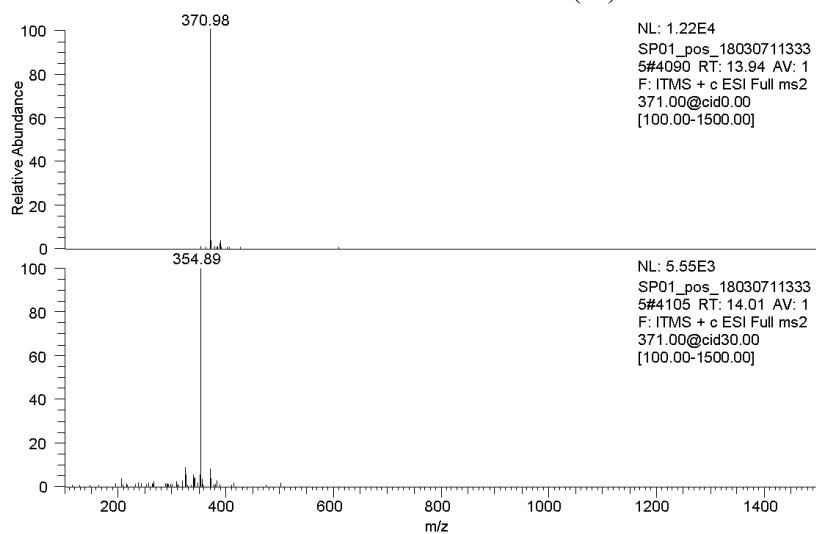
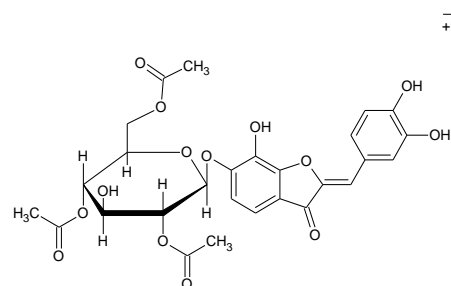
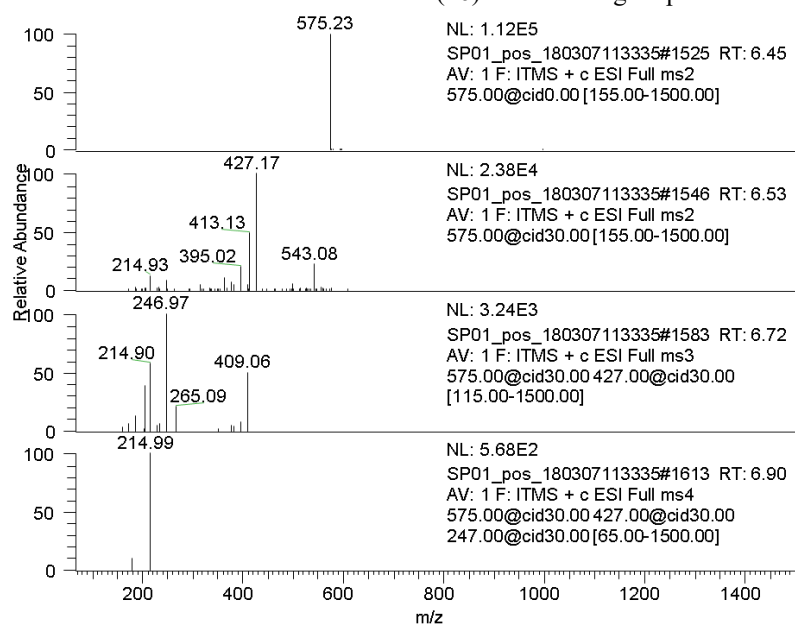
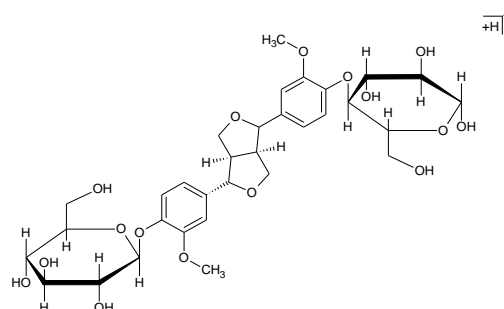
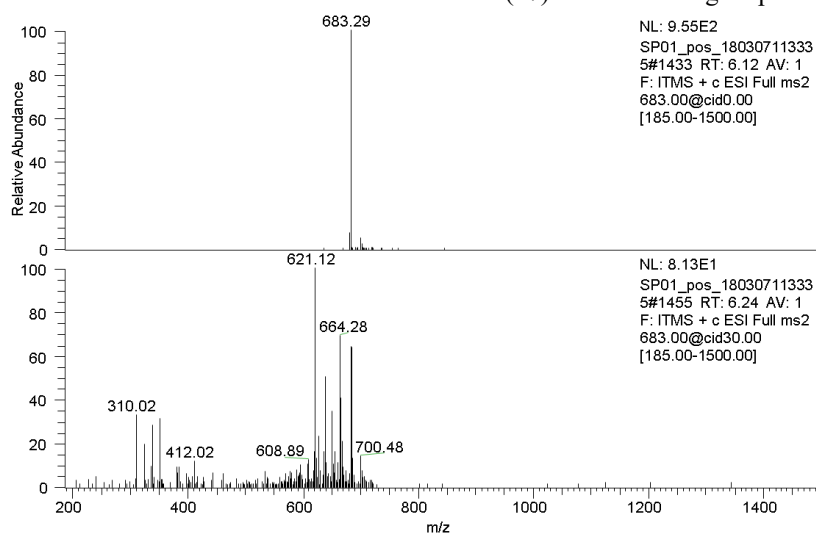
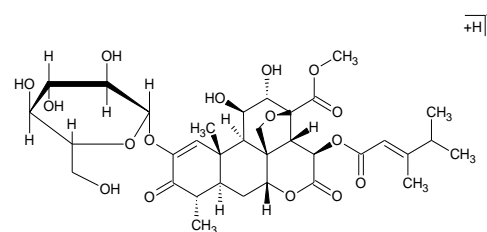
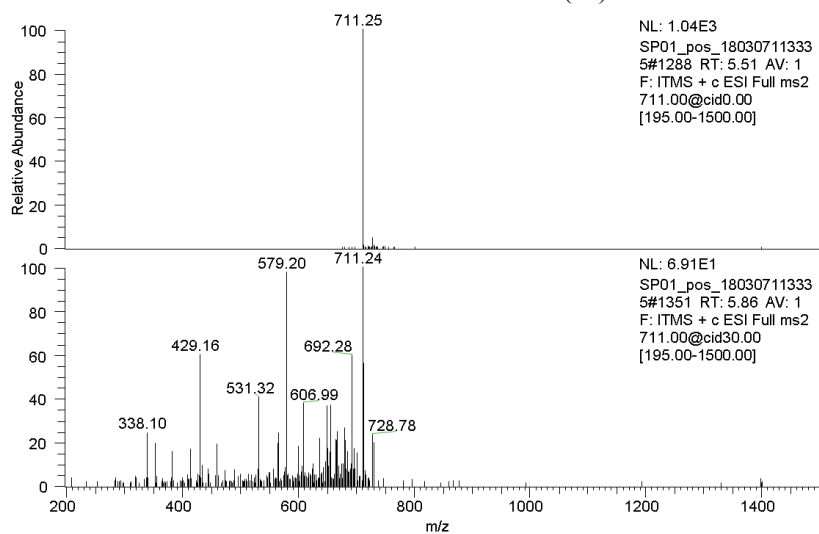
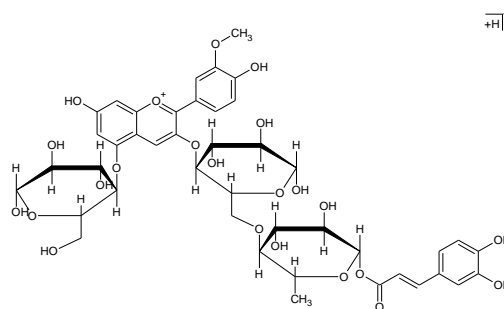
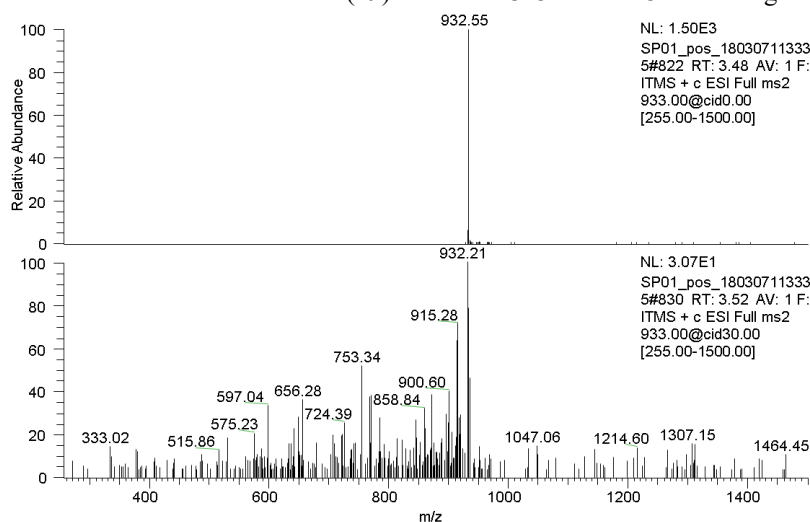
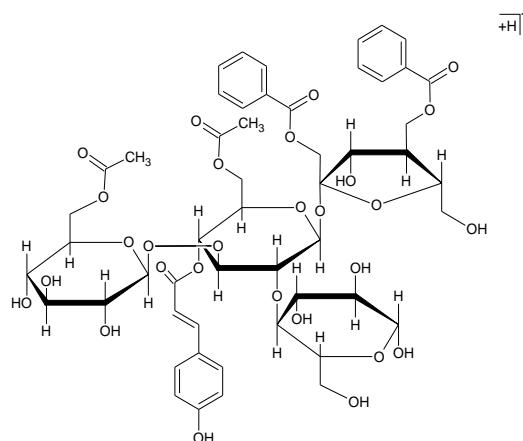
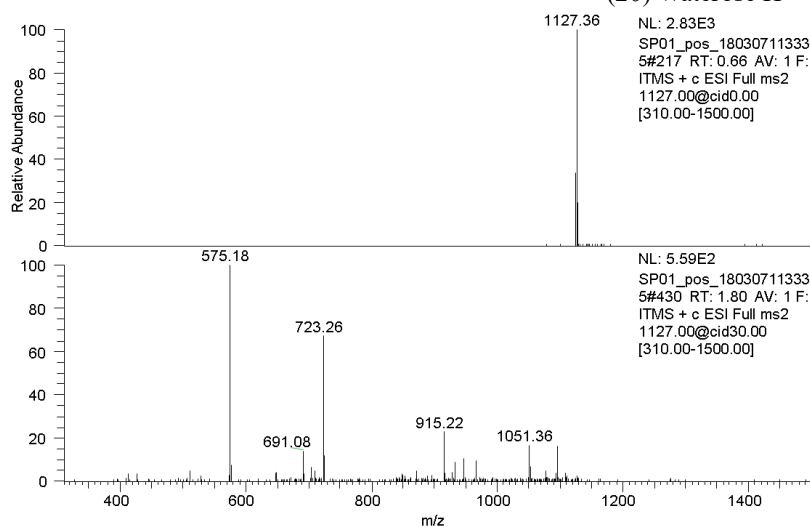
Figure 8. Espectro MS / MS no modo positivo de compostos individuais (m/z 371 a m/z 683).**(15) Tetraidrostefabina****(16) Triacetil-D-glicopiranosil-tetraidroxiurona****(17) Pinoresinol diglicopiranosídeo**

Figura 9. Espectro MS / MS no modo positivo de compostos individuais (m/z 711 a m/z 1227).**(18) Bruceantinosídeo A****(19) Peonidina 3-O-cafeoil-O-ramnosilglicosídeo-5-O-glicosídeo****(20) Waterose H**

806 Para o fracionamento do extrato foliar hidroetanólico partiu-se de uma massa inicial de 20g
 807 de extrato liofilizado sendo obtido 10,9 mg.g⁻¹ da fração hexânica (FrHx), 25,07 mg.g⁻¹ da fração
 808 etér etílico (FrEE), 27,75 mg.g⁻¹ da fração dicloro metano (FrDcM), 506 mg.g⁻¹ da fração
 809 butanólica (FrBt), 21,03 mg.g⁻¹ da fração acetato de etila (FrAc) e 299 mg.g⁻¹ da fração aquosa
 810 (FrAq). A fração hexânica não foi utilizada nos bioensaios devido ao seu baixo rendimento e a
 811 baixa solubilidade em Tween 80 a 4%, limite esse previamente avaliado como sendo o de menor
 812 toxicidade ao bioensaio e maior grau de solubilidade das diferentes frações.

813 As frações foram submetidas a avaliações qualitativas para a presença dos metabólitos
 814 secundários de acordo com reações químicas descritas por Cardoso (2009). Onde pode ser
 815 identificado a presença de alcaloides, antocianidinas, antraquinona, compostos fenólicos,
 816 cumarinas, flavonoides, saponinas, taninos e terpenos (Tabela 3).

817 **Tabela 3.** Características fitoquímicas das frações Éter etílico (FrEE); Dicloro Metano (FrDcM);
 818 Butanólica (FrBt); Acetato de Etila (FrAc) e aquosa (FrAq) de folhas de *Duranta erecta* L. obtidas
 819 a partir de folhas de *Duranta erecta* L..

	FrEE	FrDcM	FrBt	FrAcE	FrAq
Alcaloides	+	+	-	-	-
Antocianidinas	-	-	+	+	+
Antraquinona	-	-	-	-	-
Alcaloides	+	+	+	+	+
Compostos fenólicos					
Cumarinas	-	-	-	-	+
Flavonoides	-	-	+	-	+
Saponinas	-	-	+	-	+
Taninos	-	+	-	-	+
Terpenos	+	+	-	-	+

820 A análise do pH das frações (Tabela 4), apesar da variação de 5,6 a 7,8, está dentro da faixa
 821 tolerável para *L. sativa*, enquanto que os efeitos prejudiciais são notados em pH abaixo de 4 e
 822 superior a 10, ou seja, tanto a germinação quanto o crescimento das plântulas são afetados para pH
 823 extremamente alcalino ou ácido (EBERLEIN, 1987; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Já o
 824 efeito prejudicial da osmolaridade pode ser verificado tanto na germinação quanto no índice de

825 velocidade de germinação, que segundo Gatti, Perez e Lima (2004) sementes de alface toleram
 826 potencial osmótico que não ultrapasse -0,2 MPa em testes alelopáticos. A osmolaridade das frações
 827 variou entre -0,047 a -0,065 MPa, sendo estes valores inferiores ao limite tolerado pelo bioensaio.
 828 Pode-se afirmar que os valores mensurados de pH e do potencial osmótico não são promotores de
 829 interferência sobre os parâmetros germinativos avaliados das sementes de *Lactuca sativa* e que os
 830 efeitos inibitórios tenham ocorrido devido à presença, principalmente, de substâncias com
 831 atividade fitotóxica.

832 **Tabela 4.** Características físico-químicas das frações Etér etílico (FrEE); Dicloro Metano
 833 (FrDcM); Butanólica (FrBt); Acetato de Etila (FrAc) e aquosa (FrAq) de folhas de *Duranta erecta*
 834 L. obtidas a partir de folhas de *Duranta erecta* L para a concentração de 1200ppm.

Extrato	pH	PO (Mpa)
TW	6,9	-0,065
FrEE	5,6	-0,061
FrDcM	6,5	-0,063
FrBt	6,9	-0,059
FrAcE	7,0	-0,065
FrAq	7,8	-0,047

PO, potencial osmótico

835

836 **Bioensaios de fitotoxicidade de frações foliares de *D. erecta* L.**

837 O emprego do índice de resposta na avaliação dos parâmetros germinativos e morfológicos
 838 de bioensaios fornece uma fácil interpretação na inspeção visual por ser um a redução proporcional
 839 do tratamento em relação ao controle, que recebe o valor de “0” (zero) e os demais tratamentos
 840 são interpretados para a ocorrência de estimulação (RI positivo) ou quando ocorre a inibição (RI
 841 negativo), sendo a atribuição máxima de valor 1 (um), seja positivo ou negativo.

842 A germinação inicial (Gi) (Figura 10A) das sementes de *L. sativa* foram inibidas em todas
 843 as concentrações apenas para as FrEE e FrDcM, sendo que para a segunda a inibição é total a partir
 844 da concentração de 600ppm. Para as demais frações, apenas a concentração de 1200ppm da FrAcE

845 foi diferente estatisticamente ao controle. Tais tendências de inibição se mantiveram para a
846 germinação final (Figura 10B), onde apenas as frações FrEE e FrDcM foram estatisticamente
847 diferentes ao controle ($p < 0,05$) nas concentrações de 600 e 1200ppm, com destaque para a
848 concentração de 1200 ppm da FrEE que inibiu 57% da germinação de *L. sativa*, enquanto que as
849 concentrações de 600 e 1200ppm da FrDcM foram equivalentes inibindo cerca de 23%.

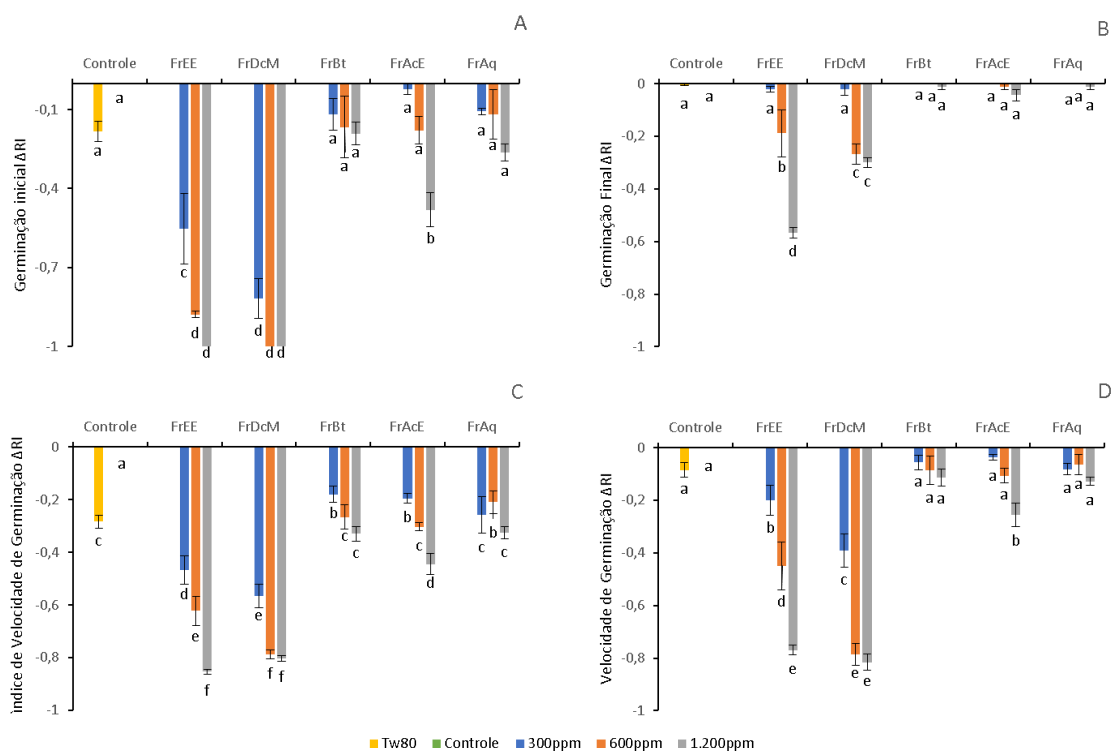
850 Matsumoto et al., (2010) verificou na fração líquido-líquido para folhas de *Annona glabra*
851 *L.* sobre sementes de alface (*cv.* Grand rapids) que sua germinação foi significativamente reduzida
852 a 2% apenas para o FrAcE. Filho et al., (2016) nos bioensaios de germinação de *M. pudica* expostas
853 a frações de extrato metanólico das folhas de *Eugenia flavescens* identificou efeito fitotóxico das
854 fases diclorometânica e acetato de etila com os maiores valores de inibição (77,6 e 71,2%),
855 enquanto a fase hexânica apresentou 55,2% e fase n-butanólica apresentou 57,0% de inibição.

856 Quanto ao vigor germinativo das sementes de *L. sativa* *cv.* Babá de Verão (Figura 10 C e D)
857 verifica-se ao comparar o emprego do Tween 80 a 4% como eluente das frações e o controle de
858 água destilada que houve uma diferença estatística entre eles para o índice de velocidade de
859 germinação (IVG) enquanto que para a velocidade de germinação (VG) estes foram estaticamente
860 iguais. Tal diferença pode ser explicada devido ao atraso da germinação dentro do intervalo de 24
861 horas, já que para o cálculo do IVG as contagens são efetuadas em intervalos de 4 horas dentro
862 das primeiras 48 horas. Tal atraso só é percebido devido a essa contagem minuciosa nas primeiras
863 24 horas, mas a taxa de Gi é estatisticamente igual entre eles (Figura 10 A). Essa diferença
864 estatística entre os controles não é verificada para a VG, que por sua vez é calculada para intervalos
865 de 24 horas. tais diferenças entre IVG e VG demonstra maior sensibilidade do IVG para avaliar
866 sementes de rápida germinação.

867 O efeito fitotóxico sobre o IVG, ao se excluir o efeito de interferência do Tween 80,
868 demonstra que as frações FrBt, FrAcE e FrAq se apresentam iguais ou dentro do intervalo dos
869 dados dos controles de água destilada e Tween 80 a 4% exceto para a concentração de 1200ppm
870 da FrAcE. Enquanto que as três concentrações avaliadas das FrEE e FrDcM apresentaram efeito

871 significativo reduzindo em aproximadamente 82% o IVG em relação ao controle de água destilada
 872 e 75% de inibição comparado ao Tween 80.

873 **Figura 10.** Índice de resposta dos parâmetros germinativos de *Lactuca sativa* L. submetidas as
 874 frações Etér etílico (FrEE); Dicloro Metano (FrDcM); Butanólica (FrBt); Acetato de Etila (FrAc)
 875 e aquosa (FrAq) de folhas de *Duranta erecta* L. e aos controles de água destilada e Tween 80 a
 876 4% para os parâmetros de: (A) Germinação inicial, com 24 horas; (B) germinação final, com 168
 877 horas após plotagem do experimento; (C) índice de velocidade de germinação (D) Índice de efeito
 878 alelopático. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).



879

880

A VG (Figura 10 C) apresenta o mesmo comportamento de redução, contudo os controles

881

se tornam estatisticamente iguais, havendo uma diferença entre eles de apenas 3%. Enquanto que

882

para as frações FrBt, FrAcE e FrAq novamente apenas a concentração de 1200 ppm da FrAcE

883

causou redução no VG em 25%. Os maiores efeitos prejudiciais foram observados nas

884

concentrações de 600 e 1200ppm para a FrDcM e na 1200ppm da FrEE causando redução média

885

de 79%. Muitos autores tem empregado a análise da VG pelo método do índice de resposta

886

proposto por Williamson e Richardson (1988) e denominam esse dado como índice de efeito

887

alelopático (RI) (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011; GAO et al., 2009; ZHANG et

888

al., 2010). Gao et al., (2009) verificou a influência do extrato de *Hemistepta lyrata* sobre a

889

germinação de cinco plantas cultivadas, determinando um RI inibitório que depende da planta alvo

890 e da concentração, ele ainda descreve este índice como um indicador importante para estudos de
891 efeito alelopático. Enquanto que Borella; Martinazzo; Aumonde (2011) verificou para extratos de
892 *Schinus molle* a inibição de sementes de rabanete em todas as concentrações.

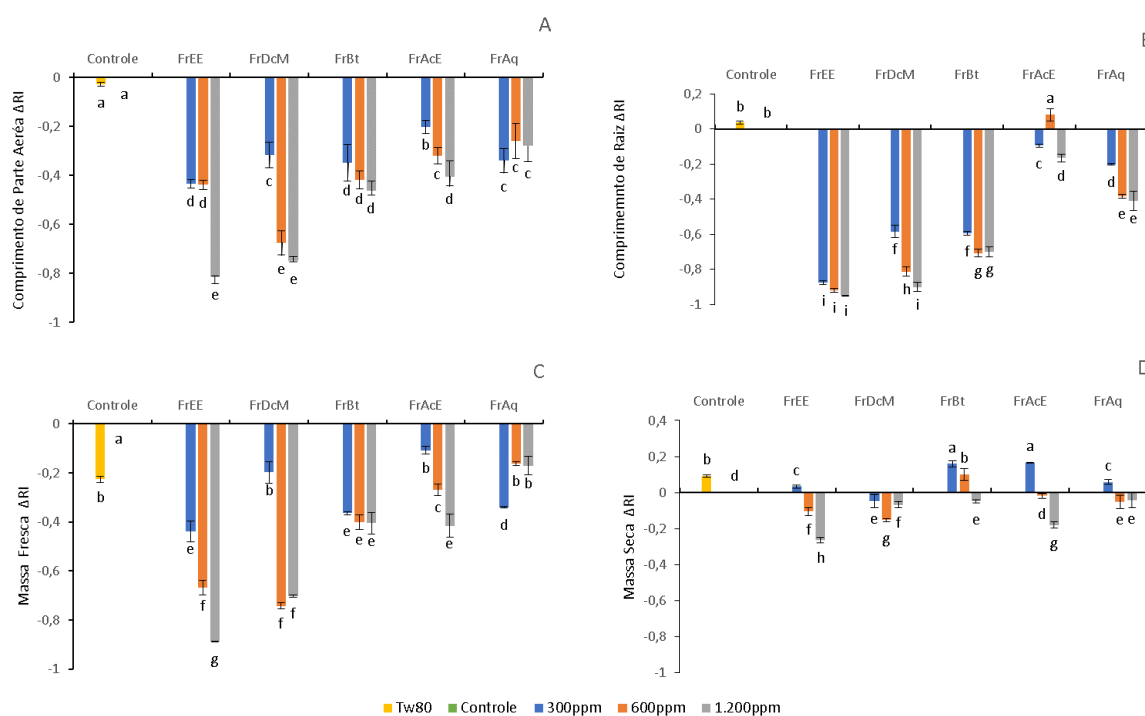
893 Os parâmetros morfológicos (Figura 11) de *Lactuca sativa* L. cv. Babá de Verão foram
894 intensamente afetados na maioria das frações avaliadas. O comprimento de parte aérea (CPA) na
895 Figura 11A apresenta inibição para todos os tratamentos em todas as concentrações. As frações
896 que mais se destacaram foram novamente as FrEE e FrDcM que nas maiores concentrações
897 reduziram o CPA em média de 76%, enquanto que a menor redução foi da ordem de 26% e
898 observada na concentração de 300ppm da FrAcE.

899 O comprimento de raiz (CR) na Figura 11B foi mais afetado na maioria das concentrações,
900 sendo em destaque a FrEE que não apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) em todas as
901 concentrações testadas, promovendo redução da ordem de 91%, assim como a concentração de
902 1200ppm da FrDcM. Em contrapartida, a concentração de 600ppm apresentou um comportamento
903 atípico para esse parâmetro, promovendo um estímulo de 13% no CR. A avaliação dos controles
904 de Tween 80 à 4% e de água destilada não apresentaram diferença significativa, sendo de caráter
905 inibitório para CPA (2,8%) e estimulatório para CR (3,8%). Devido ao contato direto com as
906 substâncias a serem testadas, as raízes das plantas alvos são comumente mais afetadas pelos
907 aleloquímicos do que a parte aérea e a germinação, como relatado por Chon; Nelson (2010). Em
908 contrapartida Matsumoto et al.,(2010) identificou apenas o extrato acetato de etila como inibidor
909 do crescimento da parte aérea porém não verificou diferença significativa para a radícula em todas
910 as frações testadas.

911 Na pesagem das plântulas (Figura 11 C e D) de *Lactuca sativa* L. cv. Babá de Verão é
912 observado alterações para todos os tratamentos em todas as concentrações, incluindo os controles
913 de Tween 80 à 4% e de água destilada o que pode ter influenciado na análise final dos parâmetros
914 de massa fresca (MF) e massa seca (MS), tal interferência foi de decréscimo de 22,6% (MF) e de
915 acréscimo de 10,24% (MS). Assim, os tratamentos dentro desse intervalo podem ser desprezados

916 para esses parâmetros. Isto posto, é seguro afirmar que a redução na MF (Figura 11C) sucedem
 917 em todas as concentrações das FrEE e FrBt, sendo a concentração de 1200ppm da FrEE redutora
 918 de 89% da MF. As demais frações reduzem a MF a partir da concentração de 600ppm, com
 919 exceção da concentração de 300ppm da FrAq. A MS (Figura 11 D) não apresentou um padrão
 920 correspondente ao CPA e ao CR, ou seja, mesmo com a redução desses parâmetros a MS teve um
 921 acréscimo em relação ao controle, principalmente na concentrações de 300ppm das FrBt e FrAcE,
 922 contudo o padrão constatado para as frações mais inibitórias foram repetidas para as concentrações
 923 de 600 e 1200ppm da FrEE e FrDcM.

924 **Figura 11.** Índice de resposta dos parâmetros morfológicos de *Lactuca sativa* L. submetidas as
 925 frações Etér etílico (FrEE); Dicloro Metano (FrDcM); Butanólica (FrBt); Acetato de Etila (FrAc)
 926 e aquosa (FrAq) de folhas de *Duranta erecta* L. (A) comprimento de parte aérea; (B) comprimento
 927 de raiz; (C) massa fresca; (D) massa seca. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de
 928 Scott-Knott ($p < 0,05$).



929 Os efeitos morfológicos das plântulas de alface são nitidamente contrastantes em relação as
 930 plantas controle e podem ser observados nas imagens da Figura 12. Características como
 931 escurecimento das raízes, presença de raízes secundárias numerosas e defeituosas, assim como o
 932 atrofiamento das mesmas, esses efeitos são verificados na maioria dos tratamentos.

934 **Figura 12.** Plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas as frações de folhas de *Duranta erecta* L.: A,
 935 fração Etér etílica (FrEE); B, fração Dicloro Metano (FrDcM); C, fração Butanólica (FrBt); D,
 936 fração Acetato de Etila (FrAc); E, fração aquosa (FrAq). As plântulas consistem respectivamente
 937 da esquerda para a direita em controles de Tween 80 a 4% e água destilada e os tratamentos nas
 938 concentrações de 300, 600 e 1200ppm.



939
 940 Esta diferença nos efeitos observados sobre os aspectos germinativos e morfológicos das
 941 plântulas de alface estão relacionadas com a polaridade do eluente utilizado durante o
 942 fracionamento (FILHO et al., 2016), assim como pela diversidade de constituintes presentes em
 943 cada fração.

944 Compostos fenólicos são descritos como uma grande família de compostos com inúmeras
 945 ações bioativas, entre elas incluem a alelopatia ou autotoxicidade. A presença desses compostos
 946 foi identificada em todas as frações podendo explicar os efeitos inibitórios na germinação das
 947 sementes, uma vez que derivados fenólicos possuem efeitos inibitórios relatados por Santos et al.,
 948 (2011).

949 A diosmetina, composto 3, foi descrita por Liu et al., (2016) como um dos compostos
 950 responsáveis pela atividade alelopática de *Avena fatua* L. reduzindo a taxa de germinação e o
 951 desenvolvimento das plântulas de *Triticum aestivum* L. A partir de extrato acetato de etila da casca

952 de *Oryza sativa* foi excluído a atividade alelopática pelo composto 6 (β -Sitosterol) identificado
953 por Chung; Hahn; Ahmad, (2005) sobre a germinação de três espécies de ervas daninhas. Segundo
954 Filho et al., (2016) esses compostos provavelmente devem estar presentes também nas fases DCM
955 e n-BuOH, uma vez que foram observados altos valores de inibição para essas fases.

956 As durantaninas I, II e III descritas por Hiradate et al., (1999) como inibidoras do
957 crescimento dos hipocótilos e das raízes de *Brassica juncea* não foram detectadas nesse trabalho.
958 Contudo as durantaninas IV e V isoladas por Ahmed et al., (2009) demonstraram elevado potencial
959 citotóxico contra a linhagem de células tumorais HepG2 e sendo altamente letal contra *Artemia*
960 *salina*, tais dados deixam em aberto a possível interferência alelopática dos compostos 10 e 11
961 detectados para essa espécie de *D. erecta*.

962 O composto 12 é sugerido por Singh et al., (2016) como uma forma alternativa para o
963 controle orgânico do inóculo do míldio do sorgo, sendo altamente viável e preferível, em
964 comparação com o uso de fungicidas químicos, onde o durantol inibiu o crescimento do tubo
965 germinativo, com ação na integridade da membrana do patógeno. Zhao et al., (2011) descreve a
966 atividade do bruceantinosídeo A como sendo moderada na inibição de células tumorais
967 pancreáticas.

968 Lukhitwitayawuid et al. (1993) ao verificar a capacidade antimalárica e citotóxica de
969 alcaloides provenientes de *Stephania pierrei* verificaram que todos os alcaloides do grupo das
970 tetrahidroprotoberberinas, incluído o composto 15, a tetraidrostefabina, apresentaram aumento na
971 atividade antimalárica. Morita et al., (2000) identificou o grupo das Cefalezominas A-F como
972 citotóxicos potentes frente a células de linfoma e de carcinoma onde se encontra o alcaloide
973 cefalezomina H, identificado como composto 13.

974 A presença de alcaloides nas FrEE e FrDcM podem ser determinantes na atividade fitotóxica
975 mais acentuada dessas frações, visto ser essa classe de metabolitos amplamente conhecida pela
976 sua elevada citotoxicidade. Wink (1983) determinou que a lupina, um alcaloide de *Lupinus albus*
977 foram responsáveis pela inibição de germinação e da velocidade de germinação e de *L. sativa*. A

978 aconitina, colchicine, ergometrina, gramina, harmalina e cafeína, são descritos por Wink; Latz-
979 Bruning (1995) como potentes aleloquímicos. Alcaloides de purina tiveram um efeito inibidor
980 marcante na formação de colônias de células derivadas dos protoplastos de alface (SASAMOTO;
981 FUJII; ASHIHARA, 2015). Fração alcaloídica de *C. retusa* gerou inibição na germinação de até
982 60% assim como alterações no sistema enzimático e fisiológico de *Phaseolus vulgaris*
983 (OGUNSUSI et al., 2018).

984 **Bioensaios de citotoxicidade de frações foliares de *D. erecta* L.**

985 Os dados parciais da avaliação de citotoxicidade demonstram potencial mutagênico e
986 teratogênico em intensidade diferenciada entre as diferentes frações, com diminuição do índice
987 mitótico e aumento da frequência de anormalidades cromossômicas.

988 **CONCLUSÃO**

989 Todos os parâmetros avaliados das plântulas de *Lactuca sativa* L apresentaram alterações
990 inibitórias para todas as cinco frações avaliadas.

991 Alterações germinativas e morfológicas foram mais notáveis para as FrEE e FrDcM, a
992 presença de alcaloides, compostos fenólicos, terpenos e taninos estão diretamente relacionados a
993 alelopatia de folhas de *Duranta erecta* L.

994 Os resultados demonstram que a *Duranta erecta* L. é uma planta promissora como fonte de
995 biomoléculas ativas para subsidiar a pesquisa e produção de alternativas no combate a ervas
996 daninhas.

997 **AGRADECIMENTOS**

998 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
999 Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. A FAPEMIG pelo
1000 fomento à pesquisa pelo APQ-01250-18. Ao CNPq e a Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL-
1001 MG.

1002

1003

1004

REFERÊNCIAS

- 1005 ABOU-SETTA, L. M.; NAZIF, N. M.; SHAHAT, A. A. Phytochemical Investigation and
1006 Antiviral Activity of *Duranta repens*. v. 3, n. 11, p. 1426–1433, 2007.
- 1007 AHMAD, N. et al. Repenins A-D, four new antioxidative coumarinolignoids from *Duranta*
1008 *repens* Linn. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 13, p. 3521–3524, 2009.
- 1009 AHMAD, S. et al. A new steroid from *Duranta repens*. **Fitoterapia**, v. 69, n. 5, p. 448–450,
1010 1998.
- 1011 AHMED, W. S. et al. New triterpene saponins from *duranta repens* linn, and their cytotoxic
1012 activity. **Molecules**, v. 14, n. 5, p. 1952–1965, 2009.
- 1013 ALBUQUERQUE, M. B. et al. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A
1014 review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n. 2, p. 379–395, 2011.
- 1015 ALVES, E. C. et al. Fotossíntese, transpiração e condutância estomática de plantas de pimentão
1016 submetidas a diferentes doses de N. In: **Anais do 9º Seminário Anual de Iniciação Científica**.
1017 [s.l: s.n.].
- 1018 ALVES, E. S. et al. Biomonitoramento indoor do potencial mutagênico do ar em laboratórios e
1019 herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. **Hoehnea.**, v. 30, n. 2, p.
1020 89–94, 2003.
- 1021 ALVES, S. M.; SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: (Eds). . In:
1022 SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Eds.). . **Alelopatia princípios básicos e aspectos**
1023 **gerais**. Belém, Bra ed. [s.l.] Embrapa Amazônia Orienta, 2002. p. 25–48.
- 1024 BARBOSA, E. G.; PIVELLO, V. R.; MEIRELLES, S. T. Allelopathic evidence in *Brachiaria*
1025 *decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. **Brazilian Archives of Biology**
1026 **and Technology**, v. 51, n. 4, p. 825–831, 2008.
- 1027 BASTOS, D. H. M. et al. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex*.
1028 **Molecules**, v. 12, p. 423–432, 2007.
- 1029 BASTOS, R. G. et al. Chemical characterization and antimicrobial activity of hydroethanolic
1030 crude extract of *Eugenia florida* DC (Myrtaceae) leaves. **International Journal of Pharmacy**
1031 **and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 6, p. 110–115, 2016.
- 1032 BATISTA, T. M. V. **Fotossíntese e condutância estomática de tomate SM-16 e mariana**
1033 **cultivados com diferentes tipos de cobertura do solo**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade
1034 Federal Rural do Semiárido (Agronomia, Área de concentração: Fitotecnia). Mossoró – RN,
1035 2011.
- 1036 BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z. Atividade alelopática de extratos de
1037 folhas de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. **Revista**

- 1038 **Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 3, p. 521–525, 2011.
- 1039 BOVANOVA, L.; BRANDŠTETEROVA, E.; BAXA, S. HPLC determination of stevioside in
1040 plant material and food samples. **Zeitschrift for Lebensmitteluntersuchung und -Forschung**
1041 **A**, v. 207, n. 5, p. 352–355, 1998.
- 1042 BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, Volume 2**. 5^a ed. Brasilia: 2010, 2010. v. 1
- 1043 BURIOL, L. et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma
1044 alternativa ao extrato etanólico. **Quimica Nova**, v. 32, n. 2, p. 296–302, 2009.
- 1045 CALLAWAY, R. M.; INDERJIT. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and**
1046 **Soil**, v. 256, n. 1, p. 1–11, 2003.
- 1047 CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para**
1048 **farmácia magistral**. São Paulo: Pharmabooks, 2009.
- 1049 CHIAPUSIO, G. et al. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the
1050 germination process? **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 11, p. 2445–2453, 1997.
- 1051 CHON, S.-U.; NELSON, C. J. Allelopathy in Compositae plants . A review To cite this version :
1052 Review article. **Agronomy Journal**, v. 30, n. 2, p. 349–358, 2010.
- 1053 CHON, S. U.; JENNINGS, J. A.; NELSON, C. J. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) autotoxicity:
1054 Current status. **Allelopathy Journal**, v. 18, n. 1, p. 1–24, 2006.
- 1055 CHUNG, I. M.; HAHN, S. J.; AHMAD, A. Confirmation of potential herbicidal agents in hulls
1056 of rice, *Oryza sativa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6, p. 1339–1352, 2005.
- 1057 CORRÊA, P. G. et al. HERBIVORIA E ANATOMIA FOLIAR EM PLANTAS TROPICAIS
1058 BRASILEIRAS Priscila. **Scientia**, v. 06, n. 19, p. 85–106, 2008.
- 1059 CORREIA, N. M.; CENTURION, M. A. P. D. C.; ALVES, P. L. D. C. A. Influência de extratos
1060 aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**,
1061 v. 35, p. 498–503, 2005.
- 1062 DE ALMEIDA, G. D. et al. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos.
1063 **Revista Facultad Nacional de Agronomia Medellin**, v. 61, n. 1, p. 4237–4247, 2008.
- 1064 DOS SANTOS, S. C. et al. Genotypeselection for plant bioassays using *Lactuca Sativa* L. and
1065 *Allium Cepa* L. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, n. 6, p. 2201–2212, 2017.
- 1066 DUKE, S. O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends.
1067 **Weed Research**, v. 40, n. 1, p. 99–111, 2000.
- 1068 DUKE, S. O. Proving Allelopathy in Crop–Weed Interactions. **Weed Science**, v. 63, n. SP1, p.
1069 121–132, 2015.
- 1070 EBERLEIN, C. V. Germination of *Sorghum alnum* Seeds and Longevity in Soil. **Weed Science**,

- 1071 v. 35, n. 6, p. 796–801, 1987.
- 1072 FAR, M. H.; BAGHERZADEH, A. Assessing Allelopathic Index for Estimating Allelopathic
1073 potential of Ajowan Extracts. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 21, n. 2, p. 165–
1074 172, 2018.
- 1075 FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Allelopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology.
1076 **Revista Brasileira De Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Vii, p. 175–204, 2000.
- 1077 FERREIRA, D. F. Sisvar : A Guide for Its Bootstrap Procedures in Multiple Comparisons
1078 Sisvar : um guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. **Ciência e**
1079 **Agrotecnologia**, v. 38, n. 2000, p. 109–112, 2014.
- 1080 FILHO, A. J. C. et al. TRITERPENÓIDES, FENÓLICOS E EFEITO FITOTÓXICO DAS
1081 FOLHAS DE ' flavescens DC (Myrtaceae). **Química Nova Nova**, v. 40, n. 3, p. 252–259, 2016.
- 1082 FILHO, A. L. M. et al. Potencialidade Alelopática De Oaca (Eupatorium Laevigatum Lam .)
1083 Sobre Alface (Lactuca Sativa L .). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da**
1084 **Saúde**, v. 17, n. 2, p. 29–36, 2013.
- 1085 FOSSEN, T. et al. Anthocyanins from a Norwegian potato cultivar. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3,
1086 p. 433–437, 2003.
- 1087 GAO, X. et al. Allelopathic effects of Hemistepta lyrata on the germination and growth of wheat,
1088 sorghum, cucumber, rape, and radish seeds. **Weed Biology and Management**, v. 9, n. 3, p. 243–
1089 249, 2009.
- 1090 GATTI, A. B. et al. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de
1091 Espécies de Cerrado . **Revista Brasileira de Biociências**, p. 174–176, 2007.
- 1092 GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos
1093 de Aristolochia esperanzae O. Kuntze na germinação e no crescimento de Lactuca sativa L. e
1094 Raphanus sativus L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- 1095 GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de
1096 metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.
- 1097 GONÇALVES, T. S. Interações ecológicas e evolutivas entre: plantas, herbívoros e seus
1098 inimigos naturais. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 03, p. 1–9, 2015.
- 1099 GUSMAN, G. S.; COUTO, A. H.; VESTENA, B. E S. Alelopatia de extratos aquosos de
1100 Bacharis dracunculifolia DC. sobre a germinação e crescimento de Raphanus sativus L. e de
1101 Citrullus lantanus (THUNB.) M. & N. **Revista Brasileira da FAMINAS**, v. 3, n. 1, p. 2007,
1102 2008.
- 1103 HARDIN, J. W.; ARENA, J.; DURHAM, N. Human Poisoning from Native and Cultivated
1104 Plants. **Duke University Press**, p. 1969, 1969.

- 1105 HEMAVATHY J, A. T. A study on larvicidal assay on *Duranta Repens* Linn . and *Vitex*
1106 *Negundo* Linn . against *Culex Quinquefasciatus* say. **International Journal of Advanced**
1107 **Science and Research**, v. 1, n. December 2015, p. 18–20, 2016.
- 1108 HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G. et al. Allelopathic Action of *Cecropia pachystachya* Extracts
1109 on the Growth of Guinea Grass (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 763–769,
1110 2007.
- 1111 HIRADATE, S. et al. Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*.
1112 **Phytochemistry**, v. 52, n. 7, p. 1223–1228, 1999.
- 1113 HOFFMANN, C. E. F. et al. Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L . e *Dieffenbachia picta*
1114 *schott* em sementes de *Lactuca Sativa* L . e *Bidens pilosa* L . **Revista de Ciências**
1115 **Agroveterinárias**, v. 6, n. 1, p. 11–21, 2007.
- 1116 IAS. **International Allelopathy Society (IAS). What is Alleopathy?** Disponível em:
1117 <<http://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>>. Acesso em: 27 fev. 2019.
- 1118 IJAZ, F. et al. Two new anti-plasmodial flavonoid glycosides from *Duranta repens*. **Journal of**
1119 **Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 773–778, 2010.
- 1120 INDERJIT et al. Phytotoxic effects of (±)-Catechin In vitro, in soil, and in the field. **PLoS ONE**,
1121 v. 3, n. 7, 2008.
- 1122 INDERJIT; WESTON, L. A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of
1123 field responses? **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2111–2118, 2000.
- 1124 JATOBÁ, L. DE J.; GUALTIER, S. C. J. **Compostos com potencial alelopático em**
1125 ***Aristolochia esmeranzae* O. Kuntze**. [s.l: s.n.].
- 1126 JUSTESEN, U. Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision
1127 activation mass spectrometry for the characterisation of flavonoids in extracts of fresh herbs.
1128 **Journal of Chromatography A**, v. 902, n. 2, p. 369–379, 2000.
- 1129 KAPINGUA, M. C. et al. Diterpenoids from the roots of *Croton macrostachys*. **Phytochemistry**,
1130 v. 54, n. 14, p. 767–770, 2000.
- 1131 KAUR, H. et al. Taking ecological function seriously: Soil microbial communities can obviate
1132 allelopathic effects of released metabolites. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, p. 1–6, 2009.
- 1133 KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: 2ed, 2008.
- 1134 KHAN, M. A. et al. ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF *DURANTA REPENS* (LINN.)
1135 FRUITS AGAINST H₂O₂ INDUCED CELL DEATH INVITRO. **Afr J Tradit Complement**
1136 **Altern Med.**, v. 10, p. 436–441, 2013.
- 1137 KOBAYASHI, W. et al. Tetrasaccharide multi-esters and xanthone glycosides from the roots of
1138 *Polygala wattersii*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 8, p. 1121–1126, 2000.

- 1139 KONG, C.; HU, F. E. I.; XU, X. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles
1140 from *Ageratum conyzoides* under stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 6, p. 1173–
1141 1182, 2002.
- 1142 KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current**
1143 **Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 246–251, 2011.
- 1144 LANNANG, A. M. et al. Antioxidant benzophenones and xanthenes from the root bark of
1145 *Garcinia smeathmannii*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 20, n. 2, p. 247–252,
1146 2006.
- 1147 LEÓN-GONZÁLEZ, A. J. et al. Chemo-protective activity and characterization of phenolic
1148 extracts from *Corema album*. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 728–738, 2012.
- 1149 LIU, X. et al. Isolation and Identification of Potential Allelochemicals from Aerial Parts of
1150 *Avena fatua* L. and Their Allelopathic Effect on Wheat. **Journal of Agricultural and Food**
1151 **Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 3492–3500, 2016.
- 1152 LUKHITWITAYAWUID, K. et al. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of.
1153 **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 1, p. 1468–1478, 1993.
- 1154 MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic
1155 bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and**
1156 **Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512–2521, 2000.
- 1157 MARASCHIN-SILVA, F.; AQÜILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na
1158 germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.
1159 20, n. 1, p. 61–69, 2006.
- 1160 MATSUMOTO, R. S. et al. Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L.
1161 (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631–635, 2010.
- 1162 MEINERS, S. J. et al. Developing an ecological context for allelopathy. **Plant Ecology**, v. 213,
1163 n. 12, p. 1861–1867, 2012.
- 1164 MORITA, H. et al. Cephalozomines A-F, Potent Cytotoxic Alkaloids from *Cephalotaxus*
1165 *harringtonia* var. *nana*. **Tetrahedron**, v. 56, n. 27, p. 2929–2934, 2000.
- 1166 MORITA, H.; YOSHINAGA, M. Cephalozomines G, H, J, K, L, and M, new alkaloids from
1167 *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana*. **TETRAHEDRON**, v. 58, p. 5489–5495, 2002.
- 1168 NIKKON, F. et al. Antishigellosis and Cytotoxic Potency of Crude Extracts and Isolated
1169 Constituents from *Duranta repens*. **The Korean Society of Mycology**, v. 36, n. 3, p. 173–177,
1170 2008.
- 1171 NIKKON, F. et al. Larvicidal effects of stem and fruits of *Duranta repens* against the mosquito
1172 *Culex quinquefasciatus*. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 4, p. 1709–
1173 1713, 2009.

- 1174 NOVAES, P. et al. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants.
1175 **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 839–855, 2013.
- 1176 OGBUAGU, A. S. et al. Quantitative Determination of Some Secondary Metabolites and the
1177 Anti Bacterial Effects of the Leave Extracts of *Duranta eracta*. **American Journal of**
1178 **Biomedical Science and Engineering**, v. 1, n. 5, p. 8287, 2015.
- 1179 OGUNSUSI, M. et al. Allelopathic effects of alkaloid fraction of *Crotalaria retusa* Linn on
1180 growth and some biochemical parameters of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). **International**
1181 **Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 2018.
- 1182 OLIVEIRA, L. G. A. et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum*
1183 *cernuum* Vell. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 44, n. 3, p. 538–543, 2013.
- 1184 PASCHOLATI, S. F. Mecanismo de resistência das plantas a fitopatógenos. In: MARIATH, J.
1185 E. A.; SANTOS, R. P. (Eds.). . **Os Avanços da Botânica no Início do Século XXI: morfologia,**
1186 **fisiologia, taxonomia, ecologia e genética**. [s.l.] Sociedade Botânica do Brasil, 2006. p. 656–
1187 659.
- 1188 PASTORI, T. . B et al. Genotoxic and antiproliferative action of *Polygonum punctatum* ellioti
1189 (*Polygonaceae*) on the cell cycle of *Allium cepa* L [Ação genotóxica e antiproliferativa de
1190 *Polygonum punctatum* Elliott (*Polygonaceae*) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L]. **Revista**
1191 **Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 186–194, 2015.
- 1192 PATRA, A. et al. The protoberberine alkaloids of *Stephania suberosa*. **Phytochemistry**, v. 26, n.
1193 2, p. 547–549, 1987.
- 1194 PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios
1195 antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. November, p. 146–152,
1196 2012.
- 1197 PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. DE; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis*
1198 Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta**
1199 **Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425–430, 2004.
- 1200 PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Mimosa*
1201 *caesalpinaefolia* Benth SOBRE SEMENTES DE *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e**
1202 **Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 130–136, 2001.
- 1203 PIRES, M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: J, R. S. O. (Ed.). . **Biologia e Manejo de Plantas**
1204 **Daninhas**. [s.l: s.n.]. p. 95–124.
- 1205 POWLES, S. B.; YU, Q. **Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides**. [s.l: s.n.]. v. 61
- 1206 PURI, A. V. *Duranta repens* linn . (*verbenaceae*): a comprehensive review of pharmacognostic ,
1207 ethnomedicinal , pharmacological , and phytochemical aspects. **Asian Journal of**
1208 **Pharmceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 11, p. 91–96, 2018.

- 1209 QIU, S.-X. et al. Isolation and Characterization of Flaxseed (*Linum usitatissimum*) Constituents.
1210 **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 1, p. 1–7, 2003.
- 1211 REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p.
1212 629–646, 2013.
- 1213 REZENDE, F. P. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Aplicação de extratos de
1214 folhas e tubérculos de *Cyperus rotundus* L. e de auxinas sintéticas na estaquia caular de
1215 *Duranta repens* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 639–645,
1216 2014.
- 1217 RIBEIRO, L. D. O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron*
1218 *adstringens* (Mart .) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v.
1219 10, n. 2, p. 220–225, 2012.
- 1220 RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and
1221 wastewater treatment. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4311–4340, 2011.
- 1222 RODRIGUES, L. C. DE A. et al. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de
1223 córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e**
1224 **Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.
- 1225 ROY, S. et al. Aqueous extracts of *Duranta repens* (Verbenaceae) as an alternative to control tea
1226 red spider mite, *Oligonychus coffeae* (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Tropical**
1227 **Insect Science**, v. 36, n. 2, p. 82–90, 2016.
- 1228 SALAMA, M. et al. Repennoside – A new iridiod glucoside from *Duranta repens* fruits. **J**
1229 **Pharm Sci**, v. 8, p. 212–21, 1992.
- 1230 SANTOS, S. et al. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de
1231 calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Ecletica Química**, v.
1232 36, n. 2, p. 51–68, 2011.
- 1233 SANTOS, S.; REZENDE, M. O. O. Avaliação Do Potencial Herbicida De Compostos
1234 Secundários Na Germinação De Sementes De Plantas Daninhas Encontradas Em Pastagens.
1235 **Revista Analytica**, n. 32, p. 72–78, 2008.
- 1236 SASAMOTO, H.; FUJII, Y.; ASHIHARA, H. Effect of purine alkaloids on the proliferation of
1237 lettuce cells derived from protoplasts. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 5, p. 69–72,
1238 2015.
- 1239 SCANLAN, S. *Duranta erecta* poisoning in nine dogs and a cat. **Australian Veterinary**
1240 **Journal**, v. 84, n. 10, p. 367–370, 2006.
- 1241 SCHOCK, A. A. **Características fisiológicas e anatômicas de pinhão manso conduzidos em**
1242 **diferentes condições de luminosidade**. [s.l.] IN: Dissertação, Universidade Federal de Pelotas,
1243 Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Pelotas., 2012.

- 1244 SCOGNAMIGLIO, M. et al. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects?
1245 Focus on Mediterranean biomes. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 803–830, 2013.
- 1246 SHAHAT, A. A. et al. Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of *Duranta repens*.
1247 **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 11, p. 1071–1073, 2005.
- 1248 SHARMA, P. et al. Phytochemical analysis and antifungal potential of *Duranta erecta* against
1249 some phytopathogenic phytopathogenic fungi. **International Journal of Pharmaceutical Sciences
1250 and Research**, v. 3, n. 08, p. 2686–2689, 2012.
- 1251 SIKARWAR, M. et al. Evaluation of *Duranta repens* for its antifungal potential. **International
1252 Journal of Medicinal Plants**, v. 106, n. January, p. 390–395, 2014.
- 1253 SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e
1254 toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29–36, 2013.
- 1255 SINGH, H. et al. Durantol - a phytosterol antifungal contributor from *Duranta repens* Linn. For
1256 organic Management of Sorghum Downy Mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v.
1257 146, n. 3, p. 671–682, 2016.
- 1258 SOUSA, R. F. DE; SOUSA, J. A. DE. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e
1259 suas funções nos tecidos vegetais Secondary metabolics associated with water stress and its
1260 functions on vegetable tissues. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 1–8,
1261 2017.
- 1262 SOUTO, J. S. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de moringa na germinação
1263 e no crescimento inicial da alface. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 19, n. 10, p.
1264 5771–5779, 2015.
- 1265 SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas
1266 em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica.
1267 **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 689–697, 2010.
- 1268 SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**.
1269 Embrapa Am ed. Belém: Embrapa, 2002.
- 1270 STANTON, M. A. **Respostas a herbivoria em *Asclepias cursassavica* (Apocynaceae:
1271 *Asclepiadoideae*): defender, crescer ou reproduzir**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas,
1272 São Paulo, 2008.
- 1273 SUBRAMANIAN, S.; NAIR, A. Scutellarein and pectolinarigenin from the leaves of
1274 *Clerodendron phlomides* and *Duranta repens*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 3095–6, 1972.
- 1275 SUBSONGSANG, R.; JIRAUNGKOORSKUL, W. An updated review on phytochemical
1276 properties of “Golden Dewdrop” *Duranta erecta*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 10, n. 20, p.
1277 2016–2018, 2016.
- 1278 TAKATA, W. H. S.; SILVA, E. G. DA; BARDIVIESSO, D. M. Enraizamento de estacas de

- 1279 Duranta repens linn “aurea” em função de doses de IBA. **Revista Científica Eletrônica de**
1280 **Agronomia**, v. 21, n. 1, p. 1–9, 2012.
- 1281 TAKEDA, Y. et al. Iridoid glucosides from the leaves and stems of Duranta erecta.
1282 **Phytochemistry**, v. 39, n. 4, p. 829–833, 1995.
- 1283 TREZZIA, M. M. et al. Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture.
1284 **Journal of Plant Interactions**, v. 11, n. 1, p. 53–60, 2016.
- 1285 TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de Duranta
1286 repens sobre a germinação e o crescimento inicial de Lactuca sativa e Lycopersicum esculentum.
1287 **Biotemas**, v. 27, n. 3, p. 23–32, 2010.
- 1288 VYVYAN, J. R. Allelochemicals as lead for new herbicides and agrochemicals.
1289 **TETRAHEDRON**, v. 58, n. 599, p. 1631–1646, 2002.
- 1290 WANG, J. I. A. et al. FLAVONOIDS FROM BIDENS PILOSA VAR. RADIATA.
1291 **Phytochemistry**, v. 28, p. 7–10, 1997.
- 1292 WILLIAMSON, B. G.; RICHARDSON, D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment
1293 responses with independent controls. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 1, p. 181–187,
1294 1988.
- 1295 WINK, M. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. **Planta**, p. 365–368, 1983.
- 1296 WINK, M. Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary
1297 Metabolites. In **Annual Plant Reviews online**, J. A. Roberts (Ed.), 2018.
- 1298 WINK, M.; LATZ-BRUNING, B. Allelopathic properties of alkaloids and other natural
1299 products. In: **Allelopathy: Organisms, processes, and applications**. American C ed. [s.l.: s.n.].
- 1300 XIE, L. J. et al. Allelochemical mediated invasion of exotic plants in China. **Allelopathy**
1301 **Journal**, v. 25, n. 1, p. 31–50, 2010.
- 1302 XUAN, T. D. et al. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting
1303 plant allelopathy: An overview. **Crop Protection**, v. 24, n. 3, p. 197–206, 2005.
- 1304 YOUSEF, F WAHBA KHALII, S K, PAPPAS, S. P. Separation and characterization of a new
1305 alkaloid from the fruit of Duranta repens. **Bd.**, p. 173–175, [s.d.].
- 1306 ZHANG, T. T. et al. The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic
1307 *Microcystis aeruginosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 1, p. 71–77, 2010.
- 1308 ZHAO, M. et al. Seven quassinoids from fructus bruceae with cytotoxic effects on pancreatic
1309 adenocarcinoma cell lines. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 12, p. 1796–1800, 2011.
- 1310