

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GUILHERME SÉRGIO VIEIRA

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE EXTRATOS FOLIARES DE *Malpighia glabra* L.
EM BIOTESTE COM *Lactuca sativa* L.**

ALFENAS/MG

2023

GUILHERME SÉRGIO VIEIRA

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE EXTRATOS FOLIARES DE *Malpighia glabra* L.
EM BIOTESTE COM *Lactuca sativa* L.**

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

Orientador: Prof. Dr. Sandro Barbosa
Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva
Colaboradores: Diana Layla Lemos Santos
Gabriela Ezequiel Costa Martins
João Vítor Calvelli Barbosa
Thainá Meneghetti Nehme

ALFENAS/MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Vieira, Guilherme Sérgio.

Atividade alelopática de extratos foliares de *Malpighia glabra* L. em bioteste com *Lactuca sativa* L. / Guilherme Sérgio Vieira. - Alfenas, MG, 2023.

57 f. : il. -

Orientador(a): Sandro Barbosa.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Acerola. 2. Alface. 3. Bioensaios. 4. Fitotoxicidade. 5. Citotoxicidade. I. Barbosa, Sandro, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

GUILHERME SÉRGIO VIEIRA

“ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE EXTRATOS FOLIARES DE *Malpighia glabra* L. EM BIOTESTE COM *Lactuca sativa* L.”

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

Aprovada em: 04 de agosto de 2023.

Prof. Dr. Sandro Barbosa

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Prof. Dr. Luiz Carlos de Almeida Rodrigues

Instituição: Instituto Federal de Minas Gerais (IFSULDEMINAS)

Prof. Dr. Marcelo Aparecido Silva

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)



Documento assinado eletronicamente por **Sandro Barbosa, Professor do Magistério Superior**, em 09/08/2023, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1048750** e o código CRC **53F2C7B8**.

Dedico este trabalho a todas as pessoas
que me ajudaram a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado força e sabedoria durante todo o trajeto até aqui;

Aos meus amigos, familiares e ao meu companheiro Giovani Carvalho Tardioli, pelo carinho, pela compreensão da minha ausência e pela paciência de sempre;

Ao meu orientador Prof. Sandro Barbosa, pelo reencontro, incentivo, orientações e apoio de sempre;

Ao meu coorientador Prof. Geraldo Alves da Silva, por todo ensinamento durante o caminho;

Aos amigos e colaboradores do BIOGEN, por toda colaboração e ajuda nos trabalhos, principalmente ao João Vítor Calvelli Barbosa, Diana Layla Lemos Santos, Gabriela Ezequiel Costa Martins e Thainá Meneghetti Nehme por toda parceria durante a pesquisa;

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

A todos, muito obrigado!!!

“Seja a mudança que você quer ver no mundo”
(Mahatma Gandhi, 1913)

RESUMO

A alelopatia é um processo derivado do metabolismo secundário das plantas, onde o vegetal libera substâncias químicas, que podem apresentar mecanismos de ação direta ou indireta no desenvolvimento de outras plantas, resultando em um efeito inibitório ou uma ação estimuladora. A espécie *Malpighia glabra* L., conhecida popularmente como acerola, possui amplo consumo no Brasil, com grande potencial econômico e nutricional, devido ao seu alto teor de vitamina C. As folhas apresentam cumarinas, flavonoides, ácidos fenólicos e aminoácidos (asparagina, prolina, alanina e metionina). A presença destes constituintes químicos torna a acerola numa espécie com potencial alelopático. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade alelopática de extratos foliares de *M. glabra* em bioteste com *Lactuca sativa* L. Onde obtemos extratos secos, aquoso e hidroetanólico, para a realização de estudos dos efeitos fitotóxico e citogenotóxico na germinação e crescimento inicial de *L. sativa*. As soluções testes foram preparadas nas concentrações de 5, 10, 20 e 40 mg.mL⁻¹, utilizou-se como grupo controle a água destilada. Os parâmetros avaliados foram: a porcentagem de germinação inicial e final, o índice de velocidade de germinação, o índice de efeito alelopático, o comprimento de parte aérea, o alongamento de raiz, o índice mitótico e a frequência de anormalidades cromossômicas. Os resultados mostraram que os extratos em concentrações mais altas causaram anormalidades na divisão celular e reduziram o desempenho germinativo das sementes de alface. As anormalidades incluíram micronúcleos, pontes em anáfase e telófase, c-metáfases, stickiness, cromossomos perdidos e cromossomo atrasado em anáfase e telófase. Além disso, os extratos também causaram alterações na atividade enzimática das sementes de alface. Isso sugere que o uso desses extratos pode ter efeitos negativos sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas.

Palavras-chave: Acerola; Alface; Bioensaios; Fitotoxicidade; Citotoxicidade.

ABSTRACT

Allelopathy is a process derived from the secondary metabolism of plants, where the plant releases chemical substances, which may have mechanisms of direct or indirect action on the development of other plants, resulting in an inhibitory effect or a stimulating action. The species *Malpighia glabra* L., popularly known as acerola, is widely consumed in Brazil, with great economic and nutritional potential, due to its high vitamin C content. The leaves have coumarins, flavonoids, phenolic acids and amino acids (asparagine, proline, alanine and methionine). The presence of these chemical constituents makes acerola a species with allelopathic potential. The objective of this work was to evaluate the allelopathic activity of foliar extracts of *M. glabra* in a biotest with *Lactuca sativa* L. Where we obtained dry, aqueous and hydroethanolic extracts, to carry out studies of the phytotoxic and cytogenotoxic effects on the germination and initial growth of *L. sativa*. The test solutions were prepared at concentrations of 5, 10, 20 and 40 mg.mL⁻¹, using distilled water as a control group. The evaluated parameters were: initial and final germination percentage, germination speed index, allelopathic effect index, shoot length, root elongation, mitotic index and frequency of chromosomal abnormalities. Results showed that extracts at higher concentrations caused abnormalities in cell division and reduced germination performance of lettuce seeds. Abnormalities included micronuclei, bridges in anaphase and telophase, c-metaphases, stickiness, missing chromosomes, and chromosome delay in anaphase and telophase. In addition, the extracts also caused changes in the enzymatic activity of lettuce seeds. This suggests that the use of these extracts may have negative effects on plant growth and development.

Keywords: Acerola; Lettuce; Bioassays; Phytotoxicity; Cytotoxicity.

SUMÁRIO

	PARTE I.....	10
1	INTRODUÇÃO.....	10
2	DESENVOLVIMENTO.....	13
2.1	ALELOPATIA E COMBATE A PLANTAS INVASORAS.....	13
2.2	CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA E AGRONÔMICA DE <i>M. glabra</i> L.	18
2.3	FITOQUÍMICA APLICADA A ALELOPATIA.....	21
2.4	BIOTESTES APLICADOS A ESTUDOS DE ALELOPATIA.....	23
3	JUSTIFICATIVA.....	25
4.	OBJETIVOS.....	26
4.1	OBJETIVO GERAL.....	26
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
	REFERÊNCIAS.....	28
	PARTE II.....	37
	ARTIGO.....	38

PARTE I

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o país que abriga a maior biodiversidade do mundo. Estima-se que em território nacional estejam de 10% a 15% de toda a biodiversidade do planeta. Com mais de 50 mil espécies de árvores e arbustos, ocupa o primeiro lugar em biodiversidade vegetal (ICLEI, 2021). No setor agrícola, com o aumento da demanda mundial por alimentos, tem se intensificado o uso de agrotóxicos, agentes altamente nocivos ao ambiente e à saúde humana.

A família Malpighiaceae é facilmente reconhecida pela presença de nectários extraflorais dispostos aos pares, localizados na base das sépalas em quase todas as espécies e por seus frutos comestíveis (SOUZA; LORENZI, 2019). O gênero *Malpighia*, pertencente à família, contém aproximadamente 45 espécies de arbustos ou pequenas árvores, que são principalmente cultivadas pelo sabor doce de suas frutas suculentas, ricas em vitamina C (MEZADRI *et al.* 2008). Entre elas, *Malpighia glabra* L. e *Malpighia emarginata* DC. têm sido comumente cultivadas para fins comerciais e consumo humano. Essas plantas são nativas da América Central, América do Norte e América do Sul, principalmente no Brasil (BARROS *et al.*, 2020; NASCIMENTO *et al.*, 2018; NOGUEIRA *et al.*, 2018).

M. glabra conhecida popularmente como aceroleira, possui amplo consumo no Brasil, com grande potencial econômico e nutricional, devido ao seu alto teor de vitamina C, que varia entre 1000 e 1800 mg / 100 g (ENGELS; BRINCKMANN, 2014). Além da vitamina C, a fruta também contém aminoácidos (asparagina, prolina, alanina e metionina), compostos fenólicos incluindo antocianinas, flavonoides e carotenoides (DÜSMAN *et al.*, 2012). Tais constituintes possuem ainda atividade antioxidantes, atuando na prevenção de patologias, como anti-inflamatório, anti-hiperglicêmico, antitumoral e hepatoprotetor (DELVA *et al.*, 2013). Embora os frutos de *M. glabra* sejam bem estudados por seu destaque nutricional e medicinal já mencionado, pouca atenção tem sido atribuída às folhas.

Estudos recentes evidenciaram a presença de 50 metabólitos nas folhas, pertencentes a diferentes classes como: cumarinas (capensina, dafnoretina e

escopoletina), flavonoides (principalmente quercetina e glicosídeos de apigenina), ácidos fenólicos (ácido cinâmico e derivados do ácido quínico) e aminoácidos (adenosina, homoisoleucina e fenilalanina) (EL-HAWARY *et al.*, 2020).

Além do exposto acima, pode-se salientar, ainda, o seu fácil cultivo, o sabor e aroma agradáveis e a grande capacidade de aproveitamento industrial, que viabiliza a elaboração de vários produtos ao mesmo tempo em que promove o desenvolvimento do agronegócio (COELHO *et al.*, 2003).

Os bioherbicidas podem ser obtidos de diferentes maneiras, como através da extração de compostos obtidos do metabolismo vegetal, os chamados aleloquímicos que tem potencial influência no desenvolvimento de organismos como fungos ou outras espécies vegetais (GINDRE; COELHO, 2020).

Os compostos aleloquímicos são variáveis quanto à constituição, concentração e distribuição, sendo encontrados em todos os órgãos vegetais, mas frequentemente acumulados nas folhas (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2006). Dentre os principais metabólitos secundários encontrados estão compostos fenólicos, flavonoides, terpenos, alcaloides, lactonas, poliacetilenos, taninos, cumarinas, ácidos graxos, peptídeos, entre outros (ARROYO *et al.*, 2018; GOVÊA *et al.*, 2020; GUSMAN *et al.*, 2015). Esses compostos podem interferir de várias maneiras no metabolismo das plantas, atuando sobre hormônios, respiração, fotossíntese, abertura dos estômatos, síntese de proteínas, inibição do transporte de membrana e da atividade enzimática e alteração no ciclo celular (GOVÊA, 2020; SPIASSI *et al.*, 2015).

Pode-se apontar ainda outras ações causadas por substâncias alelopáticas tais como redução e/ou inibição da germinação de sementes, do crescimento inicial da parte aérea, do sistema radicular, clorose e dos teores de clorofila (AMÂNCIO *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2014; GUSMAN *et al.*, 2015). Diferentes bioensaios em laboratório têm avaliado o potencial fitotóxico destes compostos alelopáticos. Como objeto de estudo, *Lactuca sativa* L. (alface) merece destaque, pelo fato de apresentar rápida germinação, homogeneidade genética, germinação uniforme e fácil disponibilidade (MORAES *et al.*, 2015). Como resultados destes estudos de alelopatia em alface, os autores mencionam uma redução da germinação e no crescimento inicial, assim como alterações no processo de divisão celular (AMÂNCIO *et al.*, 2019; GOVÊA *et al.* 2020; KATO-NOGUCHI *et al.*, 2014; NOGUEIRA, *et al.*, 2017; PAULA *et al.*, 2015; TREVISAN *et al.*, 2012).

Considerando a importância da cultura da aceroleira no Brasil, assim como a presença destes constituintes químicos nas folhas que a torna uma espécie com potencial alelopático, nosso objetivo com este trabalho foi avaliar a atividade alelopática de extratos foliares de *M. glabra* em bioteste com *L. sativa*.

2 DESENVOLVIMENTO

A seguir, acompanha revisão de literatura atualizada acerca dos temas abordados nesta dissertação, com intuito de gerar embasamento teórico para a análise e discussão dos resultados obtidos.

2.1 ALELOPATIA E COMBATE A PLANTAS INVASORAS

O termo Alelopatia foi descrito por Hans Molisch, em que se demonstrava o efeito estimulante ou inibitório sobre o desenvolvimento de plantas a partir da interação de espécies vegetais diferentes (MOLISCH, 1938). Dessa forma, a alelopatia pode ser definida como um processo em que plantas e microrganismos possuem a capacidade de produzir metabólitos secundários, os quais são liberados no meio ambiente, de modo a influenciar negativa ou benéficamente o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos naturais ou implantados (CHENGXU *et al.*, 2011; FERREIRA; ÁQUILA, 2000; IAS, 2023; PUTNAM; DUKE, 1985; RICE, 1984). Esses metabólitos secundários ou aleloquímicos podem ser liberados por meio de raízes, folhas, flores e frutos. A alelopatia pode ter efeitos positivos ou negativos, dependendo do tipo e da quantidade de substâncias químicas envolvidas e das plantas envolvidas na interação. Alguns exemplos de efeitos positivos incluem a proteção de plantas contra pragas e doenças, enquanto que os efeitos negativos podem incluir a inibição do crescimento de outras plantas e a redução da biodiversidade em ecossistemas naturais. A alelopatia é uma área de pesquisa em constante evolução, e os cientistas ainda estão explorando seus mecanismos e seus efeitos na natureza.

A palavra alelopatia é derivada de duas palavras gregas: *alleton* (mútuo) e *pathos* (preconceito), referindo-se às interações bioquímicas benéficas e prejudiciais entre todos os tipos de plantas, incluindo microorganismos (RICE, 1984). Substâncias alelopáticas, fitotoxinas, aleloquímicos ou subprodutos são nomes dados a produtos químicos liberados por organismos no meio ambiente que interagem com outros

componentes da comunidade. Em grande parte dos estudos, os metabólitos secundários produzidos pelas plantas são chamados de aleloquímicos, os quais podem variar em quantidade e composição, de modo espécie dependente (TOKURA; NÓBREGA, 2006). Os aleloquímicos podem afetar atividades fisiológicas como a germinação de sementes, respiração, fotossíntese transporte de íons, atividade enzimática, o “status” hídrico, transpiração, abertura estomática e os níveis hormonais (SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2013). E deste modo, podem afetar também a divisão e diferenciação celular, a expressão gênica, a permeabilidade das membranas e da parede celular (REIGOSA *et al.*, 1999).

A alelopatia é um processo derivado do metabolismo secundário das plantas, em que o vegetal libera substâncias químicas, que podem apresentar mecanismos de ação direta ou indireta no desenvolvimento de outras plantas, resultando em um efeito inibitório ou uma ação estimuladora (SANGEETHA *et al.*, 2015). A liberação destas substâncias pode ocorrer por meio de lixiviação, exsudação das raízes, ou por volatilização e decomposição (CARVALHO *et al.*, 2014; REIGOSA *et al.*, 2013). Além disso, tal processo é considerado como uma estratégia adaptativa das plantas, possibilitando maior chance de sobrevivência do indivíduo (TAIZ *et al.*, 2017). As interações desencadeadas a partir da liberação de aleloquímicos apresenta singular importância nas diversas relações ecológicas presentes em cada comunidade, visto que, seu papel se estende para modificações na fertilidade do substrato ou ainda para os processos de decomposição (WARDLE *et al.*, 2011).

Existem muitos exemplos de efeitos alelopáticos em culturas ou plantas forrageiras na literatura, nos quais a atividade alelopática de muitas plantas tem sido apontada como um substituto natural para o controle de invasores (GLAB *et al.*, 2017; MOTMAINNA *et al.*, 2021; RIZVI *et al.*, 1992). Portanto, o uso de plantas como herbicidas devem ser consideradas (ABBAS *et al.*, 2021; SZCZEPANSKI, 1977). O potencial alelopático de plantas nativas foi estudado por muitos autores (BORELLA; PASTORINI, 2010; LIMA *et al.* 2011; MARASCHIN-SILVA; ÁQUILA, 2006; SOUZA *et al.*, 2010). Esses estudos possibilitaram maior conhecimento relacionado à interação entre plantas nativas e sobre as implicações que existem na coexistência entre essas espécies na sucessão florestal (PENG *et al.*, 2004). Além disso, espécies arbóreas com ação alelopática demonstraram papel de extrema importância na estabilidade e manutenção de sistemas agroflorestais, principalmente no controle de plantas invasoras (SOUZA FILHO *et al.*, 2006). Estudos relacionados à alelopatia têm sido

alvo de muitas pesquisas, sendo que o objetivo principal da maioria desses estudos é prospecção de novas substâncias/moléculas com atividades bioherbidas (DUKE, 2015).

Na literatura são encontrados diversos estudos sobre efeitos alelopáticos de culturas sazonais sobre outras e sobre plantas indesejáveis nas plantações. Estudos como de Ferreira e Áquila (2000), mostram uma revisão sobre todo o contexto de diversos estudos de alelopatia, assim como trabalho de Nogueira *et al.* (2021), apesar de ser um estudo de caso sobre espécie específica, traz diversos conceitos acerca do tema e trabalha com biotestes vegetais, como nesta dissertação.

Diversos estudos acerca da alelopatia e seus mecanismos têm sido desenvolvidos com a finalidade de aprimorar tecnologias, principalmente para a agricultura, indústria de cosméticos e medicamentos. É evidente que muitos compostos aleloquímicos têm potencial medicinal, sendo que diversos trabalhos investigam a potencial eficiência do uso de metabólitos vegetais no tratamento de doenças como a diabetes, doenças cardiovasculares e doenças neurais (FRANCO *et al.*, 2021; PEREIRA; BOSSOLANI, 2020). Ainda, a temática é de interesse ambiental no que tange a uma produção agrícola mais sustentável e que dispense o uso de defensivos químicos principalmente no que tange ao combate de ervas daninhas (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Atualmente, há uma grande dependência da produção agrícola nacional no uso de agrotóxicos, sendo que, segundo a EMBRAPA (2021), anualmente são usados no mundo aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos e o consumo anual de agrotóxicos no Brasil tem sido superior a 300 mil toneladas de produtos comerciais. Além disso, o uso de agrotóxicos nas atividades agrícolas do país, tem apresentado um crescimento significativo nas várias regiões do país (VALADARES *et al.*, 2020). Sendo assim, o uso indiscriminado de defensivos químicos é de crescente preocupação para o debate público, o relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos do período de 2017 a 2018 revelou que cerca de 51% dos produtos agrícolas comercializados, dentre os amostrados, apresentaram resíduos de agrotóxicos, sendo que 23% desses eram de alguma substância química proibida ou em doses superiores às estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Por tal, estratégias alternativas aos agroquímicos se fazem necessárias, sendo o uso de alelopatia uma opção.

Alguns estudos demonstraram o potencial da alelopatia como uma alternativa aos herbicidas convencionais utilizados atualmente na agricultura (JUNIOR, 2004; PIRES *et al.*, 2001). Exemplificando, as pesquisadoras Scrivanti e Anton (2021), testaram o extrato aquoso de diferentes órgãos de espécies de *Bothriochloa* sobre sementes de milho e alface e observaram que existe uma relação direta entre a inibição da germinação e o tempo de exposição a solução. Adicionalmente, Anwar (2019) demonstrou o potencial do pó obtido das folhas de *Carica papaya* na inibição do comprimento radicular de *Avena fatua*, bem como no comprimento das plúmulas, efeitos também observados na aplicação do extrato aquoso das sementes da mesma espécie. Por conseguinte, é de relevância que a origem dos extratos obtidos de espécies com potencial alelopático é um fator de importância ao considerar o desenvolvimento de técnicas para uso popular.

Assim sendo, no que tange ao potencial aleloquímico, o órgão vegetal de origem do extrato obtido é um fator de importância, visto que como já observado, uma mesma espécie pode ter ação alelopática dúbia (estimulando e inibindo o receptor), caso observado em *Achillea millefolium*, em que o extrato aquoso obtido da folha e flor tiveram efeitos inibitórios na germinação e crescimento da plântula no trigo, enquanto o insumo obtido de caule e raiz geraram um aumento desses parâmetros (POURESMAEIL; MOTAFAKKERAZAD, 2018). Outro fator é a concentração do composto a ser administrado, ao testar o extrato de ervas-daninhas sobre o trigo (0,5; 1,0 e 1,5 g/L), os pesquisadores observaram que a maior concentração, 1,5 g/L, resultou em uma inibição total na germinação do cultivar (SIYAR *et al.*, 2019). Por fim, a alelopatia também pode ser uma ferramenta no combate contra outros organismos, pois muitos dos componentes aleloquímicos das plantas também são liberados como forma de evitar a predação ou a ação patológica de microrganismos (AFZAL *et al.*, 2019; REDDY *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2021). A tabela 1 abaixo, mostra diversos usos da alelopatia.

Tabela 1 - Culturas com propriedades alelopáticas

Cultura doadora	Cultura receptora	Efeito causado sobre as espécies receptoras
<i>Helianthus annuus</i> (girassol)	<i>Glycine max</i> (soja), <i>Sorghum spp.</i> (sorgo)	Folhas secas quando misturadas ao solo inibem a germinação e reduzem o crescimento das plântulas
<i>Helianthus annuus</i> (girassol)	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Resíduos da cultura de girassol no campo, reduzem de 4 a 33% a germinação de sementes de trigo
<i>Brassica campestris</i> (nabo)	<i>Vigna radiata</i> (feijão mungo-verde)	Extrato aquoso de resíduos inibe a germinação e reduz o crescimento das plântulas
<i>Raphanus sativus</i> (rabanete)	<i>Lactuca sativa</i> (alface)	Resíduo de raízes ou de parte aérea inibe a germinação
<i>Ipomoea batatas</i> (batata-doce)	<i>Cyperus esculentus</i> (tiriricão), <i>Medicago sativa</i> (alfafa)	Extrato aquoso e metanólico retardam a germinação e reduzem a matéria seca das plantas
<i>Glycine max</i> (soja)	<i>Brassica rapa</i> (mostarda), <i>Medicago sativa</i> (alfafa), <i>Raphanus sativus</i> (rabanete), <i>Zea mays</i> (milho)	Extrato aquoso inibe a germinação das quatro espécies e o crescimento inicial das plantas de milho
<i>Lupinus albus</i> (tremoço)	<i>Amaranthus retroexus</i> (caruru), <i>Chenopodium album</i> (ançarinha branca)	Exsudatos radiculares reduzem o crescimento e aumentam a atividade enzimática
<i>Medicago sativa</i> (alfafa)	<i>Triticum spp.</i> (trigo)	Extratos aquoso e alcóolico reduzem a germinação e crescimento das plântulas
<i>Medicago sativa</i> (alfafa)	<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	Resíduos da planta inibem germinação e crescimento das plântulas
<i>Trifolium alexandrinum</i> (trevo)	<i>Allium cepa</i> (cebola), <i>Daucus carota</i> (cenoura), <i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate)	Compostos voláteis originários do resíduo das plantas, reduzem a germinação e o crescimento das plantas
<i>Coffea arabica</i> (café)	<i>Lactuca sativa</i> (alface), <i>Lolium multiorum</i> (azevém)	Extratos aquosos de folhas secas e raízes reduzem a germinação e o crescimento da radícula
<i>Sorghum bicolor</i> (sorgo)	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	Resíduo da cultura de sorgo no campo, reduz de 10 a 31% a germinação
<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	<i>Gossypium hirsutum</i> (algodão)	Resíduo da cultura reduz a germinação e a matéria seca das plantas

Fonte: Kohli *et al.* (1988)

2.2 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA E AGRONÔMICA DE *M. glabra*

A família Malpighiaceae é facilmente reconhecida pela presença de nectários extraflorais dispostos aos pares, localizados na base das sépalas em quase todas as espécies e por seus frutos comestíveis (SOUZA; LORENZI, 2019). Malpighiaceae apresenta 47 gêneros descritos, sendo 4 gêneros endêmicos da flora brasileira. A família possui cerca de 588 espécies registradas, com 360 espécies endêmicas do Brasil (BRASIL, 2023). Considerada a sétima família mais representativa do Cerrado (NOVAES *et al.*, 2013), no entanto há poucos relatos sobre o perfil químico e potencial fitotóxico de espécies dessa família (ANESE *et al.*, 2016).

O gênero *Malpighia*, pertencente à família, contém aproximadamente 45 espécies e apresenta importante papel econômico e nutricional. No Brasil, 4 espécies são amplamente cultivadas, principalmente para fins alimentares. Entre eles, temos a *M. glabra* (BRASIL, 2023), seus frutos são muito apreciados pela abundância em vitamina C, além de conter aminoácidos, compostos fenólicos incluindo antocianinas, flavonoides e carotenoides (DÜSMAN *et al.*, 2012). Tais constituintes possuem atividade antioxidantes, atuando na prevenção de patologias, como anti-inflamatório, anti-hiperglicêmico, antitumoral e hepatoprotetor (DELVA *et al.*, 2013). Embora os frutos de *M. glabra* sejam bem estudados por seu destaque nutricional e medicinal já mencionado, pouca atenção tem sido atribuída às folhas. Estudos recentes evidenciaram a presença de 50 metabólitos nas folhas, pertencentes a diferentes classes como: cumarinas (capensina, dafnoretina e escopoletina), flavonoides (principalmente quercetina e glicosídeos de apigenina), ácidos fenólicos (ácido cinâmico e derivados do ácido quínico) e aminoácidos (adenosina, homoisoleucina e fenilalanina) (EL HAWARY *et al.*, 2020).

A aceroleira é uma planta originária do Mar das Antilhas, norte da América do Sul e América Central. Segundo o Censo Agropecuário de 2017, no Brasil a maior produção do fruto se deu principalmente na região Nordeste do país, tendo como pivô principal o estado de Pernambuco que produziu cerca de vinte e uma mil toneladas (IBGE, 2017). Conhecida como cereja-das-antilhas, a aceroleira caracteriza-se como uma árvore de 2m a 4m de altura, com ramificação compacta ou espalhada. As folhas são elípticas, ovais ou obovadas de 2 cm a 7,5 cm de comprimento e 1 cm a 6 cm de largura. O fruto da aceroleira é uma drupa de forma arredondada, com diâmetro

variando de 1 cm a 3 cm ou 3 g a 16 g; o tamanho do fruto varia em função do potencial genético da planta, tratos culturais e do número de frutos por axila. A coloração dos frutos, quando maduros, pode ser vermelha, roxa ou amarela (FERREIRA; RIBEIRO, 2006). Na tabela 2 abaixo constam alguns parâmetros físico-químicos do fruto de *M. glabra*. No Brasil, existem poucas variações da aceroleira, as presentes no país são originárias de Porto Rico, devido a sua formação das duas principais espécies (*M. glabra* e/ou *Malpighia puniceifolia* L.), no entanto há relatos de pomares ao redores do submédio São Francisco que plantas glabras que não provoca irritação na pele dos colhedores, entretanto há outras que causa graves problemas dermatológicos nas pessoas que têm contato ao colher os frutos, devido ao pêlo nas plantas. Tais relatos confirmam a suspeita que há as duas principais variações da *Malpighia* no Brasil.

Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos do fruto de *M. glabra*.

Componente	Souza <i>et al.</i> (2020)	Soares <i>et al</i> (2001)
Umidade (%)	92,28	89,92
Proteína %	3,32	1,27
Lípideo %	0	0,21
Carboidratos %	3,52	5,49
Fibra %	6,38	Traços
Antocianina (mg/100g)	28,92	-
Flavonoides (mg/100g)	15,46	-
Cinzas (%)	0,88	0,45

Fonte: Souza *et al.* (2020) Soares *et al* (2001).

As inflorescências de aceroleira estão dispostas em pequenas axilares pedunculadas, com três a cinco flores perfeitas, de 1 a 2 cm de diâmetro. Sua cor varia do rosa esbranquiçado ao vermelho. O copo tem seis a dez sépalas; a coroa consiste em cinco pétalas estriadas ou irregularmente serrilhadas com dez estames perfeitos. As flores sempre aparecem após um surto de crescimento vegetativo. Eles podem surgir nas axilas das folhas de ramos maduros em crescimento ou nas axilas das folhas recém-germinadas. Os frutos da aceroleira são pequenos; seu peso varia de 3 a 16 gramas, dependendo basicamente do potencial genético da planta e das condições de cultivo. Em geral, o tamanho do fruto que cresce isolado é maior do que o do fruto que forma o cacho (SIMÃO, 1971). De acordo com Arostegui e Pennock

(1955), a acerola tem um teor médio de vitamina C de cerca de 2% e um rendimento médio de suco de 59 a 73% em peso.

O Brasil é o país que abriga a maior biodiversidade do mundo. Estima-se que em território nacional estejam de 10% a 15% de toda a biodiversidade do planeta. Com mais de 50 mil espécies de árvores e arbustos, ocupa o primeiro lugar em biodiversidade vegetal (ICLEI, 2021). No setor agrícola, com o aumento da demanda mundial por alimentos, tem se intensificado o uso de agrotóxicos, agentes altamente nocivos ao ambiente e à saúde humana. Nesse sentido, estudos de prospecção que visam identificar a atividade alelopática das plantas surgem como alternativa, pois podem servir de base para o controle natural de ervas daninhas, dando origem a herbicidas naturais com menor impacto ambiental (HOSSEN; KATO-NOGUCHI, 2020). Além do exposto acima, pode-se salientar, ainda, o seu fácil cultivo, o sabor e aroma agradáveis e a grande capacidade de aproveitamento industrial, que viabiliza a elaboração de vários produtos ao mesmo tempo em que promove o desenvolvimento do agronegócio (COELHO *et al.*, 2003).

Depois de conquistar europeus, japoneses e americanos da América do Norte, a acerola será o principal produto da pauta das exportações. De acordo com Ferreira (2006) a acerola pode ser utilizada na forma de refresco, sorvete, balas, cápsulas de vitamina C pura, creme gelado, geléia, compota, néctar e conserva. Os frutos da aceroleira apresentam rendimento de suco entre 59% e 75% do seu peso, sólidos solúveis 16,60%; acidez titulável 1,36% e pH 3,30. Em 100 g de polpa, é encontrada a seguinte composição: Vitamina C 1.200-2500 mg; proteína 0,68 g; tiamina 24 mg; riboflavina 73 mg; niacina 480 mg; ácido pantotênico 205 mg; cálcio 11,70 mg; fósforo 10,90 mg; ferro 0,24 mg; sódio 10 mg.

Embora os frutos de *M. glabra* sejam bem estudados por seu destaque nutricional e medicinal já mencionado, pouca atenção tem sido atribuída às folhas. Estudos recentes evidenciaram a presença de 50 metabólitos nas folhas, pertencentes a diferentes classes como: cumarinas (capensina, dafnoretina e escopoletina), flavonoides (principalmente quercetina e glicosídeos de apigenina), ácidos fenólicos (ácido cinâmico e derivados do ácido quínico) e aminoácidos (adenosina, homoisoleucina e fenilalanina) (EL HAWARY *et al.*, 2020).

2.3 FITOQUÍMICA APLICADA A ALELOPATIA

Os compostos aleloquímicos são variáveis quanto à constituição, concentração e distribuição, sendo encontrados em todos os órgãos vegetais, mas frequentemente acumulados nas folhas (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2006). Dentre os principais metabólitos secundários encontrados estão compostos fenólicos, flavonoides, terpenos, alcaloides, lactonas, poliacetilenos, taninos, cumarinas, ácidos graxos, peptídeos, entre outros (ARROYO *et al.*, 2018; GOVÊA, *et al.*, 2020; GUSMAN *et al.*, 2015). O estudo de Dos Santos (2021) identificou a presença de vários compostos orgânicos em extratos de folhas da aceroleira, usando cromatografia em camada delgada, detectando compostos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas, antraquinonas, catequinas e cumarinas simples. Esses compostos podem ter diferentes efeitos no metabolismo das plantas, como interferir na atividade de hormônios, na respiração, na fotossíntese, na abertura dos estômatos, na síntese de proteínas, no transporte de membrana e na atividade enzimática, bem como no ciclo celular (GOVÊA, *et al.*, 2020; SPIASSI *et al.*, 2015). Além disso, substâncias alelopáticas presentes nos extratos podem ter efeitos negativos em outras plantas, como reduzir ou inibir a germinação de sementes, o crescimento inicial da parte aérea e do sistema radicular, clorose e diminuição dos teores de clorofila (AMÂNCIO *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2014; GUSMAN *et al.*, 2015). Esses efeitos podem ser relevantes em contextos agrícolas, pois podem afetar o desenvolvimento de culturas vizinhas.

Os aleloquímicos podem ser produzidos como resposta a fatores ambientais como produtos do metabolismo secundário obtidos a partir de processos bioquímicos que ocorrem na planta para suprir demandas distintas (TAIZ; ZEIGER, 2006). Tais compostos variam em relação a fatores como a idade da planta e disponibilidade de recursos como a luminosidade, um exemplo está nos indivíduos da espécie *Camptotheca acuminata* que apresentam maiores concentrações do metabólito secundário camptotecina em detrimento da idade dos indivíduos ou ainda dos órgãos vegetais, sendo que plantas mais jovens ou folhas mais jovens de um mesmo indivíduo possuem maiores concentrações do metabólito (LIU *et al.*, 1998). Dessa maneira, o estudo dos componentes potencialmente aleloquímicos oriundos do metabolismo vegetal é de grande interesse para o desenvolvimento de tecnologias

que podem ser aplicadas tanto na produção de fármacos, quanto na melhoria do cultivo agrícola (WINK, 1988).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos principais, sendo estes, os compostos fenólicos, os terpenoides e alcaloides (CROTEAU, 2000). Contudo, são considerados 10 categorias, dentre os metabólitos secundários, como sendo os principais aleloquímicos: ácidos orgânicos solúveis, lactonas simples, ácidos graxos, poliacetilenos, fenólicos, cumarinas, flavonoides e taninos (SOLTYS *et al.*, 2013).

Dentre os compostos fenólicos, os principais aleloquímicos são os ácidos benzóicos e seus derivados. São componentes desta categoria que proporcionam aos eucaliptos seu efeito alelopático, uma vez que restringe tanto a germinação quanto o crescimento da plântula de outras espécies (NEGA; GUDETA, 2019). Outro exemplo da ação alelopática de compostos fenólicos pode ser observado no estudo desenvolvido por Pardo-Muras e Pedrol (2022), que testaram o efeito alelopático em extrato aquoso, associados ou não, na germinação e crescimento de ervas daninhas, seus resultados demonstraram que os compostos reduziram a germinação em 54% e o crescimento em 80%.

Os alcaloides, apresentam vias de sínteses diversas, bem como uma variação da região de armazenamento dado a sua citotoxicidade, porém são armazenadas em geral em idioblastos, laticíferos, raiz endoderme e córtex ou medula no caule (ZIEGLER; FACCHINI, 2008). Ademais, Ogunsusi *et al.* (2018), observaram que aplicações de compostos alcaloides sobre feijão, geram espécies reativas de oxigênio, uma vez que a planta tende a aumentar a produção de superóxido desmutase e catalase, moléculas com ação antioxidante.

Finalmente, considera-se que a ação alelopática dos terpenoides deva se dar pela inibição da formação de ATP, inibição da respiração celular, inibição da atividade hormonal, dentre outros fatores (BACHHETI *et al.*, 2020; PENUELAS *et al.*, 1995). Um estudo avaliou o extrato da casca de três frutas cítricas (*Citrus sinensis*, *Citrus aurantium* e *Citrus reticulata*) e demonstrou que sua aplicação sobre algumas espécies testadas resultaram na inibição no crescimento e germinação, exemplificando, o extrato de *C. aurantium* inibiu completamente crescimento de plântula e germinação de sementes de *Portulaca oleracea* (EL SAWI *et al.*, 2019).

Um estudo revelou efeito alelopático, citotóxico e antifúngico de extratos de folhas e raízes de *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae) sobre a germinação de *L.*

sativa (FREITAS *et al.*, 2015). O mesmo observado por Amâncio *et al* (2021), em que extratos de *Byrsonima* spp. (Malpighiaceae) também foram capazes de interferir na germinação de sementes de *L. sativa*. Outro estudo, que utilizou extrato metanólico do caule e folhas de *Acridocarpus orientalis*, outra espécie da família Malpighiaceae, demonstrou, em maiores concentrações, a inibição da germinação e crescimento da alface (REHMAN *et al.*, 2019).

2.4 BIOTESTES APLICADOS A ESTUDOS DE ALELOPATIA

A atividade alelopática de produtos naturais tem sido alvo de muitas pesquisas com o objetivo de investigar extratos vegetais aplicados a biotestes de germinação e desenvolvimento de mudas (GOVEÂ *et al.*, 2020; MOTMAINNA, *et al.*, 2021; SANTOS, 2012). Biotestes utilizados na investigação da alelopatia podem ser feitos de diversas maneiras e muitas plantas apresentam características que são indicadores de efeitos citogenéticos e mutagênicos (ALVES *et al.*, 2004; GOVEÂ *et al.*, 2020; SILVEIRA, *et al.*, 2021).

O uso de biotestes vegetais como *L. sativa* (alface) vem sendo amplamente utilizados na investigação da atividade alelopática de extratos vegetais com foco na produção de produtos naturais (NOGUEIRA *et al.*, 2018). A alface tem sido um importante objeto de estudos em alelopatia em razão principalmente ao seu ciclo rápido de germinação e desenvolvimento, o que permite otimizar o tempo de avaliação em pesquisas, reduzindo assim, gastos de tempo e investimentos. Além disso, a espécie exibe uma sensibilidade à exposição de metabólitos secundários (FERREIRA; ÁQUILA, 2000), reforçando seu destaque como bom modelo de estudos em alelopatia (GRISI *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2018).

Outro fator que é importante na escolha da alface como planta alvo é a sua comercialização em grande escala e em diversos locais, facilitando a obtenção das sementes (aquênio) para a realização dos biotestes. Além disso, compostos aleloquímicos são testados em biotestes vegetais, para avaliação e monitoramento da germinação, crescimento inicial de plântulas, alterações no DNA nuclear e na fisiologia de outras plantas alvo, em especial da alface, por apresentar sensibilidade a agentes químicos (DOS SANTOS *et al.*, 2017; SIMÕES *et al.*, 2013).

Outra característica que possibilita o uso de *L. sativa* como planta alvo nos estudos alelopáticos, consiste na sensibilidade da espécie, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos, além do baixo custo de pesquisa (DOS SANTOS, *et al.*, 2017; RICE, 1984; SIMÕES *et al.*, 2013). Além disso, Souza Filho (2010) relata que em biotestes 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.

3 JUSTIFICATIVA

O uso de agrotóxicos tem sido uma preocupação crescente em relação aos seus impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente. A busca por alternativas sustentáveis é essencial para a manutenção da saúde do planeta e das pessoas. Nesse contexto, os estudos de prospecção para identificar a atividade alelopática das plantas podem oferecer uma alternativa viável ao uso de agrotóxicos, com implicações importantes na ecologia das plantas e no manejo de espécies indesejadas.

Considerando a importância e a presença dos constituintes químicos nas folhas de *M. glabra* (aceroleira) a torna uma espécie com potencial alelopático. Os biotestes com a *L. sativa* (alface) são uma ferramenta importante para avaliar a atividade alelopática dos extratos das folhas da *M. glabra*. Através desses biotestes é possível observar a citotoxicidade e a fitotoxicidade dos extratos, ou seja, sua capacidade de afetar a germinação, crescimento, desenvolvimento inicial e índice mitótico das plantas.

Os resultados desses estudos podem fornecer informações valiosas para o desenvolvimento de herbicidas naturais com menor impacto ambiental. Além disso, a prospecção de atividades alelopáticas de plantas pode abrir novas perspectivas para a agricultura sustentável e a preservação da biodiversidade.

4. OBJETIVOS

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

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade alelopática de extratos foliares aquosos e hidroetanólicos de *M. glabra*, sobre a germinação inicial de *L. sativa*, visando subsidiar programas de pesquisas aplicando ao desenvolvimento de bioherbicidas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente trabalho se propôs a:

- a) Avaliar o efeito inibitório dos extratos foliares da *M. glabra* sobre a germinação e a velocidade de germinação;
- b) Caracterizar o comportamento resposta de seedlings de *L. sativa* expostas a diferentes concentrações de diferentes extratos de folhas de *M. glabra*;
- c) Estudar os efeitos dos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas de *M. glabra* sobre o ciclo celular e o complemento cromossômico de *L. sativa*.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo confirma que *M. glabra* tem potencial em atividades alelopáticas, o que a torna uma candidata promissora para ser utilizada como bioherbicida em uma agricultura mais sustentável e agroecológica.

Portanto, a prospecção de plantas com atividade alelopática pode representar uma alternativa viável e sustentável para a agricultura, com benefícios tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana. O estudo da *M. glabra* é um exemplo promissor dessa abordagem.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, T. *et al.* Ways to Use Allelopathic Potential for Weed Management: A Review. **International Journal of Food Science and Agriculture**, Pakistan, v. 5, n. 3, p. 492-498, 2021.
- AFZAL, M. *et al.* Biocidal action of silver oak (*Grevillea robusta*) leaf extract on the termite *Heterotermes indicola* Wasmann (Blattodea: Rhinotermitidae). **International Biodeterioration e Biodegradation**, Pakistan; v. 139, p. 1-10, 2019.
- ALVES, M. C. S. A. *et al.* Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz da alface. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, 2004.
- AMÂNCIO, B. C. S.; GOVÊA, K. P.; TRINDADE, L. O. R.; NETO, A. R. C.; SOUZA, T. C.; BARBOSA, S. Sandwich method applied to the screening of allelopathic action in *Byrsonima* spp. (Malpighiaceae). **Biologia**, São Paulo, v. 75, p.175–182, 2019.
- AMÂNCIO, Bárbara Christina Silva *et al.* Allelopathic activity of different *Byrsonima* spp. leaf extracts on *Lactuca sativa* L. bioassay. **Biologia**, Brasil, v. 76, n. 11, p. 3201-3209, 2021.
- ANESE, Valoppi F, Calligaris S, *et al.* 2016. Omega-3 enriched biscuits with low levels of heat-induced toxicants: Effect of formulation and baking conditions. **Food Bioprocess Technol**, France, n. 9: p. 232–242. Doi: 10.1007/s11947-015-1613-x.
- ANWAR, T. *et al.* Evaluation of bioherbicidal potential of *Carica papaya* leaves. **Brazilian Journal of Biology**, Brazil, v. 80, p. 565-573, 2019.
- ARAÚJO, G. R. *et al.* Potencial alelopático de óleo de eucalyptus e de Capim citronela no controle de plantas daninhas. **Brazilian Journal of Development**, Paraná, v. 7, n. 5, p. 44248-44256, 2021.
- AROSTEGUI, F.; PENNOCK, W. La acerola. Rio Piedras. Universidade de Puerto Rico, **Estacion Experimental agrícola**, Puerto Rico, p. 9, 1955.
- ARROYO, A.; PUEYO, Y.; GINER, M.L.; FORONDA, A.; SANCHEZ-NAVARRETE, P.; SAIZ, H. ALADOS, C. L. Evidence for chemical interference effect of an allelopathic plant on neighboring plant species: a field study. **PLoS One**, China, v.13, n.2, p.1–19, 2018.
- ATLAS DE GEOGRAFIA DO USO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL. Disponível em <https://conexaoagua.mpf.mp.br/arquivos/agrotoxicos/05-larissa-bombardi-atlas-agrotoxico-2017.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2022.
- BACHHETI, R.K., Sharma, A., Bachheti, A., Husen, A., Shanka, G.M., Pandey, D.P., 2020. Nanomaterials from various forest tree species and their biomedical applications in: Husen, A., Jawaid, M. (Eds.) **Nanomaterials for Agriculture and**

Forestry Applications. Elsevier Inc. 50 Hampshire St., 5th Floor, Cambridge, MA 02139, USA, pp. 81–106.

BARROS, VM; MOREIRA, J. de J. da S.; LEITE NETA, MTS; NUNES, TP; VASVARY, EHSC; NARAIN, N.; WARTHA, ERS de A. Redução de antinutrientes e manutenção de compostos bioativos em farinhas de resíduo agroindustrial de acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, Brasil**, v. 9, n. 9, p. 188-197, 2020.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas, Brasil**, v. 22, n. 3, p. 67-75, 2010.

BRASIL. Malpighiaceae in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB155>>. Acesso em: 16 mar. 2023.

BRASIL. Malpighia in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB600086>>. Acesso em: 01 mar. 2023.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phototherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res**, Brasil, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CARVALHO, W.P. *et al.* Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a Germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2014.

CENSO AGROPECUÁRIO. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/> Acesso em: 20 jun. 2022.

CHENGXU, W.; MINGXING, Z.; XUHUI, C.; BO, Q. Review on Allelopathy of Exotic Invasive Plants. **Procedia Engineering**, China, v. 18, p. 240-246, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.11.038>.

COELHO, Y.S.; RITZINGER, R.; OLIVEIRA, J.R.P. *et al.* Proacerola: Programa de desenvolvimento da Cultura da Acerola no Estado da Bahia. In: **Reunião anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical**, V. 49, Fortaleza, Abstract Fortaleza: Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, 2003.

CROTEAU, Rodney *et al.* Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry and molecular biology of plants**, Los Angeles, v. 24, p. 1250-1319, 2000.

DE OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Controle de plantas daninhas: métodos físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia. **Embrapa**, 2018.

DE TOXICOLOGIA, Gerência Geral *et al.* Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos **PARA: relatório das amostras analisadas no período de 2017-2018: primeiro ciclo do Plano Plurianual 2017-2020**, Brasil, 2019.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, EUA, v. 48, n. 5, p. 1048–1056, 2013.

DOS SANTOS, A. L. **Caracterização do extrato seco da *Malpighia emarginata***. TCC-UNIFAL-MG, Alfenas-MG, p. 1-37, 2021.

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

DUKE, S. O. Proving allelopathy in crop-weed interactions. **Weed Science**, Cambridge, v. 63, p. 121-132, 2015.

DÜSMAN, E.; FERREIRA, M. F. D. S.; BERTI, A. P.; MARIUCCI, R. G.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Investigation of cytotoxic and mutagenic effects of *Malpighia glabra* L. (barbados cherry) fruit pulp and vitamin C on plant and animal test systems. **Food Science and Technology**, EUA, v. 32, n. 2, p. 405-411, 2012.

EL-HAWARY, S.S.; EL-FITANY, R. A.; MOUSA, O. M.; SALAMA, A. A.; EL GEDAILY, R. A. E. Perfil metabólico e atividade hepatoprotetora in vivo de folhas de *Malpighia glabra* L. **Journal of food biochemistry**. EUA, First published: v.22, December, 2020.

EL SAWI, Salma A. *et al.* Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species. **Annals of Agricultural Sciences**, Arábia, v. 64, n. 1, p. 89-94, 2019.

EMBRAPA. Agência de Informação Embrapa. Disponível em <https://www.embrapa.br/documents>. Acesso em: 20 jun. 2022.

ENGELS, G.; BRINCKMANN, J. Acerola-*Malpighia glabra*. **American Botanical Council**, NY, 2014.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista brasileira de fisiologia vegetal**, Brasil, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, M. G. R.; RIBEIRO, G. D. Coleção de fruteiras tropicais da Embrapa Rondônia. **Comum Técnico**, Brasil, 306. p. 1-14, 2006.

FRANCO, D. P. *et al.* A importância das cumarinas para a química medicinal e o desenvolvimento de compostos bioativos nos últimos anos. **Química Nova**, Brasil, v. 44, p. 180-197, 2021.

FREITAS, L. B. O. *et al.* Allelopathic, cytotoxic and antifungic activities of new dihydrophenanthrenes and other constituents of leaves and roots extracts of *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae). **Phytochemistry Letters**, Europe, v. 12, p. 9-16, 2015.

GINDRI, D. M.; COELHO, C. M. M. Metabólitos aleloquímicos de *Lantana camara* L.: potencial para o desenvolvimento de bioherbicida—revisão. **Revista Técnico-Científica**, Brasil, n. 24, 2020.

GLAB, L.; SOWIŃSKI, J.; BOUGH, R.; DAYAN, F. E. Chapter Two - Allelopathic Potential of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench in Weed Control: A Comprehensive Review. **Advances in Agronomy**, Carolina State, v. 145, p. 43-95, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.05.001>.

GOVÊA, K.; PEREIRA, R.; ASSIS, M.; ALVES, P.; TRINDADE, L.; BARBOSA, S. Response of *Lactuca sativa* L. 'Babá de verão' exposed to different substrates for laboratory bioassays. **Pakistan Journal of Botany**. Paquistão, v. 52, 2020a. DOI: 10.30848/PJB2020-5(22).

GOVÊA, K. P.; PEREIRA, R. S. T.; ASSIS, M. D. O. *et al.* Allelochemical Activity of Eugenol Derived Coumarins on *Lactuca sativa* L. **Plants**, EUA, v. 9, n. 533, p.1-16, 2020b.

GRISI, P. U. *et al.* Allelopathic effect of *Sapindus saponaria* fruit on germination and seedlings morphology of weed and vegetables. **Planta daninha**, Brasil, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de *Pilocarpus pennatifolius* Lemaire sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de espécies cultivadas. **Acta Amb. Catarinense**, SC, v. 12, n. 1, p.1-11, 2015.

HOSSEN, K.; KATO-NOGUCHI, H. Determination of allelopathic properties of *Acacia catechu* (L.f.) Willd. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, China, v. 48, n. 4, p. 2050-2059, 2020.

IAS. International Allelopathy Society. **About: What is Alleopathy?** Disponível em: <<https://allelopathy-society.osupytheas.fr/about/>>. Acesso em: 15 fev. 2023.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cartograma - Acerola do Brasil por Quantidade produzida**. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0etema=78207>. Acesso em: 15 fev. 2023.

ICLEI - **Governos Locais pela Sustentabilidade. Como é trabalhar com biodiversidade no país mais biodiverso do mundo?** Disponível em: <https://americadosul.iclei.org/como-e-trabalhar-com-biodiversidade-no-pais-mais-biodiverso-do-mundo/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

JARDIM, Fernando Antônio. *et al.* Fatores Determinantes das Florações de Cianobactérias na Água do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Eng. Sanit. Ambient. Brasil**, v.19, n. 3. Jul / Set, p. 207-218. 2014.

JUNIOR, A. A. B. Manejo das plantas daninhas pela alelopatia. **Agropecuária Catarinense**, SC, v. 17, n. 1, p. 61-64, 2004.

KATO-NOGUCHI, H.; PUKLAI, P.; OHNO, O.; SUENAGA, K. Isolation and identification of plant growth inhibitor from *Tinospora tubercula* Beumee. **Acta Physiologiae Plantarum**, China, v. 36, n. 7, p. 1621-1626, 2014.

KOHLI, R. K., Batish, D., e Singh, H. P. (1998). Allelopathy and Its Implications in Agroecosystems. **Journal of Crop Production**, França, 1, 169-202.

LIMA, C. P. et al. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Botânica Brasileira**, Brasil, v. 25, p. 331-336, 2011.

LIU, X. ; TAKAYAMA, K. ; YAMASHITA, K. ; NAKANISHI, Y. ; MANDA, M. ; INANAGA, J., 1998. Cultivation condition and nutritive value of *Azolla* as a feed resource. **Grassl. Sci.**, Itália, 44 (3): 266-271.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, Brasil, v. 42, p. 518-534, 2018.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Bot. Bras**, Brasil, v.20, n.1, p.61- 69, 2006.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; GARCÍA-PARRILLAB, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, Reino Unido, v. 21, p. 282– 290, 2008.

MOLISCH, H. Der Einfluss einer Pflanze auf die Andere, Allelopathie. **Nature Reino Unido**, v.141, p.493, 1938. DOI: <https://doi-org.ez37.periodicos.capes.gov.br/10.1038/141493a0>.

MORAES, R. M.; SANTOS FILHO, P. R. ; CARVALHO, M. ; NOGUEIRA, M. L.; BARBOSA, S. Effects of copper on physiological and cytological aspects in *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Brasil, v. 13, p. 115-121, 2015.

MOTMAINNA, M.; JURAIMI, A.; ASIB, N.; ISLAM, A. K. M. M.; HASAN, M. Assessment of allelopathic compounds to develop new natural herbicides: A review. **Allelopathy Journal**, Malásia, v. 52. p. 21-40, 2021. DOI: 10.26651/allelo.j/2021-52-1-1305.

NASCIMENTO, E. M.; RODRIGUES, F. F.; COSTA, W. D.; TEIXEIRA, R. N.; BOLIGON, A. A.; SOUSA, E. O.; DA COSTA, J. G. M. HPLC and in vitro evaluation

of antioxidant properties of fruit from *Malpighia glabra* (Malpighiaceae) at different stages of maturation. **Food and Chemical Toxicology**, EUA, v.119, p. 457-463, 2018.

NEGA, Fikadu; GUDETA, Temesgen Bedassa. Allelopathic effect of *Eucalyptus globulus* Labill. on seed germination and seedling growth of highland Teff [*Eragrostis tef* (Zuccagni) Trotter)] and Barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Experimental Agriculture International**, Índia, v. 30, n. 4, p. 1-12, 2019.

NOGUEIRA, J. P.; DE SIQUEIRA, A. C. P.; SANDES, R. D. D.; GALVÃO, M. S.; SANTOS LEITE NETA, M. T.; NARAIN, N. An insight into key volatile compounds in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) pulp based on their odour activity values and chemometric evaluation. **Analytical Methods**, EUA, v. 48, n.10, p.5851-5866, 2018.

NOGUEIRA, M. L.; CAMPOS, N. A.; SANTOS, S. C.; BEIJO, L. A.; BARBOSA, S. Allelopathic Effects of Aqueous and Ethanolic Leaves Extracts of *Schinus molle* L. under Different Kinds of Pruning. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Brasil, v.7, p. 169-177, 2017.

NOGUEIRA, M. L.; CAMPOS, N. A.; SANTOS, S. C.; BEIJO, L. A.; BARBOSA, S. Espécies utilizadas em arborização urbana podem apresentar fitotoxicidade - um estudo de caso em *Schinus molle* L. **Ciência Florestal**, Brasil, v. 31, n. 1, p. 66–84. 2021. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509820597>.

NOGUEIRA, J. P.; DE SIQUEIRA, A. C. P.; SANDES, R. D. D.; DE SOUSA, M. G.; LEITE NETA, M. T. S.; NARAIN, N. An insight into key volatile compounds in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) pulp based on their odour activity values and chemometric evaluation. **Analytical Methods**, Índia, v. 48, n.10, p.5851-5866, 2018.

NOVAES, F. J. M.; AGUIAR, D. L. M.; BARRETO, M. B.; AFONSO, J. C. Atividades experimentais simples para o entendimento de conceitos de cinética enzimática: *Solanum tuberosum* – uma alternativa versátil. **Química nova na escola**, Brasil, v. 35, nº 1, p. 27-33, 2013.

OGUNSUSI M, AKINLALU AO, KOMOLAFE IJ, OYEDAPO OO (2018) 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**, EUA, 10:1-9. <https://doi.org/10.5897/IJPPB2017.0261>

PARDO-MURAS, María; PUIG, Carolina G.; PEDROL, Nuria. Complex Synergistic Interactions among Volatile and Phenolic Compounds Underlie the Effectiveness of Allelopathic Residues Added to the Soil for Weed Control. **Plants**, Spain, v. 11, n. 9, p. 1114, 2022.

PAULA, C.S.; CANTELI, V.C.D.; SILVA, C.B.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Estudo do potencial fitotóxico de extratos de *Bauhinia unguolata* L. sobre a divisão celular e atividade enzimática em plântulas de alface. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, p.577-584, 2015.

PENG, S. L. *et al.* Is allelopathy a driving force in forest succession? **Allelopathy Journal**, RJ, v. 14, p. 197-204, 2004.

PENUÉLAS, J.; Baret, F.; Filella, I. Semi-empirical indices to assess carotenoids/chlorophyll a ratio from leaf spectral reflectance. **Photosynthetica**, República Checa, v.31, n.2, p.221-230. 1995.

PEREIRA, M. M.; BOSSOLANI, G. D. P. O uso de flavonoides no tratamento do diabetes mellitus tipo 2. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES**, MT, v. 3, n. 4, 2020.

PIRES, N. M. *et al.* Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 61-65, 2001.

POURESMAEIL, M.; MOTAFAKKERAZAD, R. Dual Allelopathic Effects of Yarrow's Different Organs Extract on Germination and Seedling Growth of Wheat. **International Journal of Plant Biology e Research**, Itália, 2018.

PUTNAM, A.R. **Weed allelopathy**. In: DUKE, S.O. (ed.) *Weed physiology: reproduction and ecophysiology*. Boca Raton, EUA: CRC press, p. 131-155, 1985.

REDDY, P. R. K. *et al.* Plant secondary metabolites as feed additives in calves for antimicrobial stewardship. **Animal Feed Science and Technology**, EUA, v. 264, p. 114469, 2020.

REHMAN, N. U. *et al.* Evaluation of biological potential and physico-chemical properties of *acridocarpus orientalis* (Malpighiaceae). **Pak. J. Bot.**, Paquistão, v. 51, n.3, p 1099-1106, 2019. DOI: 10.30848/PJB2019-3(8).

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

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

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2.ed. New York: Academic, 1984. 422p.

RIZVI, S. J. H. *et al.* A discipline called allelopathy. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Ed.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman e Hall, p. 1-10, 1992..

SANGEETHA, C.; BASKAR, P. Allelopathy in weed management: A critical review. **Jornal Africano of Agricultural**, África, v.10, n. 9, 2015.

SANTOS, P. F. P. *et al.* Polyphenol and triterpenoid constituents of *Eugenia florida* DC. (myrtaceae) leaves and their antioxidant and cytotoxic potential. **Quím Nova**, Brasil, v. 41, n.10, p.140-1149, 2018.

SANTOS, V. H. M. dos. **Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa*.**

2012. 44 f. Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas - Botânica) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2012.

SCOGNAMIGLIO, M. et al. Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on mediterranean biomes. **Phytochemistry Reviews**, EUA, v. 12, p. 803-830, 2013.

SCRIVANTI, Lidia Raquel; ANTON, Ana María. Germination inhibitory activity of aqueous extracts of native grasses from South America. **Rodriguésia**, EUA, v. 72, 2021.

SILVEIRA, P. F.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; CAMILI, E. C.; SPILLER, C.; VARGAS, S. H. Allelopathic activity in leaf extracts and seeds of *Prosopis juliflora* in lettuce germination. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Brasil, v. 14, n. 2, p. 523-535, 2021. DOI:10.17765/2176-9168.2021v14n2e8249.

SIMÃO, S. Cereja das Antilhas. In: SIMÃO, S. **Manual de Fruticultura**. São Paulo: Agronômica Ceres, cap.15, p. 477-485. 1971.

SIMÕES, M.S.; MANDAIL, R.H.; BARBOSA, S.; NOGUEIRA, M. L. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, Brasil, v. 26, p. 29-36, 2013.

SINGH, S.; KAUR, I.; KARIYAT, R. The multifunctional roles of polyphenols in plant-herbivore interactions. **International Journal of Molecular Sciences**, Suíça, v. 22, n. 3, p. 1442, 2021.

SIYAR, S. *et al.* Allelopathic effect of aqueous extracts of three weed species on the growth and leaf chlorophyll content of bread wheat. **Acta Ecologica Sinica**, China, v. 39, n. 1, p. 63-68, 2019.

SOARES, E., Oliveira, G. S. F., Maia, G. A., Monteiro, J. C. S., Silva Jr., A. e Filho, M. S. S. (2001). Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata* d.c.) pelo processo "foam-mat". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Brasil, 21(2), 164-170.

SOLTYS, Dorota *et al.* Allelochemicals as bioherbicides—Present and perspectives. In: Herbicides-Current research and case studies in use. **IntechOpen**, EUA, 2013.

SOUZA, P. M., ... e DE OLIVEIRA SANTOS, O. (2020). Viabilidade da obtenção de polpa de acerola (*Malpighia spp*) microencapsulada e liofilizada: Uma revisão. **Research, Society and Development**, Brasil, 10(2), e30410212536-e30410212536.

SOUZA, F. M. *et al.* Allelopathic potential of bark and leaves of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae). **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v.24, n.1, p.169-174, 2010.

SOUZA FILHO, A. P. S. *et al.* Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, Belém, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil. 4. ed. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**, SP, p. 768, 2019.

SPIASSI, A. *et al.* Allelopathic effects of pathogenic fungi on weed plants of soybean and corn crops. **Biosc. J.**, Índia, v.31, n.4, p.1037-1048, 2015. doi: 10.14393/BJ-v31n4a2015-26142.

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

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. Secondary metabolites and plant defense. **Plant physiology**, USA, v. 4, p. 315-344, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 888 p, 2017.

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. H. P. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Scientiarum. Agronomy**. (UEM), Maringá, v. 28, p. 379-384, 2006.

TREVISAN, R.R. *et al.* Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Brasil, v.14, p.494-499, 2012.

VALADARES, A. A.; ALVES, F.; GALIZA, M. **O Crescimento do uso de agrotóxicos: uma análise descritiva dos resultados de Censo Agropecuário**, Brasil, 2017. 2020.

WARDLE, D. A.; KARBAN, R.; CALLAWAY, R. M. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. **Trends in ecology e evolution**, Inglaterra, v. 26, n. 12, p. 655-662, 2011.

WINK, Michael. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. **Theoretical and applied genetics**, Berlin, v. 75, n. 2, p. 225- 233, 1988.

ZIEGLER, Jörg; FACCHINI, Peter J. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. **Annual review of plant biology**, EUA, v. 59, p. 735, 2008.

PARTE II

ARTIGO: Artigo redigido conforme as normas da revista *Biologia Futura*.

ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE EXTRATOS FOLIARES DE *Malpighia glabra* L

AUTORES: Guilherme Sérgio Vieira, Diana Layla Lemos Santos, Thainá Meneghetti Nehme, João Vítor Barbosa Calvelli, Antônio Rodrigues Cunha Neto, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa

Atividade alelopática de extratos foliares de *Malpighia glabra* L.

Guilherme Sérgio Vieira¹

<https://orcid.org/0009-0008-6487-5881>; guilherme.sergio@sou.unifal-mg.edu.br

Diana Layla Lemos Santos¹

<https://orcid.org/0009000723814831>; diana.santos@sou.unifal-mg.edu.br

Thainá Meneghetti Nehme¹

<https://orcid.org/0000-0001-7993-0144>; thaina.nehme@sou.unifal-mg.edu.br

João Vítor Barbosa Calvelli¹

<https://orcid.org/0000-0001-6075-6158>; jvcalvelli@outlook.com

Antônio Rodrigues Cunha Neto¹

<https://orcid.org/0000-0001-7107-2755>; antoniorodrigues.biologia@gmail.com

Geraldo Alves da Silva²

<https://orcid.org/0000-0003-3594-563X>; geraldo.silva@unifal-mg.edu.br

Sandro Barbosa^{1*}

<https://orcid.org/0000-0001-7321-0007>; sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br

¹ Universidade Federal de Alfenas; Instituto de Ciências da Natureza; Laboratório de Biotecnologia Ambiental e Genotoxicidade; 37130000 - Alfenas, MG - Brazil.

² Universidade Federal de Alfenas; Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 37130000, Alfenas - MG, Brasil.

*Corresponding author: E-mail address: sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br (S. Barbosa) +55 35 3701 9696.

Resumo

Malpighia glabra L. (aceroleira) é uma planta com potencial econômico e nutricional devido ao alto teor de vitamina C. Suas folhas contêm compostos químicos que possuem propriedades alelopáticas, afetando outras plantas de forma benéfica ou prejudicial. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial alelopático de extratos foliares de *M. glabra* e os seus efeitos fitotóxicos e citogenotóxicos em bioensaios com *Lactuca sativa* L. (Alface). Foram obtidos extratos aquoso e hidroetanólico, pelos métodos de decoção e percolação exaustiva, secos por liofilização e *Spray Dry*, respectivamente. As concentrações empregadas foram de 5, 10, 20 e 40 mg.mL⁻¹ e água destilada como controle. Os parâmetros avaliados foram: a porcentagem de germinação inicial e final, o índice de velocidade de germinação, o índice de efeito alelopático, a massa fresca, comprimento de parte aérea, alongamento de raiz, índice mitótico e a frequência de anormalidades cromossômicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), os dados foram analisados por análise de variância, teste de Scott-Knott a 5% e regressão, utilizando o programa Sisvar. Os resultados indicam que os dois extratos avaliados

influenciaram negativamente os parâmetros germinativos e morfológicos da alface. Contudo não apresentou alterações sobre o índice mitótico, mas afetou o padrão de anormalidades cromossômicas, pelo aumento de ponte em anáfase e telófase. *M. glabra* é um alvo interessante para o desenvolvimento de estudos fitoquímicos, que pode levar à identificação de substâncias químicas naturais eficazes contra plantas daninhas.

Palavras-chave: Acerola. *Lactuca sativa* L. Bioensaios. Fitotoxicidade. Citotoxicidade.

Introdução

A família Malpighiaceae é facilmente reconhecida pela presença de nectários extraflorais dispostos aos pares, localizados na base das sépalas em quase todas as espécies e por seus frutos comestíveis (SOUZA and LORENZI, 2012). O gênero *Malpighia*, contém aproximadamente 45 espécies de arbustos ou pequenas árvores, que são principalmente cultivadas pelo sabor de suas frutas (Mezadri et al., 2008). Entre elas, *Malpighia glabra* L. tem sido comumente cultivada para fins comerciais e consumo humano (Barros et al., 2020).

Conhecida popularmente como aceroleira, apresenta fácil cultivo, e com grande capacidade de aproveitamento industrial, que viabiliza a elaboração de vários produtos ao mesmo tempo em que promove o desenvolvimento do agronegócio (Nasser et al., 2020). Embora os frutos de *M. glabra* sejam bem estudados por seu destaque nutricional e medicinal já mencionado, pouca atenção tem sido atribuída às folhas. Alguns estudos evidenciaram a presença de 50 metabólitos nas folhas, pertencentes a diferentes classes como: cumarinas (capensina, dafnoretina e escopoletina), flavonoides (principalmente quercetina e glicosídeos de apigenina), ácidos fenólicos (ácido cinâmico e derivados do ácido quínico) e aminoácidos (adenosina, homoisoleucina e fenilalanina) (El-Hawary et al., 2021).

Com o aumento da demanda mundial por alimentos, tem se intensificado o uso de agrotóxicos, agentes altamente nocivos ao ambiente e à saúde humana. Nesse sentido, estudos de prospecção que visam identificar a atividade alelopática das plantas (Calvelli et al., 2023) surgem como alternativa, pois podem servir de base para o controle integrado de ervas daninhas, dando origem a métodos naturais com menor impacto ambiental (Hossen and Kato-Noguchi, 2020).

A alelopatia é um processo derivado do metabolismo secundário das plantas, em que o vegetal libera substâncias químicas, que podem apresentar mecanismos de ação direta ou indireta no desenvolvimento de outras plantas, resultando em um efeito inibitório ou uma ação estimuladora (Sangeetha and Baskar, 2015). A cobertura morta, também conhecida como palhada, tem vários efeitos que podem ajudar no controle de plantas daninhas, criando um ambiente físico desfavorável e que também pode liberar substâncias químicas que inibem seu

crescimento e desenvolvimento. É uma técnica importante no manejo de plantas daninhas de forma natural e sustentável, sendo a utilização das folhas caducas da aceroleira uma alternativa viável.

Os compostos aleloquímicos são variados quanto à constituição, concentração e distribuição, sendo encontrados em todos os órgãos vegetais, mas frequentemente acumulados nas folhas (Amâncio et al., 2021). Esses compostos podem interferir de várias maneiras no metabolismo das plantas como redução e/ou inibição da germinação de sementes, do crescimento inicial da parte aérea, do sistema radicular, clorose e dos teores de clorofila (Calvelli et al., 2023).

Diante do exposto sobre a necessidade de desenvolver estudos sobre alelopatia com o viés de utilizar esta ferramenta na agricultura de baixo impacto, objetivou-se avaliar a atividade alelopática de extratos foliares de *M. glabra* sobre a germinação de sementes, crescimento inicial de *Lactuca sativa* e verificar os efeitos no ciclo celular e anormalidades cromossômicas.

Materiais e métodos

Coleta e preparo da amostra

As folhas de *M. glabra* foram coletadas em espécimes localizados na região de Alfenas, estado de Minas Gerais, Brasil (latitude 45° 57' 14" Sul e longitude 21° 24' 56" Oeste). As exsicatas do material botânico foram preparadas, identificadas e registradas no herbário da Universidade Federal de Alfenas, com o número de tomo 3250. As amostras foram secas em estufa de circulação e renovação de ar (Solab® SL 102), até atingir peso constante. Em seguida foram trituradas em moinho de facas (Cienlab® CE 430) e a droga vegetal pulverizada foi classificada quanto ao tamanho da partícula (Brasil, 2019) em agitador eletromagnético (Bertel®).

Métodos extrativos

O extrato aquoso foi obtido pelo método de decocção a 20% (Brasil, 2019), a solução foi filtrada em bomba a vácuo com papel filtro, congeladas e submetidas ao processo de liofilização, sob temperatura de -57 °C, pressão de 500 µHg por 3 dias e armazenados em dessecador.

Para o extrato hidroetanólico, foi empregado o método de percolação exaustiva, com etanol a 70% segundo Brasil (2019). O percolador foi montado com 100g de folha pulverizada e mantido em maceração por 3 dias, com o líquido extrator e percolação na frequência de 20 gotas por minuto, até a extração completa. O percolado foi concentrado por rotaevaporação, no sistema da Buchi (Rotavapor R-100, Heating Bath B-100 e Vaccum Pump V-100) à temperatura de 45 °C, para retirada do etanol. Para a secagem foi usado o método “spray

drying” (Mini Spray Dryer B-290 da BUCHI), na temperatura de 130 °C e pressão de -30 µHg. Para esse processo, foi calculado o teor de sólidos totais do extrato e adicionado dióxido de silício coloidal (Aerosil®200) a 50% (p/v).

Condições experimentais

Os experimentos de fitotoxicidade e citotoxicidade foram realizados em placas de Petri 60 mm de diâmetro, com duas folhas de papel germitest® por placa, umedecidas com 3 mL de cada extrato nas concentrações de 0, 5, 10, 20 e 40 mg.mL⁻¹, em 3 repetições, contendo 30 cipselas de *Lactuca sativa* cv. Moana para cada repetição (Calvelli et al., 2023; Simões et al., 2013). O experimento foi conduzido em câmara de crescimento de demanda de oxigênio (BOD - Ethik 411 FPD) a 20 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

Avaliação de fitotoxicidade

Após a condução dos bioensaios, foram avaliados a protrusão radicular com 24 horas, porcentagem de germinação com 4 e 7 dias (Brasil, 2009) e índice de velocidade de germinação (IVG) que foi calculado pela contagem das sementes, no período de 4 em 4 horas nas primeiras 48 horas, em seguida de 12 em 12 horas, até o decorrer de sete dias, de acordo com (Maguire, 1962):

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

Onde: G1 = número de sementes germinadas na primeira contagem; N1 = primeira contagem; G2 = número de sementes germinadas na segunda contagem; N2 = segunda contagem; n = última contagem

Também foi calculado o índice de efeito alelopático (RI) com base no cálculo de velocidade de germinação, por intervalos de 24 horas, utilizando o índice de resposta proposto por (Williamson and Richardson, 1988) e adaptações de (Calvelli et al., 2023):

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

C = velocidade de germinação (GS) do controle; T = velocidade de germinação do tratamento.

For germination speed (GS), we used:

$$VG (\%) = \sum \frac{\left(\frac{Gt}{D}\right)}{\sum \left(\frac{Gc}{D} \times 100\right)}$$

Where Gt: Number of seeds germinated daily from the treatment and Gc: Number of seeds germinated daily from the control, D: the number of corresponding days.

Após 7 dias de condução experimental, foram determinadas o número de plântulas normais e anormais de acordo com os seguintes critérios: eixo vegetal completo (radícula, cálculo e folha cotiledonar), com

características visuais inalteradas para plântulas normais. O comprimento de raiz e de parte aérea foram realizadas através do programa ImageJ®, onde as 10 maiores plântulas foram digitalizadas em papel milimetrado. A biomassa fresca foi mensurada em balança analítica após a captura das imagens..

Avaliação de citotoxicidade

A partir da condução experimental descrita anteriormente, as pontas de raízes foram coletadas com 24 horas após a exposição aos extratos e fixadas em solução de Carnoy 3:1 (álcool:ácido acético) por 24 horas, seguido de renovação do fixador e armazenadas a -15 °C (Amâncio et al., 2020).

As pontas de raízes, passaram por três banhos hipotônicos com água destilada, seguido de hidrólises em HCl 5 M por 20 minutos em temperatura ambiente, posteriormente foram enxaguadas e coradas com reativo de Schiff por 45 minutos. O meristema foi coletado, adicionado uma gota de ácido acético 45% e a lâmina confeccionada pelo método de esmagamento (Calvelli et al., 2023).

O Índice Mitótico (IM), foi calculado a partir da contagem de 6000 células por tratamento. Sendo contabilizado: interfases, prófases, metáfases, anáfases e telófases, segundo a equação:

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

Onde o NCM é o número de células em mitose e NTC é o número total de células analisadas

A frequência de anormalidades cromossômicas (FAC) foram analisadas pela presença de alterações nas fases da mitose (Cunha Neto et al., 2023; Leme and Marin-Morales, 2009), sendo avaliados a presença de micronúcleo, ponte em anáfase, ponte em telófase, C-metáfase, cromossomo pegajoso, cromossomo perdido, cromossomo atrasado em anáfase, cromossomo atrasado em telófase, broto nuclear e núcleo lobulado. A FAC foi calculada com base no número total de células avaliadas por tratamento seguindo a equação:

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

Onde NAC é o número de anormalidades cromossômicas no tratamento e NTC é o número total de células.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 2 métodos extrativos (aquoso e hidroetanólico) e cinco concentrações (0, 5, 10, 20 e 40 mg.mL⁻¹), sendo o controle realizado com água destilada. Cada tratamento foi composto de três repetições de 30 sementes de *Lactuca sativa* cada. Os dados foram analisados por meio de análise de variância e submetidos ao teste de comparação de médias de Scott-Knott a 5% e análise de regressão, com significância estatística (p<0,05), utilizando o programa Sisvar versão 5.4 (Ferreira, 2019).

Resultados

A granulometria das folhas pulverizadas foi classificada como pó fino, de acordo com Brasil (2019), cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μm .

Para o parâmetro de protrusão radicular, houve interação entre os fatores tipo de extração e as diferentes concentrações testadas. Em ambos extratos, as concentrações a partir de 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ inibiram a protrusão radicular. Na menor concentração testada, 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 32% das sementes apresentaram protrusão da raiz quando expostas ao extrato aquoso e 5% em extrato hidroetanólico (Fig. 1 A)

Ao avaliar a germinação inicial, que ocorreu no 4º dia, e a germinação final, no 7º dia, observa-se que o tipo de extração não foi significativo sendo apenas o fator concentração determinante para estes parâmetros (Fig. 1 B e C). A maior concentração testada dos extratos (40 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) resultou em efeitos fitotóxicos mais acentuados inibindo a germinação inicial das sementes de *L. sativa* no 4º dia de avaliação. Já no 7º dia de avaliação, ocorreu uma redução de 35% na germinação das sementes quando expostas a maior concentração dos extratos.

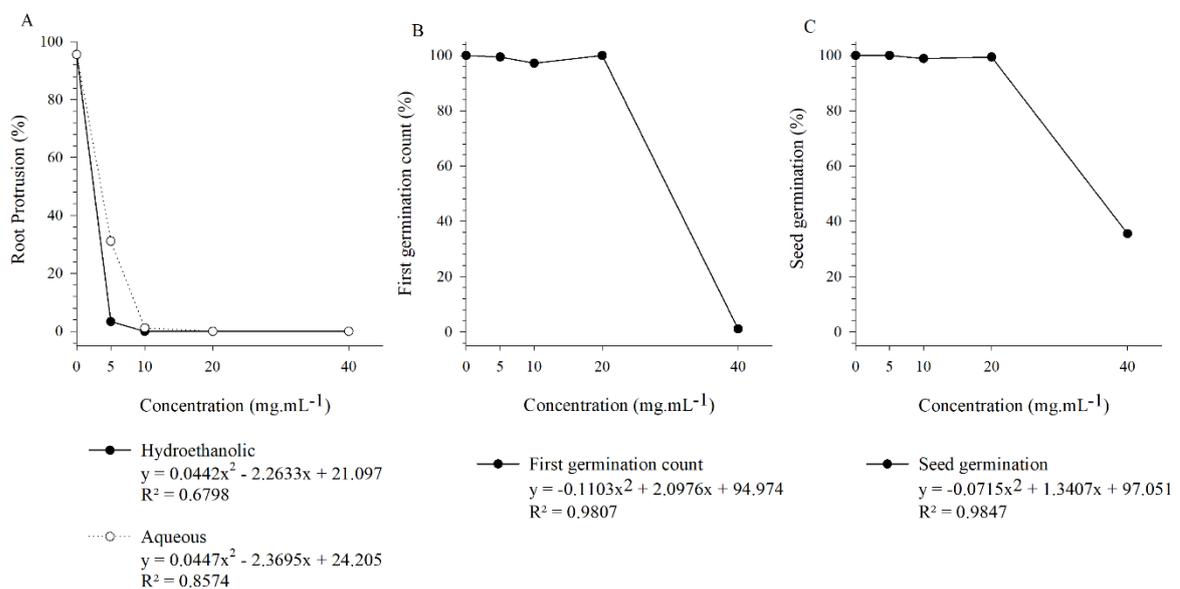


Fig. 1 Parâmetros germinativos de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *Malpighia glabra*. **A** Protrusão radicular em 24 horas; **B** Primeira contagem 4º dia; **C** Segunda contagem 7º dia de sementes.

A respeito do índice de velocidade de germinação (IVG) do bioteste exposto aos extratos de *Malpighia glabra* (Fig. 2 A), observa-se que houve interação entre os fatores estudados. Verifica-se também que o IVG foi afetado em todas as concentrações dos dois extratos. Isso indica que a velocidade de germinação e o vigor das

sementes de *L. sativa* foi afetada negativamente pela presença dos extratos. Além disso, o extrato hidroetanólico apresentou um maior impacto negativo na velocidade de germinação, levando a um atraso mais significativo no processo de germinação das sementes em comparação com o extrato aquoso.

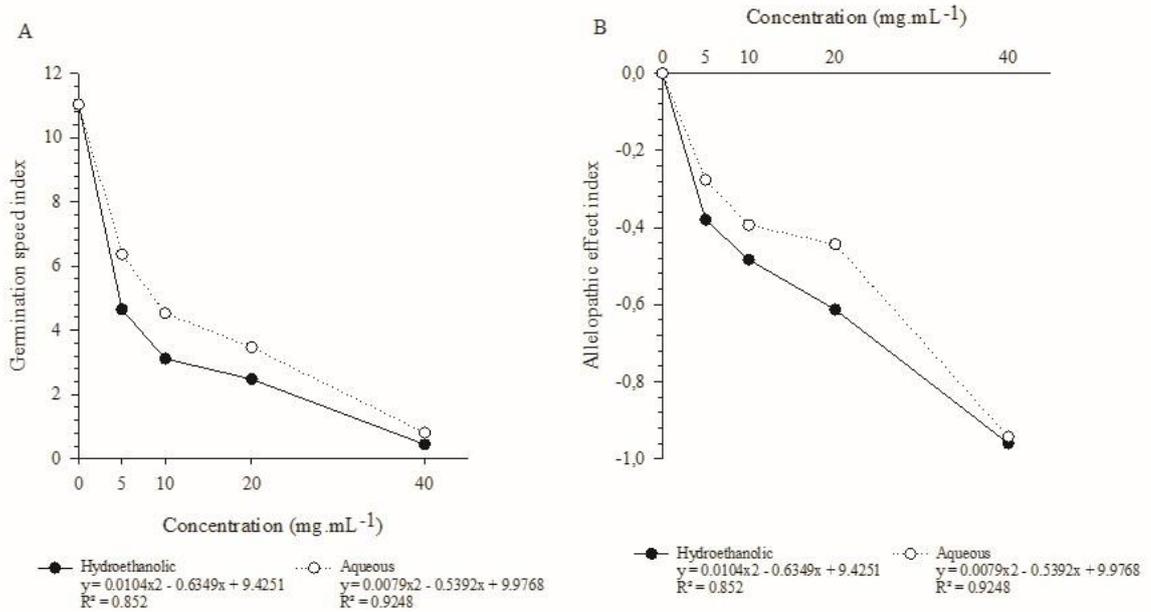


Fig. 2 Processo germinativo de sementes de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *Malpighia glabra*. **A** Índice de Velocidade de Germinação; **B** Índice de Efeito Alopático.

Para o índice de efeito alelopático houve interação entre os fatores. Dessa forma, os resultados desse índice (Fig. 2B), indicam o nível de inibição da germinação das sementes de *L. sativa*. Sendo observada uma relação dose-dependente, onde a concentração de 40 mg.mL⁻¹ foi alcançado um valor médio de -0.95.

Além da redução nos parâmetros germinativos, a exposição aos extratos causou redução no crescimento e desenvolvimento das plântulas. O comprimento de parte aérea foi influenciado apenas pelo fator concentração, o qual reduz a partir da concentração de 10 mg.mL⁻¹ (Fig. 3A).

Para o comprimento radicular, os dois fatores foram significativos de forma individual, não ocorrendo interação. Observa-se que o extrato hidroetanólico proporciona raízes menores de *Lactuca sativa* quando

comparado ao extrato aquoso (Fig. 3B). Já em relação às concentrações testadas, observa-se uma relação dose-dependente para este parâmetro (Fig. 3C).

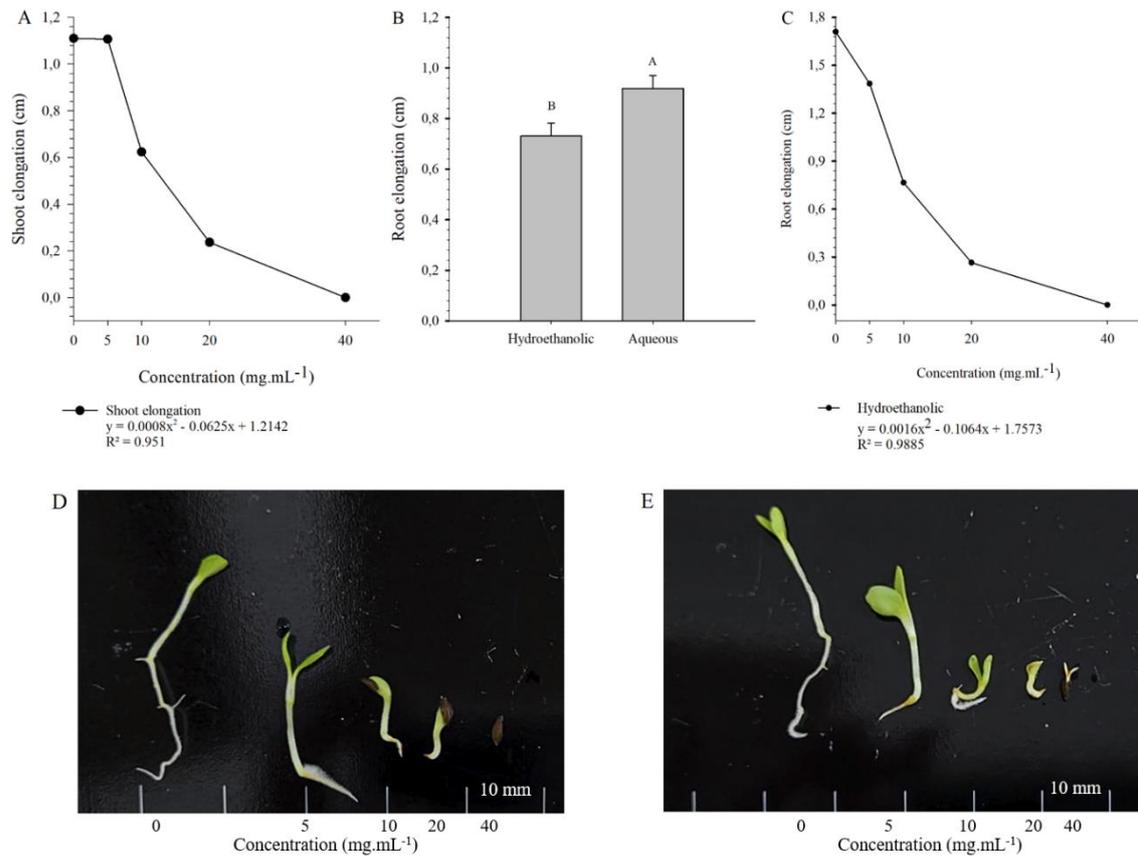


Fig. 3 Desenvolvimento de plântulas de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *Malpighia glabra*. **A** Shoot elongation; **B** Root elongation, onde letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%; **C** Root elongation; **D** Hidroetanólico; **E** Aquoso.

O parâmetro de massa fresca, assim como o comprimento radicular, foi significativo para os dois fatores de forma individual, não havendo interação entre eles. Observa-se que o extrato hidroetanólico confere menor massa as plântulas de *L. sativa* quando comparadas com o extrato aquoso (Fig. 4A). Em relação às concentrações, a menor testada promoveu um ganho de massa seca e as demais apresentaram um efeito tóxico reduzindo este parâmetro quando comparado com o controle (Fig. 4B).

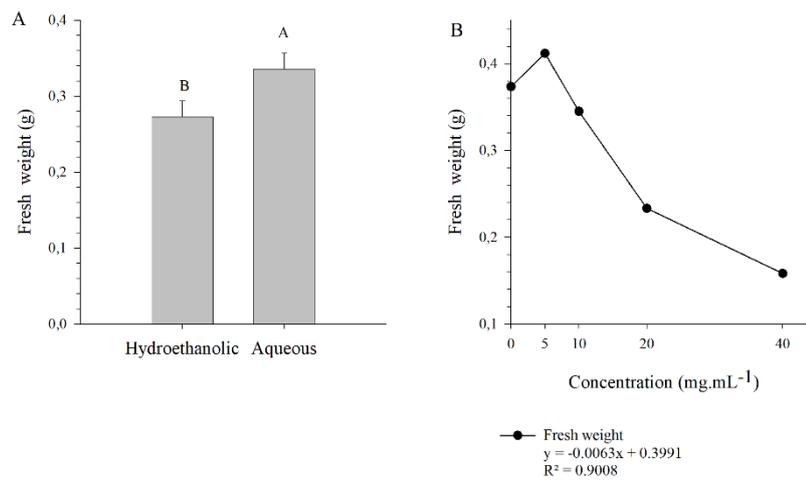


Fig. 4 Massa fresca das plântulas de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *Malpighia glabra*. **A** Massa fresca, onde letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%; **B** Massa fresca

Para número de plântulas normais e anormais não houve interação entre os fatores, sendo que a maior porcentagem de plântulas normais ocorre no controle até a concentração de 5 mg.mL⁻¹. Dessa forma, as plântulas expostas as demais concentrações tem porcentagem maior de anormalidades na sua morfologia (Fig 5) sendo esses dois parâmetros inversamente proporcionais. Por outro lado, para plântulas mortas houve interação entre os fatores, sendo o extrato hidroetanólico maior causador de mortes de *L. sativa*.

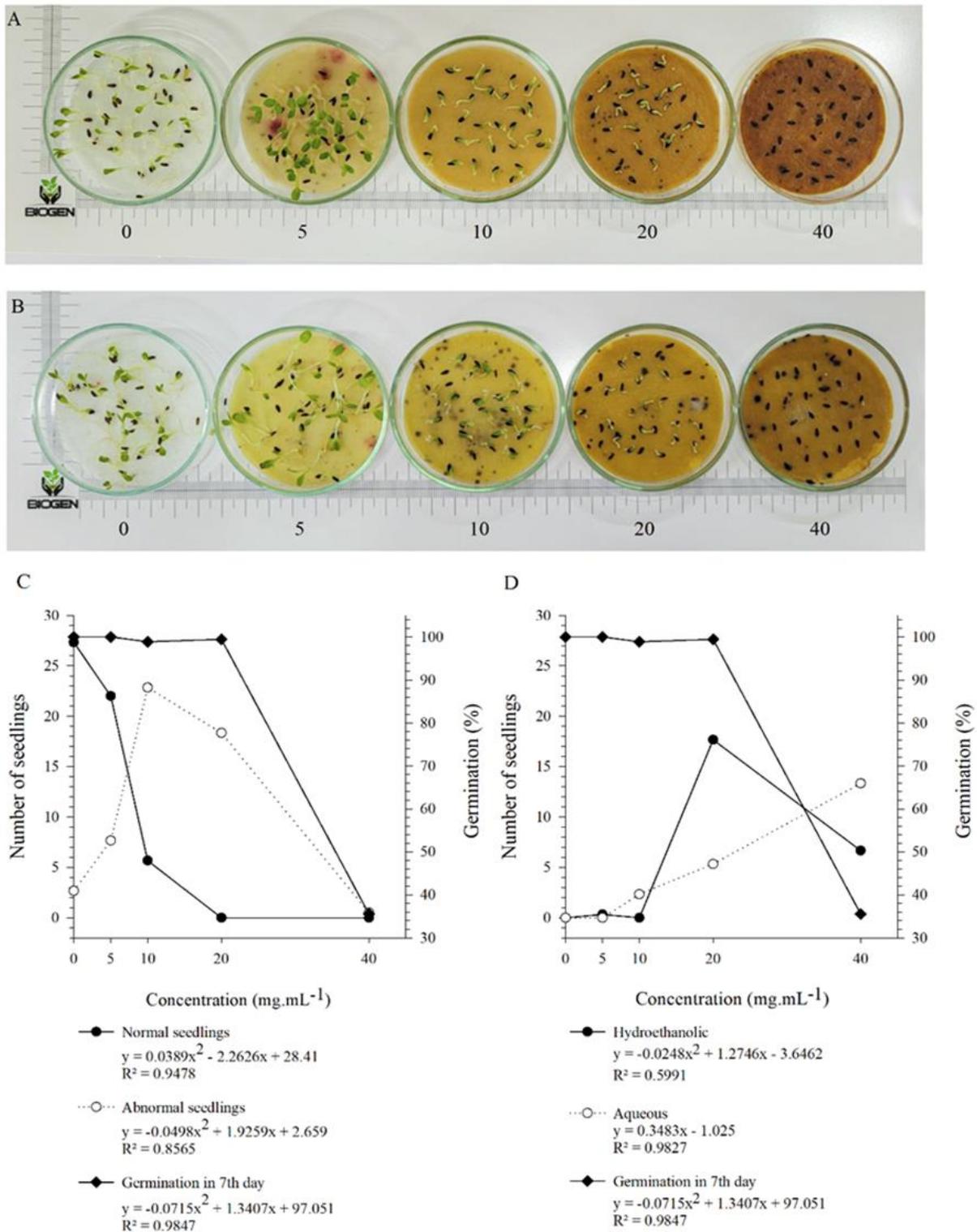


Fig. 5 Características morfológicas das plântulas de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *Malpighia glabra*. Sendo que, para: **A** Hidroetanólico e **B** Aquoso, concentrações em mg.mL⁻¹. **C** Relação entre plântulas normais e anormais, de acordo com a porcentagem de germinação; **D** Plântulas mortas.

Com base nas análises de citotoxicidade (Fig. 6A), demonstra que, tanto nos extratos hidroetanólico e aquoso, houve uma diminuição no índice mitótico ao se comparar o grupo controle e as concentrações (5, 10, 20 e 40 mg.mL⁻¹). Contudo para a frequência de anormalidades cromossômicas, foi observada diferença entre ao grupo controle e as diferentes concentrações (Fig. 6B). Observa-se que na concentração de 40 mg.mL⁻¹ não foi possível analisar, pois nesta concentração não houve presença de radículas viáveis.

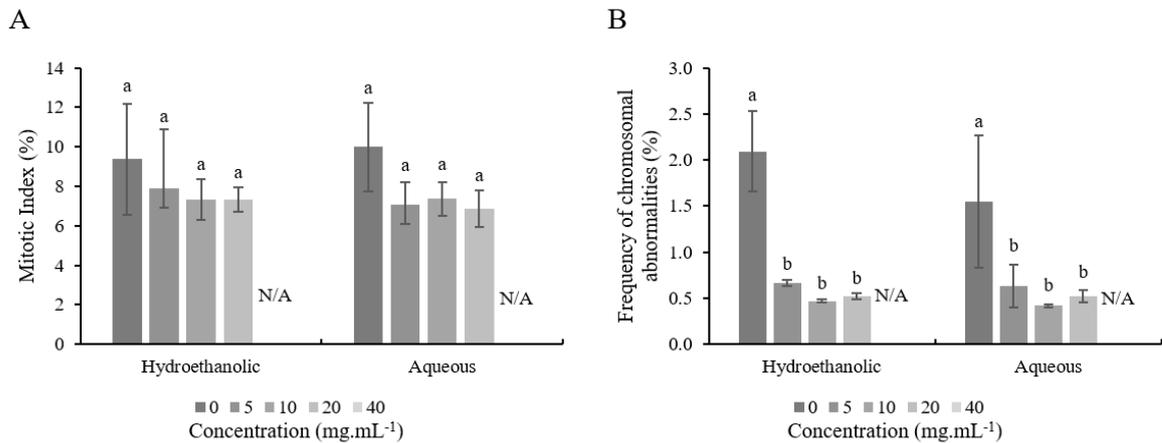


Fig. 6 Parâmetros citogenéticos de *Lactuca sativa* em diferentes concentrações dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *Malpighia glabra*. **A** índice mitótico (IM); **B** Frequência de anormalidades cromossômicas (AC). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

As análises citogenéticas mostraram que o extrato de folhas da *M.glabra* teve efeitos sobre o material genético de *L. sativa*, com uma redução nos índices mitóticos das raízes expostas aos extratos. As concentrações de 5, 10 e 20 mg.mL⁻¹ do extrato hidroetanólico apresentaram uma redução de aproximadamente 20%, 30% e 30%, respectivamente, em relação ao controle (Figura 6.A), enquanto as concentrações correspondentes do extrato aquoso apresentaram uma redução de aproximadamente 30%, 25% e 30% em relação ao controle (Figura 6.A), ambos os extratos apresentaram efeitos citotóxicos significativos nas raízes expostas a eles.

A frequência de anormalidades cromossômicas diferiram estatisticamente do controle, no extrato hidroetanólico, nas concentrações 5, 10 e 20 mg.mL⁻¹, ocorreu um aumento de aproximadamente 0,30%, 0,20% e 0,25%, respectivamente. No entanto, não houve diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações de extrato hidroetanólico testadas. Isso sugere que todas as concentrações de extrato hidroetanólico testadas tiveram um efeito semelhante na frequência de anormalidades cromossômicas observadas. O que também ocorreu no extrato aquoso, onde houve diferenças estatísticas em relação ao grupo controle e as concentrações (Figura 6.B). Observa-se que o índice mitótico mais baixo está associado a uma maior frequência de anormalidades

cromossômicas, enquanto um índice mitótico mais alto indica uma menor frequência dessas alterações, quando se compara ao grupo controle.

Em relação às anormalidades cromossômicas (Tabela 1), foram identificadas ponte em anáfase, ponte em telófase, c-metáfase, stickiness, cromossomo perdido, cromossomo atrasado em anáfase, broto nuclear e núcleo lobulado. Não sendo encontrados micronúcleos em nenhum dos tratamentos.

Tabela 1 Média das Anormalidades Cromossômicas nos extratos Aquoso e Hidroetanólico nas concentrações 0, 5, 10 e 20 mg.mL⁻¹

	Conc mg.mL ⁻¹	Anormalidades Cromossômicas								
		P.ANF	P.TEL	C-M	STICK	CP	CAA	CAT	NB	NL
A q u e o u s	0	0	0	63.33	21.67	0	0	0	0	15.00
	5	44.08	11.50	10.82	17.77	3.70	0	0	1.52	10.61
	10	40.28	7.87	28.24	15.74	3.70	0	4.17	0	0
	20	19.94	3.70	28.77	27.64	0	0	0	2.56	17.38
H y d r e t h a n o l i c	0	40.00	8.33	15.00	6.67	13.33	0	0	16.67	0
	5	22.62	12.30	10.32	22.62	2.38	0	0	4.76	25.00
	10	28.89	0	28.52	35.56	3.33	3.70	0	0	0
	20	16.50	0	23.91	53.54	0	0	0	0	6.06

Legenda: CONC: concentração; P. ANF: ponte em anáfase; P. TEL: ponte em telófase; C-M: C-metáfase; STICK: stickiness; CP: cromossomo perdido; CAA: cromossomo atrasado em anáfase; CAT: cromossomo atrasado em telófase; NB: broto nuclear; NL: núcleo lobulado. Consta a presença de margem de erro.

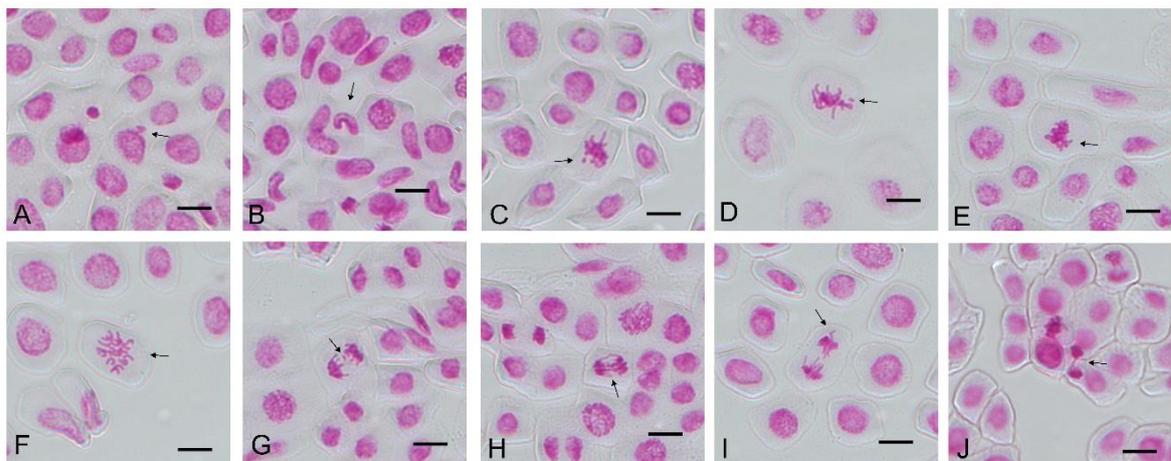


Fig. 7 Anormalidades cromossômicas identificadas nos meristemas radiculares de *L. sativa*. **A** Broto nuclear; **B** Núcleo lobulado; **C and D** Cromossomo perdido em metáfase; **E** Stickiness; **F** C-metáfase; **G** Cromossomo

perdido em anáfase; **H** Ponte em anáfase; **I** Cromossomo atrasado em anáfase; **J**, Ponte em telófase. Barras correspondem a 10 μ m

Discussão

O estudo realizado mostrou que os aleloquímicos presentes na planta *M. glabra* têm um efeito direto sobre o processo de germinação das sementes, resultando em modificações no GSI. Indicando que os aleloquímicos têm a capacidade de afetar o vigor germinativo das sementes, mesmo que não impeçam completamente a germinação. Nesse sentido, apesar de alguns estudos demonstrarem que a germinação é um dos parâmetros menos afetados pelos aleloquímicos, o GSI é considerado um parâmetro de maior relevância para as análises por apresentar maiores sensibilidade em detectar mudanças nos processos germinativos (Calvelli et al., 2023; Santos et al., 2017).

Os metabólitos presentes nos extratos podem interferir nos processos metabólicos das sementes, bloqueando ou retardando seu desenvolvimento, o que resulta em alterações na curva de distribuição da germinação (Ferreira and Borguetti, 2009) (Diogenes *et al.*, 2014). Essas descobertas são relevantes para a compreensão dos efeitos alelopáticos. Amâncio et al. (2021) relataram que os extratos aquosos não interferiram de modo significativo na germinação, em especial na contagem final. Contudo, interferiram na velocidade de germinação.

O índice de efeito alelopático (RI) indica o estímulo ou a inibição causada pelos compostos alelopáticos em estudo, em comparação com o controle (Calvelli et al., 2023; Wang et al., 2019). No caso específico, os resultados do RI indicam efeito inibitório dos extratos de *M. glabra*. Assim, o efeito alelopático pode provocar alterações na curva de distribuição da germinação ou no padrão polimodal de distribuição de germinação das sementes devido às interferências de metabólitos presentes nos extratos que bloqueiam ou retardam o andamento de processos metabólicos (Bewley et al., 2013).

A inibição aumenta à medida que a concentração do extrato aumenta, demonstrando uma resposta dose-dependente. Essas observações reforçam a evidência do efeito alelopático dos compostos presentes em *M. glabra* sobre a germinação das sementes de alface, mostrando uma inibição significativa que pode ter implicações importantes na ecologia e no manejo de plantas daninhas.

Efeitos similares para o crescimento da parte aérea, sendo que o parâmetro se pronunciou de forma mais lenta sob concentrações maiores dos extratos. Assim, diversos autores (Amâncio et al., 2021; Calvelli et al., 2023; Iganci et al., 2006; Nogueira et al., 2021) destacaram que o efeito de compostos alelopáticos geralmente é mais drástico sobre o crescimento do que na germinação, tendo o desenvolvimento de plântulas uma maior sensibilidade e, conseqüentemente, respostas mais visíveis à influência alelopática. As alterações induzidas por substâncias

alelopáticas no desenvolvimento inicial de plântulas podem resultar de diversos efeitos causados no metabolismo primário (Weir et al., 2004). Além disso, alguns estudos apontam para a maior sensibilidade de raízes a exposição de extratos aleloquímicos (SILVA et al., 2018; Silveira et al., 2012), que pode se dar pelo maior contato com compostos presentes nos substratos (Ferreira and Aquila, 2000) (DE CONTI E FRANCO, 2011), afetando o crescimento da parte aérea já que os mecanismos de absorção, translocação e ação das fitotoxinas variarem entre espécies (Yamashita et al., 2022).

Adicionalmente, a massa seca foi menor em plântulas de alface expostas a maiores concentrações dos extratos, bem como, foi maior no extrato aquoso. Tal redução pode estar relacionada com a quantidade de água absorvida pelos tecidos vegetais, já que plantas expostas a substâncias potencialmente tóxicas desenvolvem mecanismos de defesa capazes de dificultar a absorção de água (Amâncio et al., 2021). Além disso, outros estudos que se concentram no desenvolvimento de bioherbicidas ou nos efeitos de ervas-daninha sobre a agricultura observaram o potencial de compostos aleloquímicos reduzindo o crescimento e a massa, bem como o conteúdo de pigmentos fotossintéticos (clorofilas, carotenóides) da espécie receptora (Ghimire et al., 2020; Shi et al., 2023). Hussain et al. (2020), observaram que a redução na massa de diferentes órgãos vegetais expostos a extratos aleloquímicos pode se dar pela redução de proteínas presentes nos tecidos vegetais.

Ademais, o aparecimento de plântulas anormais foi mais pronunciado em 10 mg.L^{-1} . Assim, tal prevalência pode se dar por substâncias alelopáticas presentes nos extratos afetarem o desenvolvimento das plântulas, sendo a necrose da radícula o sintoma mais recorrente (Ferreira and Aquila, 2000). Tais substâncias podem afetar o desenvolvimento da planta de modo severo, levando à morte, efeito observado quando expostas a concentração de 40 mg.L^{-1} .

O extrato etanólico dos frutos de *Byrsonima intermedia*, outra espécie da família Malpighiaceae encontrada no Cerrado, apresentou efeitos fitotóxicos sobre as espécies alvo tomate e cebola, sendo a atividade atribuída ao elevado conteúdo de compostos fenólicos (Amâncio et al., 2021). Outro estudo revelou que folhas e frutos de *Banisteriopsis oxyclada*, também Malpighiaceae, apresentaram efeitos fitotóxicos sobre ambas as espécies de plantas daninhas investigadas (Anese et al., 2016).

Pelo resultado obtido no presente estudo a *M. glabra* possui potencial fitotóxico para inibir o crescimento da *L. sativa*. Até o presente momento, não existem relatos de estudos sobre a presença de metabólitos secundários e potencial fitotóxico na espécie investigada. Desta forma, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que *M. glabra* se constitui um alvo interessante para o desenvolvimento de estudos fitoquímicos, visando selecionar compostos que possam ser bons candidatos para o desenvolvimento de futuros herbicidas naturais. A vantagem

dos compostos alelopáticos é que geralmente exibem bioatividade em baixas concentrações, são biodegradáveis, raramente contêm átomos halogenados e têm baixa ou nenhuma toxicidade sobre espécies não alvo (Oliveros, 2008), o que poderá contribuir para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável, que respeita o meio ambiente e valoriza a biodiversidade.

As alterações no índice mitótico são indicadores eficazes de poluição ambiental, especialmente na avaliação de substâncias com potencial citotóxico (Hoshina and Marin-Morales, 2009). As anormalidades cromossômicas, como pontes e quebras cromossômicas, são indicativas de ação clastogênica, enquanto a perda de cromossomos, aderências e C-metáfases resultam em efeitos aneugênicos (Pereira et al., 2014). A redução do índice mitótico observado pode ser devido à ação dos aleloquímicos presentes nos extratos de folhas da aceroleira sobre as células de *L. sativa*.

O fenômeno da inibição da divisão celular é um indicador dos efeitos da citotoxicidade. O índice mitótico é usado como um indicador da adequada proliferação celular (Pastori et al., 2015). Durante a divisão celular, a formação e a separação dos cromossomos são essenciais para garantir a replicação e distribuição correta do material genético nas células filhas. A interferência nos processos de formação do fuso mitótico ou na separação dos cromossomos pode levar a erros na divisão celular, resultando em células filhas com um número anormal de cromossomos ou alterações no material genético. Isso pode ter efeitos prejudiciais no desenvolvimento e na sobrevivência das células. Portanto, os aleloquímicos presentes nos extratos de folhas da aceroleira podem estar afetando diretamente o processo de divisão celular em *L. sativa*, levando a uma redução no índice mitótico observado no estudo.

A detecção e quantificação de anormalidades cromossômicas (AC) por análises citogenéticas têm sido amplamente utilizadas para avaliar o potencial mutagênico de amostras (Amâncio et al., 2021). As alterações cromossômicas frequentemente observadas incluem cromossomos quebrados, metástases, pontes, retardatários, células binucleadas e células micronucleadas (Tamie et al., 2005). No entanto, para este estudo, foi observada diferença significativa na ocorrência de anormalidades cromossômicas, indicando que os extratos podem causar tais anormalidades. *M. glabra* contém compostos que afetam o material genético das células, o que pode ter implicações em sua utilização na agricultura.

Esses resultados mostram que os extratos, tanto aquoso quanto ao hidroetanólico, podem ter efeitos inibitórios sobre o processo de mitose em concentrações mais elevadas, o que pode ter implicações para o seu uso. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar os efeitos dos extratos em outros sistemas biológicos e determinar sua toxicidade em outras doses de concentrações.

Conclusão

Os extratos foliares de *M. glabra* causa atraso na germinação de sementes em concentração próxima a 40 mg.mL⁻¹ e afeta o crescimento inicial de *L. sativa*, promovendo a diminuição da protrusão da radícula, efeito negativo no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular e também da parte aérea da planta, constatando assim o potencial efeito alelopático. Foi observado diferenças entre os extratos aquoso e hidroetanólico, indicando que pode haver uma influência do tipo de extrato e concentração no resultado final das análises.

Para avançar na área, é importante continuar os estudos testando o efeito alelopático da planta sobre outras espécies vegetais, especialmente plantas invasoras que representam um grande problema para a agricultura. Além disso, é importante identificar os compostos responsáveis pelo efeito alelopático, o que pode permitir o desenvolvimento de produtos mais específicos e eficazes.

Acknowledgments

The authors would like to thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Programa de pós-graduação em ciências ambientais, for their financial support and research scholarships.

Authorship contribution

GSV, DLLS, SB: Conceptualization; GSV, JVBC: Data Curation; GSV, DLLS, TMN: Formal Analysis; GAS, SB: Funding Acquisition; GSV, DLLS, TMN, JVBC, ARCN: Investigation; GSV, JVBC, GAS, SB: Project Administration; GAS, SB: Resources; GAS, SB: Supervision; GSV, DLLS, SB: Writing – Original Draft; GSV, JVBC, ARCN, GAS, SB: Writing – Review & Editing

Funding

This work was supported by CAPES [Funding Code 001]; CAPES/BRASIL PDPG No. 1026/2022; CAPES/BRASIL PDPG-POSDOC; No. 2930/2022, CAPES/BRASIL MEC/SESu/FNDE/ PET and FAPEMIG [APQ-01250-18].

Conflict of interest

All authors have no conflict of interest to declare

Referências

- Amâncio, B.C.S., Govêa, K.P., de Oliveira Ribeiro Trindade, L., da Cunha Neto, A.R., de Souza, T.C., Barbosa, S., 2020. Sandwich method applied to the screening of allelopathic action in *Byrsonima* spp. (Malpighiaceae). *Biologia (Bratisl)*. 75, 175–182. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00369-x>
- Amâncio, B.C.S., Govêa, K.P., Trindade, L. de O.R., da Cunha Neto, A.R., de Souza, T.C., Barbosa, S., Neto,

- A.R.C., Trindade, L. e O.R., de Souza, T.C., da Silva, G.A., Barbosa, S., 2021. Allelopathic activity of different *Byrsonima* spp. leaf extracts on *Lactuca sativa* L. bioassay. *Biologia (Bratisl)*. 76, 3201–3209. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00872-0>
- Anese, S., Grisi, P.U., Imatomi, M., Pereira, V.D.C., Juliano Gualtieri, S.C., 2016. Phytotoxicity of ethanolic extracts of fruits and leaves of *Banisteriopsis oxyclada* (A. Juss.) B. Gates on weeds growth. *Biotemas* 29, 1. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2016v29n1p1>
- Barros, V.M., Moreira, J. de J. da S., Leite Neta, M.T.S., Nunes, T.P., Vasvary, E.H.S.C., Narain, N., Wartha, E.R.S. de A., 2020. Reduction of antinutrients and maintenance of bioactive compounds in flour from agro-industrial residue of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). *Res. Soc. Dev.* 9, e980998054. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.8054>
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H., 2013. Germination, in: Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H. (Eds.), *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Springer, pp. 133–181. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Brasil, 2019. *Farmacopeia Brasileira*, 6th ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária SIA Trecho 5, Brasília.
- Brasil, 2009. *Regras para análise de sementes*, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria. Mapa/ACS, Brasília.*
- Calvelli, J.V.B., Betelli, V.M., Braga, D.V.B., Bastos, R.G., Cunha Neto, A.R., Vilegas, W., Silva, M.J.D., Silva, M.A. da, Silva, G.A. da, Barbosa, S., 2023. Phytochemical characterization and bioherbicide potential of *Duranta erecta* L. *Allelopathy J.* 60, 123–136. <https://doi.org/https://doi.org/10.26651/allelo.j/2023-60-2-1458>
- Cunha Neto, A.R. da, da Silva, I.G., Calvelli, J.V.B., Martins, G.E.C., Carvalho, M., Barbosa, S., 2023. Toxicity of Heavy Metals that Affect Germination, Development and Cell Cycle of *Allium cepa* L. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 111, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03775-9>
- De Conti, D.; Franco, E. T. H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris* sw. na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 17, n. 2-4, p. 193-203, abr./jun. 2011.
- Diógenes, F. E. P.; Oliveira, A. K.; Torres, S. B.; Maia, S. S. S.; Coelho, M. F. B. Atividade alelopática do extrato de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. - Rhamnaceae. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 9, n. 4, p. 1-4. 2014.
- El-Hawary, S.S., El-Fitiany, R.A., Mousa, O.M., Salama, A.A.A., El Gedaily, R.A., 2021. Metabolic profiling and in vivo hepatoprotective activity of *Malpighia glabra* L. leaves. *J. Food Biochem.* 45, 1–15. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13588>
- Ferreira, A.G., Aquila, M.E.A., 2000. Allelopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 12, 175–204.
- Ferreira, A.G., Borguetti, F., 2009. *Germinação: do básico ao aplicado*. Artmed.
- Ferreira, D.F., 2019. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Brazilian J. Biometrics* 37, 529–535. <https://doi.org/10.28951/RBB.V37I4.450>
- Ghimire, B.K., Hwang, M.H., Sacks, E.J., Yu, C.Y., Kim, S.H., Chung, I.M., 2020. Screening of allelochemicals in *miscanthus sacchariflorus* extracts and assessment of their effects on germination and seedling growth of common weeds. *Plants* 9, 1–24. <https://doi.org/10.3390/plants9101313>

- Hoshina, M.M., Marin-Morales, M.A., 2009. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 2090–2095. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.07.002>
- Hossen, K., Kato-Noguchi, H., 2020. Determination of allelopathic properties of *Acacia catechu* (L.f.) Willd. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 48, 2050–2059. <https://doi.org/10.15835/48412104>
- Hussain, M.I., El-Sheikh, M.A., Reigosa, M.J., 2020. Allelopathic potential of Aqueous extract from acacia melanoxylon r. Br. on lactuca sativa. *Plants* 9, 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants9091228>
- Iganci, J.R.V., Bobrowski, V.L., Heiden, G., Stein, V.C., Rocha, B.H.G., 2006. Effect of aqueous extracts of the “Boldo” species on the germination and mitotic index of *Allium cepa* L. *Arq. Inst. Biol. (Sao. Paulo)*. 73, 79–82. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v73p0792006>
- Leme, D.M., Marin-Morales, M.A., 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutat. Res. Mutat. Res.* 682, 71–81. <https://doi.org/10.1016/J.MRREV.2009.06.002>
- Maguire, J.D., 1962. Speed of Germination—Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor I. *Crop Sci.* 2, 176–177. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1962.0011183X000200020033X>
- Mezadri, T., Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., García-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M., 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *J. Food Compos. Anal.* 21, 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.02.002>
- Nasser, M. D., Bardivieso, E. M., Aguilar, A. S. & Zonta, A. (2020), Soil temperature and agronomic implications In two regions of the state of São Paulo, Brazil. *Scientia Agraria Paranaensis*, 19(1), 12-17.
- Nogueira, M.L., Campos, N.A., Dos Santos, S.C., Beijo, L.A., Barbosa, S., 2021. The species used in urban afforestation can present phytotoxicity—a case of study of schinus molle L. *Cienc. Florest.* 31, 66–84. <https://doi.org/10.5902/1980509820597>
- Oliveros, A., 2008. El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. *Rev. Química Viva* 7, 1–34.
- Pastori, T. b, Kuhn, A.W., Tedesco, M., Hoffmann, C.E., Neves, L.A.S., Canto-Dorow, T.S., Tedesco, S.B., 2015. Genotoxic and antiproliferative action of *Polygonum punctatum* Elliott (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]. *Rev. Bras. Plantas Med.* 17, 186–194. https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_023
- Pereira, T.S., De Sant’Anna, J.R., Silva, E.L., Pinheiro, A.L., De Castro-Prado, M.A.A., 2014. In vitro genotoxicity of *Melaleuca alternifolia* essential oil in human lymphocytes. *J. Ethnopharmacol.* 151, 852–857. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.045>
- Sangeetha, C., Baskar, P., 2015. Allelopathy in weed management: A critical review. *African J. Agric. Res.* 10, 1004–1015. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.8434>
- Santos, S.C. dos, De Oliveira, U.A., Trindade, L. de O.R., Assis, M.D.O., Campos, J.M.S., Salgado, E.G., Barbosa, S., 2017. Genotypes selection for plant bioassays using *Lactuca Sativa* L. and *Allium Cepa* L. *Pakistan J. Bot.* 49, 2201–2212.
- Shi, S., Cheng, J., Ahmad, N., Zhao, W., Tian, M., Yuan, Z., Li, C., Zhao, C., 2023. Effects of potential allelochemicals in a water extract of *Abutilon theophrasti* Medik. on germination and growth of *Glycine max* L., *Triticum aestivum* L., and *Zea mays* L. *J. Sci. Food Agric.* 103, 2155–2165.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.12315>
- Silva, E. dos S., Machado, M.A.B.L., Albuquerque, K.A.D., 2018. Efeito Alelopático de Extrato Aquoso de folhas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook F. Ex S. Moore Sobre a Germinação de Sementes de *Lactuca sativa* L. Edilma. Rev. Ouricuri 10–25.
- Silveira, P.F. da, Maia, S.S.S., Coelho, M. de F.B., 2012. Allelopathy Potential Of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. Aqueous Leaf Extract of *Lactuca sativa* L. Germanation Patrícia. Biosci. J. 28, 472–477.
- Simões, M.S., Madail, R.H., Barbosa, S., Nogueira, M. de L., 2013. Bioassay standardization for the detection of allelopathic compounds and environmental toxicants using lettuce. Biotemas 26, 29–36. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n3p29>
- Souza, V.C., Lorenzi, H., 2012. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Nova Odessa.
- Tamie, M.S., Rigonato, J., Mantovani, M.S., Marin-Morales, M.A., 2005. Evaluation of the genotoxic potential due to the action of an effluent contaminated with Chromium, by the Comet assay in CHO-K1 cultures. Caryologia 58, 40–46. <https://doi.org/10.1080/00087114.2005.10589430>
- Wang, C., Wu, B., Jiang, K., 2019. Allelopathic effects of Canada goldenrod leaf extracts on the seed germination and seedling growth of lettuce reinforced under salt stress. Ecotoxicology 28, 103–116. <https://doi.org/10.1007/S10646-018-2004-7/FIGURES/2>
- Weir, T.L., Park, S.W., Vivanco, J.M., 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. Curr. Opin. Plant Biol. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.05.007>
- Williamson, B.G., Richardson, D., 1988. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls. J. Chem. Ecol. 14, 181–187. <https://doi.org/10.1007/BF01022540>
- Yamashita, O. M., Kremer, T. M., Felito, F. A., Rocha, A. M., Cândido, A. C., Carvalho, M. A. C., Silva, I. V., 2022. A rusticidade do milho crioulo pode lhe proteger da influência alelopática de *Stachytarpheta cayennensis* (LC. Rich.) Vahl. Revista Thema. v.21, n.2, p.332-341. <http://dx.doi.org/10.15536/thema.V21.2022.332-341.2514>