

DIEGO MEDEIROS GINDRI

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM FUNÇÃO DA AÇÃO
ALELOPÁTICA DE *Lantana camara* L. NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
Bidens pilosa L. E *Avena sativa* L.**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Cileide Maria Medeiros Coelho

**LAGES, SC
2018**

Gindri, Diego Medeiros

Alterações fisiológicas e bioquímicas em função da ação alelopática de *Lantana camara* L. na germinação de sementes de *Bidens pilosa* L. e *Avena sativa* L. / Diego Medeiros Gindri. - Lages, 2018. 100 p.

Orientadora: Cileide Maria Medeiros Coelho

Bibliografia: p. 85-100

Tese (doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2018.

1. Sistema antioxidante. 2. Fisiologia de sementes. 3. Fitotoxicidade 4. Lantadene. I. Gindri, Diego Medeiros. II. Coelho, Cileide Maria Medeiros. III. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. IV. Título

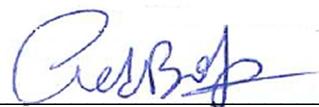
DIEGO MEDEIROS GINDRI

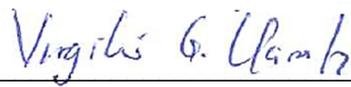
**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM FUNÇÃO DA AÇÃO
ALELOPÁTICA DE *Lantana camara* L. NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
Bidens pilosa L. E *Avena sativa* L.**

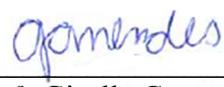
Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

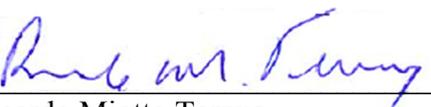
Banca Examinadora:

Orientador: 
Prof. Dr^a. Cileide Maria Medeiros Coelho
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: 
Prof. Dr. Pedro Boff
Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

Membro: 
Dr. Virgílio Gavicho Uarrota
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: 
Prof. Dr^a. Giselle Camargo Mendes
Instituto Federal Catarinense

Membro: 
Dr. Ricardo Miotto Ternus
Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina

**Lages, Santa Catarina
19 de fevereiro de 2018**

Dedico a minha esposa Lidiane e ao meu filho João Felipe pelo incentivo, apoio e paciência durante todo o curso.

AGRADECIMENTOS

Neste momento agradeço a Deus pela vida e no receio de esquecer de nominar alguém, agradeço a todos que contribuíram para a realização do meu doutorado. Familiares, amigos, professores, orientadores, colegas de trabalho e de estudo, saibam que sua ajuda me fez feliz e por isso tenho muito carinho por todos e serei eternamente grato.

Muito obrigado!!

“ Uma geração vai, e outra geração vem; porem a terra para sempre permanece. E nasce o sol, e põe-se o sol, e volta ao seu lugar donde nasceu. O vento vai para o sul, e faz seu giro para o norte; continuamente vai girando o vento, e volta fazendo seus circuitos”

ECLESIASTES I, 4-6

RESUMO

GINDRI, Diego Medeiros. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em função da ação alelopática de *Lantana camara* L. na germinação de sementes de *Bidens pilosa* L. e *Avena sativa* L.** 2018, 101 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal - Áreas: fisiologia e manejo de plantas) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Lages. 2018.

A exploração da bioatividade da planta *Lantana camara* pode levar ao desenvolvimento de novos produtos de controle biológico tornando-se uma alternativa para o manejo integrado e sustentável. O objetivo do estudo foi investigar o efeito fitotóxico de *L. camara* em processos fisiológicos e bioquímicos na germinação de sementes de *Bidens pilosa* e *Avena sativa*. Foram avaliados o percentual e a velocidade de germinação, o desempenho de plântulas, estruturas das plântulas, a integridade de membranas, atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase, o teor de prolina, fenólicos, malondialdeído e peróxido de hidrogênio, bem como os metabolitos aleloquímicos presentes no extrato. As fitotoxinas causaram elevação na concentração de H₂O₂, nos teores de prolina, fenólicos e MDA, e alterações na atividade das enzimas antioxidantes em *A. sativa*. Os resultados demonstram que, apesar da ativação do sistema antioxidante pelas fitotoxinas, a acumulação de espécies reativas de oxigênio causaram danos celulares, resultando na redução da velocidade de germinação e crescimento das plântulas, anormalidades no geotropismo e desenvolvimento radicular. A fase III da germinação foi mais sensível aos efeitos alelopáticos do extrato em relação as fases I e II. Lantadene A e D foram identificados como possíveis compostos responsáveis pelos efeitos fitotóxicos.

Palavras-chave: Sistema antioxidante. Fisiologia de sementes. Fitotoxicidade. Lantadene.

ABSTRACT

GINDRI, Diego Medeiros. **Physiological and biochemical changes in the function of the allelopathic action of *Lantana camara* L. on germination of *Bidens pilosa* L. e *Avena sativa* L.** 2018, 101 p. Thesis (Doctor in Plant Production - Research area: Physiology and plant management) – Santa Catarina State University. Post Graduate Program in Plant Production. Lages, 2018.

Exploration of the bioactivity of the *Lantana camara* plant can lead to the development of new biological control products making it an alternative for integrated and sustainable management. The objective of the study was to investigate the phytotoxic effect of *L. camara* on physiological and biochemical processes in the germination of *B. pilosa* and *A. sativa* seeds. The percentage and the germination speed, seedling performance, seedling structure, membrane integrity, activity of catalase and ascorbate peroxidase enzymes, proline, phenolic, malondialdehyde and hydrogen peroxide content were evaluated, as well as the profile of the allelochemicals present in the extract. Phytotoxins caused an increase in H₂O₂ concentration, in proline, phenolic and MDA contents, and alterations in the activity of antioxidant enzymes in *A. sativa*. The results demonstrate that, despite the activation of the antioxidant system by phytotoxins, the accumulation of reactive oxygen species caused cell damage, resulting in reduced germination speed and seedling growth, abnormalities in geotropism and root development. Phase III germination was more sensitive to the allelopathic effects of the extract in relation to phases I and II. Lantadene A and D were identified as possible compounds responsible for phytotoxic effects.

Key-words: Antioxidant system. Physiology of seeds. Phytotoxicity. Lantadene.

LISTA DE ABREVIACES

ABA	cido abscsico
AIA	cido indolactico
ALS	Acetolactato sintase
APX	Ascorbato peroxidase
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CE	Condutividade elétrica
DNA	cido desoxirribonucleico
EDTA	cido etilenodiamino tetra-acético
FSII	Fotossistema II
FT-IR	Espectroscopia de infravermelho de transformao de fourier
GA	cido giberélico
GAE	Equivalente cido gálico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HPLC-MS	Cromatografia Líquida de alta aficincia acoplada à Espectrometria de Massas
IVG	ndice de velocidade de germinao
LAG	Sementes de <i>Bidens pilosa</i> coletadas em Lages/ SC
MDA	Malondialdeído
MPa	Megapascal
MPs	Metabólitos primários
MSs	Matablitos secundários
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial hidrogeniônico
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidone
QE	Equivalente quercetina
RNA	cido ribonucleico
RNA _m	ácido ribonucleico mensageiro
RNA _t	ácido ribonucleico transportador
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SMA	Sementes de <i>Bidens pilosa</i> coletadas em Santa Maria/ RS
SOD	Superóxido dismutase
TBA	cido tiobarbitúrico
TCA	cido tricloroacético
UV/VIS	Ultra violeta/ Visível

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Visão simplificada das principais rotas de biossíntese de metabolitos secundários e suas inter-relações com o metabolismo primário. 36
- Figura 2 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no percentual de plântulas normais a), plântulas anormais b) e sementes mortas c) das populações LAG e SMA de *B. pilosa* submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação 55
- Figura 3 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no IVG de sementes de *B. pilosa*. 56
- Figura 4 - Efeito das concentrações 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0 % (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no crescimento do hipocótilo (H) e raízes (R) de plântulas de *B. pilosa*, avaliadas aos 7 dias após germinação e submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação 58
- Figura 5 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no teste de condutividade elétrica de sementes das populações LAG e SMA de *B. pilosa*. 60
- Figura 6 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no percentual de plântulas com raízes secundárias de *B. pilosa*. 61
- Figura 7 - Plântulas de *B. pilosa* submetidas ao controle a) e ao extrato aquoso de folhas de *L. camara* b). Presença de raízes secundária a) e de raízes retorcidas b). Hipocótilo vermelho a) e descolorido b). 62
- Figura 8 - Embebição das sementes de *A. sativa* submetidas as concentrações de 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara*. 63
- Figura 9 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no percentual de plântulas normais a), anormais b) e sementes mortas c), de sementes de *A. sativa*. 64
- Figura 10 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no IVG de sementes de *A. sativa*. 65
- Figura 11 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* na inibição de crescimento do epicótilo (E) e raízes (R) de plântulas de *A. sativa*, submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação. 67
- Figura 12 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* (v/v) no teste de condutividade elétrica de sementes de *A. sativa*. 68
- Figura 13 - Teores de malondialdeído (MDA) ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ massa fresca) em sementes de *A. sativa* submetidas ao extrato de *L. camara*. 69

Figura 14 - Teores de H ₂ O ₂ (nmol.g ⁻¹ de massa fresca) em sementes de <i>A. sativa</i> submetidas ao extrato de <i>L. camara</i>	71
Figura 15 - Atividade de Catalase (CAT) (μmol.min ⁻¹ .mg prot ⁻¹) a) e Ascorbato peroxidase (APX) (μmol.min ⁻¹ .mg prot ⁻¹) b) em sementes de <i>A. sativa</i> submetidas ao extrato de <i>L. camara</i>	73
Figura 16 - Teores de Prolina (μmol.g ⁻¹ massa fresca) a) e Fenólicos (mg GAE.g ⁻¹) b) em sementes de <i>A. sativa</i> submetidas ao extrato de <i>L. camara</i>	74
Figura 17 - Plântulas de <i>A. sativa</i> no tratamento controle a) e submetidas ao extrato aquoso de folhas de <i>L. camara</i> 5% (v/v) b).....	75
Figura 18 - Espectros eletrônicos de absorção no UV-Vis (200-500 nm) do extrato aquoso de folhas de <i>L. camara</i> 10% (v/v).....	76
Figura 19 - Espectros de absorção FT-IR de folhas a) e extrato aquoso 10% (v/v) b) de <i>L. camara</i>	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Constituintes químicos metabolitos de <i>Lantana camara</i>	38
Tabela 2 - Comparativo do efeito das soluções controle, polietilenoglicol e extrato aquoso de folhas de <i>L. camara</i> na germinação, IVG e comprimento de plântulas de <i>B. pilosa</i>	53
Tabela 3 - Indicação de compostos através da massa molecular detectada na análise do extrato hidroalcoólico das folhas de <i>L. camara</i> , empregando espectrometria de massa in tandem QToF, modo scan e ionização negativa e positiva.....	80

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	27
2.1	ALELOPATIA DE PLANTAS	27
2.1.1	Mecanismos e modo de ação dos aleloquímicos	28
2.1.2	Avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório	32
2.2	CARACTERIZAÇÃO DE <i>Lantana camara</i> L. (VERBENACEAE).....	34
2.2.1	Botânica <i>L. camara</i>	34
2.2.2	Metabólitos secundários de <i>L. camara</i>	35
2.2.3	Estudos farmacognósticos de <i>L. camara</i>	41
2.3	ESPÉCIES ALVO	43
2.4	FATORES QUE INTERFEREM NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES	44
3	MATERIAIS E MÉTODOS	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	<i>Bidens pilosa</i> L. (PICÃO PRETO)	53
4.2	<i>Avena sativa</i> L. (AVEIA BRANCA)	62
4.3	PERFÍL FITOQUÍMICO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>L. camara</i>	75
5	CONCLUSÕES	81
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
	REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

A alelopatia pode oferecer excelente oportunidade para incrementar pesquisas com novas entidades químicas com propriedades herbicidas destacadas e menores impactos sobre o ambiente e o ser humano do que os compostos sintéticos de uso corrente na agricultura (REIGOSA et al., 2013). Aleloquímicos na sua maioria são metabolitos secundários, liberados para o ambiente como exsudatos, voláteis e ou resíduos da decomposição do tecido vegetal.

Kohli et al. (1997) sugerem três propostas pelas quais a alelopatia poderia ser manipulada no manejo de plantas daninhas: transferência de genes responsáveis pela síntese de aleloquímicos entre as culturas; uso de rotação de culturas, combinando culturas sucessoras capazes de reduzir a população de plantas daninhas por meio do seu potencial alelopático e; uso de aleloquímicos obtidos das plantas como herbicidas, sendo um método seguro e efetivo uma vez que são produtos naturais biodegradáveis e não persistem no solo como poluentes.

A espécie de planta *Lantana camara*, é um arbusto aromático perene da família Verbenaceae, considerada mundialmente uma das principais plantas exóticas invasoras (CHENGXU et al., 2011). Atualmente a alelopatia é considerada, o fator mais importante no sucesso da invasão e propagação de plantas exóticas, o que sugere a possibilidade de estudos da fitotoxidez de seus extratos como subsídio para o desenvolvimento de um herbicida natural.

Os fitoquímicos isolados a partir de extratos de *L. camara* já demonstram apresentar atividade contra outras espécies de plantas (GORLA; PEREZ, 1997; HOSSAIN; ALAM, 2010; HUSSAIN et al., 2011; KENANY; DARIER, 2013; MAITI et al., 2010; MANOHAR et al., 2017; MISHRA; SINGH, 2010; VERDEGUER M. et al., 2009).

A fitotoxidez proporcionada por compostos alelopáticos pode resultar na inibição da germinação, redução da velocidade de germinação e do crescimento inicial das plântulas em resposta ao dano celular ocasionado por alterações na permeabilidade e seletividade de membranas celulares ou por modificações em nível hormonal e fotossintético (ABU-ROMMAN et al., 2010; HUSSAIN; REIGOSA, 2011). Tais processos constituem resultados da ação dos aleloquímicos, que atuam diretamente, ou na sinalização de processos de degradação celular, por meio da produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em estresse oxidativo celular (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007; QIAN et al., 2009).

Estudos relacionando atividade enzimática, conteúdo de radicais livres, integridade do sistema de membranas celulares e de outros testes empregados rotineiramente para a avaliação do vigor e germinação de sementes, constituem importante ferramenta na elucidação dos

mecanismos de ação e resposta dos compostos alelopáticos sobre a planta. Esses estudos conduzidos durante as fases da germinação permitem comparar os resultados com os processos fisiológicos já descritos para cada momento da germinação.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de *L. camara* sobre o desempenho germinativo e o metabolismo antioxidante durante a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas de *B. pilosa* e *A. sativa*, e identificar os compostos fitotóxicos envolvidos no efeito alelopático.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ALELOPATIA DE PLANTAS

Nas comunidades vegetais as plantas podem interagir de maneira positiva, negativa ou neutra. Às interações que se desencadeiam entre organismos vizinhos denominou-se de interferência (MULLER, 1969). Segundo Ferreira (2004) a interferência pode ser causada por competição (fatores abióticos) e alelopatia (fatores químicos produzidos por outro indivíduo).

A alelopatia é diferenciada da competição fundamentalmente porque se refere a liberação no ambiente de substâncias químicas no meio e, portanto, também é referida como “guerra química”. O termo alelopatia foi usado primeiramente por Hans Molisch (MOLISCH, 1937), para descrever tanto as interações químicas prejudiciais quanto as benéficas de plantas e microorganismos.

Segundo Rice (1984) a alelopatia é um tipo de interação planta a planta, incluindo também microorganismos, que podem resultar em efeitos inibitórios ou estimulatórios. Ferreira (2004) considera alelopatia a influência negativa ou positiva que metabólitos secundários produzidos por uma planta liberados no ambiente tem sobre o crescimento de outras plantas.

Os compostos químicos responsáveis pela alelopatia são denominados aleloquímicos, e cada espécie pode produzir um conjunto diferente de aleloquímicos, com ação sobre os componentes da comunidade em que está inserida.

Um exemplo do processo adaptativo planta-planta e de como os químicos de produtos naturais com suas pesquisas podem trazer grandes benefícios para a humanidade relaciona-se com a erva *Striga asiatica*, uma das mais devastadoras pragas das culturas cerealíferas no mundo. *Striga asiatica* possui um verdadeiro radar químico e só germina, podendo permanecer latente no solo por muito tempo, quando a planta hospedeiro libera estrigol. No momento da liberação, a parasita agarra-se às raízes do hospedeiro e dela se alimenta. Graças às pesquisas que desvendaram os mecanismos de interação parasita-hospedeiro e que determinaram as estruturas químicas dos metabólitos secundários que estão envolvidos nessa interação, os agricultores antes de semear os cereais lançam no solo estrigol ou seus derivados sintéticos que induzem a germinação das sementes da erva parasita. O ciclo de crescimento de *Striga asiatica* é de 4 dias, que morrerá, após germinar, sem nunca ter encontrado seu hospedeiro (PINTO et al., 2002).

A aplicação em pós-emergência de extratos aquosos das partes aéreas de plantas com potencial alelopático é uma estratégia alternativa de controle de plantas daninhas em alguns

países. No Paquistão, por exemplo, é utilizado o “sorgaab”, um extrato aquoso da parte aérea de plantas de sorgo maduras a 10%, que é deixado fermentar por várias semanas até a aplicação em pós-emergência das plantas daninhas (CHEEMA; KHALIQ, 2000). No entanto, como os níveis de controle obtidos são variáveis de acordo com a espécie daninha, estuda-se a possibilidade de sua utilização associada a baixas doses de herbicida (CHEEMA; KHALIQ, 2002).

Para algumas espécies, é possível identificar uma substância principal, responsável pela maior parte dos efeitos alelopáticos, como ocorre com a exsudação de sorgoleone por raízes de sorgo ou de juglona pelas plantas de noqueira. No entanto, muitas vezes a alelopatia é o resultado da liberação de diversos aleloquímicos em conjunto, que estão presentes em baixas concentrações. No caso do arroz, por exemplo, oziralexinas, flavonas, diterpenóides, glicosídeos de dois benzoxazinóides, cicloexenona e estigmastanóis estão envolvidas no processo alelopático (KHANH et al., 2007).

O isolamento de substâncias com elevada atividade alelopática oportuniza o desenvolvimento de biopraguicidas. Essa alternativa é fundamental na prevenção e combate aos problemas de resistência de plantas daninhas, insetos e microrganismos a agrotóxicos sintéticos (TREZZI, 2014).

2.1.1 Mecanismos e modo de ação dos aleloquímicos

A elucidação dos mecanismos e do modo pelos quais os aleloquímicos modificam o crescimento e o desenvolvimento das plantas tem sido, para os pesquisadores, um contínuo desafio.

Uma maneira de se avaliar o modo de ação de um aleloquímico específico, seria por meio do monitoramento do efeito deste produto sobre as principais funções das plantas. As pesquisas neste sentido tem permitido concluir que os aleloquímicos interferem com muitos dos processos metabólicos primários e no sistema de crescimento das plantas. Os aleloquímicos afetam muitos processos celulares em espécies de plantas alvo, incluindo a interrupção da permeabilidade da membrana, a absorção de íons (LEHMAN; BLUM, 1999), a inibição do transporte de elétrons tanto na fotossíntese quanto na cadeia respiratória (ABARAHIM et al., 2000; CALERA et al., 1995; PEÑUELAS et al., 1996), causam danos ao DNA e à proteínas, alterações de algumas atividades enzimáticas (ANAYA; PELAY-BENAVIDES, 1997; CRUZ-ORTEGA et al., 1998) e, finalmente, levam à morte celular programada (DING et al., 2007).

Tais processos constituem resultados da ação dos aleloquímicos, que atuam diretamente, ou na sinalização de processos de degradação celular, por meio da produção e acúmulo de ROS, resultando em estresse oxidativo celular (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007; QIAN et al., 2009).

A divisão e o alongamento celular são fases essenciais do crescimento e desenvolvimento das plantas e geralmente os inibidores de crescimento podem modificar estes eventos. A fitotoxicidade de alguns aleloquímicos é atribuída à sua capacidade de interromper processos metabólicos normais na planta. A interrupção do metabolismo de aminoácidos é um mecanismo importante para herbicidas comerciais, como derivados de glifosato e sulfonilureia, e pode ser um modo de ação importante para alguns produtos químicos aloativos. Por exemplo, a propriedade fito-inibidora de L-canavanina, um análogo de L-arginina encontrado em *Canavalia ensiformis*, provavelmente deve-se à sua capacidade de bloquear o metabolismo da L-arginina, levando a uma deficiência em compostos que são derivados da L-arginina (NAKAGIMA et al., 2001).

Vários compostos fenólicos modificam a biossíntese dos principais constituintes das plantas e a distribuição de carbono nas células. Van Sumere et al. (1972) verificaram que coumarina, grupos dos ácidos cinâmico e benzóico, além dos aldeídos, inibiram a absorção e incorporação de ¹⁴C-fenilalanina pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Testes adicionais com coumarina e ácido ferúlico mostraram que esses eventos também foram suprimidos em sementes de alface (*Lactuca sativa*) e embriões de cevada (*Hordeum vulgare*). De acordo com Einhellig (1986) a inibição da síntese de proteínas pelos ácidos cinâmico e ferúlico foi um indicador seguro da ação desses ácidos sobre o crescimento das plantas de alface.

Segundo Einhellig (1986), existem evidências que um dos mecanismos de ação dos aleloquímicos fenólicos é a alteração no nível do ácido indolacético (AIA), embora outras substâncias como a escopoletina e os ácidos clorogênico, cinâmico e benzóico inibam ou estimulem o nível de AIA. Com base em alguns estudos, Lee et al. (1982) concluíram que os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: supressores da destruição do AIA como os ácidos clorogênico, caféico e ferúlico e estimulantes da AIA oxidase, como os ácidos p-cumárico, p-hidroxibenxóico e vanílico. Alguns polifenóis reduzem o crescimento das plantas por ligarem-se ao ácido giberélico (GA), enquanto outros promovem o crescimento por ligarem-se ao ácido abscísico (ABA). Em bioensaio com ervilha e pepino, o tanino inibiu o crescimento das plantas induzido pelo GA (CORCORAN et al., 1972).

Os compostos fenólicos interferem na atividade da AIA oxidase e amilase, assim como outros aleloquímicos alteram a síntese e função de muitas enzimas. Em várias situações os

aleloquímicos têm inibido proteinases e enzimas pectolíticas, catalases, peroxidases, fosforilases, celulasas e outras (RICE, 1984).

Alguns aleloquímicos, como por exemplo os monoterpenos, são capazes de alterar a taxa respiratória de algumas plantas. Einhellig (1986) supõe que estas substâncias são tóxicas, pois em testes de laboratório com trigo (*Triticum aestivum*), alguns dos monoterpenos aumentaram e outros diminuíram a respiração das plantas.

Uma ampla série de compostos como as quinonas, os flavonoides e o ácido fenólico interferem com as funções mitocondriais. Stenlid (1970) verificou que os flavonoides interferem com a produção de adenosina trifosfato (ATP), enquanto as quinonas inibem a absorção de O₂ embora esta última em nível reduzido possa estimular o processo respiratório. Outras pesquisas mostram que os ácidos ρ -cumárico, cinâmico e 2-metilnaftoquinona reduzem a razão ATP/O em suspensão mitocondrial de levedura, indicando que houve inibição da fosforilação oxidativa (PUTNAM, 1987).

Einhellig (1986) estudou o efeito do aleloquímico escopoletina na taxa fotossintética líquida de várias espécies de plantas cultivadas em solução nutritiva. Verificou que a adição de 500 ou 1000 μ M de escopoletina no meio de cultivo de tabaco (*Nicotiana tabacum*) reduziu a taxa fotossintética líquida a partir do segundo dia e está continuou a declinar por mais dois dias, ocorrendo uma lenta recuperação, após este período. Verificou também que a respiração não foi alterada e que a expansão da área foliar foi reduzida paralelamente à fotossíntese. Este aleloquímico também reduziu a taxa fotossintética do girassol (*Helianthus annuus*) e do caruru (*Amaranthus retroflexus*), portanto, com impacto sobre espécies, C3 e C4. Estudos mais recentes mostram que o sorgoleone, substância exsudada das raízes de sorgo, causa inibição da fotossíntese. Segundo Gonzalez et al. (1997) o sorgoleone provou ser um potente inibidor do transporte de elétrons no fotossistema II (FSII) em cloroplastos isolados e na membrana do FSII. Neste estudo o sorgoleone exibiu maior atividade específica do que o diuron, um dos herbicidas inibidores da fotossíntese mais conhecidos.

Einhellig (1986) verificou que a adição de 500 à 1000 μ M de escopoletina e ácido clorogênico provocou o fechamento estomático em tabaco e girassol, com boa correlação entre o efeito da escopoletina na abertura estomática e taxa fotossintética.

Nos estudos com aleloquímicos, a clorose tem sido relacionada como um dos sintomas da interferência destas substâncias sobre as plantas. Einhellig (1986) verificou que seis dias após o tratamento de plantas de soja com ácidos ferúlico, ρ -cumárico e vanílico, as plantas apresentavam menor peso seco e menos clorofila na folha do que as plantas do tratamento controle. Em contraste, plântulas de sorgo não apresentaram redução no conteúdo de clorofila

nas folhas, apesar do crescimento das plântulas ter sido inibido. No caso da soja, o autor pressupõe que a redução da clorofila pode ter sido devida a um aumento na sua degradação ou a inibição da síntese de Mg-porfirina pelos aleloquímicos. Inderjit (1996) observou que compostos solúveis da planta daninha *Pluchea lanceolata* influenciou o conteúdo de clorofila e a taxa fotossintética líquida das folhas de aspargo (*Asparagus officinalis*) sob condições de casa de vegetação.

Monitoramento da absorção de nutrientes por cortes de raízes tem mostrado que os ácidos benzóico e cinâmico, as hidroquinonas, juglona, naringenina e floretina são substâncias que interferem com o processo de absorção. Harper e Balke (1981) mostraram que com a redução do potencial hidrogeniônico (pH) do meio de 6,5 para 4,5, o ácido salicílico causou grande inibição na absorção de K⁺ pelas raízes de aveia.

Os aleloquímicos interferem com a absorção de nutrientes, provavelmente devido a um efeito na membrana celular, como por exemplo, alterando a sua seletividade. Glass e Dunlop (1974) verificaram que a membrana das células de raiz de cevada foi rapidamente despolarizada pela adição de 500 µM do ácido salicílico em meio tampão (pH 7,2). O potencial mudou de -150 mV para próximo de zero em 12 minutos. Ácidos benzóico e cinâmico testados a 250 µM, também causaram despolarização. Igualmente, níveis micro molares dos ácidos benzóico e butírico causaram despolarização da membrana da célula de coleóptilo de aveia (BATES; GOLDSMITH, 1983). Explicação plausível para o decréscimo observado no potencial da membrana inclui a inibição da ATPase, a qual produz a diferença de potencial e a redução na energia disponível para seu funcionamento.

Glass e Dunlop (1974) avaliaram o efeito de ácidos fenólicos em células de raízes de cevada e sugeriram que estes compostos causaram aumentos na permeabilidade da membrana para cátions e ânions, admitindo um efluxo não específico de íons.

De acordo com Einhellig (1986), os ácidos p-cumárico e ferúlico reduzem o potencial de água das folhas de sorgo e de plântulas de soja, sendo a diferença resultante da redução do potencial osmótico e pressão de turgor das células.

Aleloquímicos que reduzem o crescimento de plantas podem também ter parte dos seus efeitos relacionados com a interrupção do fluxo normal de água na planta. Segundo Rice (1984), os aleloquímicos podem interferir com o fluxo no xilema, pelo entupimento dos vasos, sugerindo assim, que parece provável uma interdependência entre o balanço hídrico e efeitos dos aleloquímicos.

As interferências atribuídas ao fator alelopatia são o resultado não só da ação de um único, mas de diferentes aleloquímicos, que são liberados para o ambiente em

concentrações, quantidades e épocas distintas. Considerando essas especificidades, pode-se assumir que a atividade biológica de uma dada mistura de aleloquímicos será determinada não apenas pela concentração de cada componente da mistura, como também pela interação, sinérgica ou antagônica, entre eles (SOUZA FILHO et al., 2010).

2.1.2 Avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório

A influência dos fatores bióticos e abióticos sobre a concentração de aleloquímicos nas plantas deve ser levada em consideração durante o processo de elaboração dos extratos. Os extratos podem ser feitos com material vegetal fresco ou seco, colhidos em distintos estádios fenológicos (vegetativo ou florescimento) e ainda utilizando-se de distintos meios extrativos como água e solventes (SOUZA FILHO et al., 2010). Outro aspecto importante é a parte da planta utilizada para a análise da atividade alelopática dos extratos brutos, observa-se predominância das folhas como meio preferencial de estudos para indicação do potencial da planta estudada como fonte de compostos químicos promissores para o desenvolvimento de estudos mais avançados, porém informações sobre outras frações da planta, como raízes, colmos, flores, pólen e sementes, também são encontradas. Aleloquímicos presentes na casca e outros tecidos das sementes desempenham a função de impedir ação microbiana, garantindo a viabilidade das sementes por um longo período o que as torna promissoras na investigação do potencial alelopático (SOUZA FILHO et al., 2011).

O tipo de extração, o volume de solução, o substrato, o potencial osmótico da solução, a espécie alvo e os parâmetros de avaliação também são pontos importantes que devem ser bem planejados e controlados na caracterização do efeito alelopático em condições de laboratório.

A avaliação de extratos brutos é um dos procedimentos mais empregados em fase inicial de prospecção de atividade alelopática de determinada planta. Os trabalhos envolvendo extratos brutos, em geral, utilizam extratos de alta polaridade, como os extratos aquosos, hidroalcoólicos ou mesmo metanólicos. A hipótese destes trabalhos é que os compostos químicos de alta polaridade possuem, também, alta atividade alelopática, porém as plantas produzem também aleloquímicos de baixa polaridade, como os monoterpenos, monoterpenos oxigenados, diterpenos e outros, os quais são obtidos nos óleos essenciais. Os compostos fenólicos possuem alta atividade alelopática e são de alta polaridade, com alguns deles solúveis em água (SOUZA FILHO et al., 2010).

De acordo com a teoria “semelhante dissolve semelhante”, os solventes polares são capazes de solubilizar os solutos também polares, assim como os apolares solubilizam solutos

também apolares. Alguns dos solventes polares mais conhecidos são a água (solvente universal), o etanol e o ácido acético. Entretanto, o etanol é muitas vezes considerado bipolar por dissolver com facilidade substâncias orgânicas apolares. Como solventes apolares temos o hexano, o benzeno e o clorofórmio.

Como forma de avaliação das frações polares e apolares dos metabolitos alelopáticos a água (fração polar) e a hidrodestilação para extração dos óleos essenciais (fração apolar) apresentação como alternativa de fácil utilização nas pesquisas.

A redução do potencial hídrico durante a germinação de sementes pode resultar em menores índices de germinação ou até mesmo sua inibição (CARDOSO, 2004). O potencial osmótico da solução-teste pode levar a superestimação dos efeitos alelopáticos, em determinados casos, ou ainda induzir a existência de alelopatia em casos onde não exista. Em geral, nos bioensaios, a água destilada é empregada como controle, sendo as diferenças observadas entre as duas condições (extrato/substância e água destilada) atribuídas aos efeitos alelopáticos. O potencial osmótico de uma dada solução é proporcional sua concentração. Dessa forma, quanto maior a concentração-teste, maiores devem ser os cuidados no sentido de isolar os efeitos osmóticos (SOUZA FILHO et al., 2010).

Em plena disponibilidade de água, a embebição das sementes apresenta, em muitos casos, uma curva trifásica, onde na fase I, o teor de água na semente aumenta rapidamente, seguido de uma estabilização na fase II, mantida até o início da germinação visível (protrusão da radícula), que dá início a fase III, havendo outro aumento no teor de água, em decorrência do crescimento do embrião. A verificação da curva de embebição das sementes submetidas ao extrato e a água podem indicar se a concentração do extrato afetou o padrão de embebição das sementes e por conseguinte mascarando o efeito alelopático. Soluções de polietilenglicol (PEG) podem simular potenciais osmóticos negativos e podem ser utilizadas como controle para os ensaios de atividade alelopática de extratos.

A água é o principal fator para o início da germinação, devendo a semente atingir determinado conteúdo de água para poder germinar (CARDOSO, 2004). O volume de solução a ser adicionado em cada bioensaio deve levar em conta o tamanho das caixas, evitando gerar condições anaeróbicas, entretanto sendo suficiente para produzir a turgescência das sementes nas 24 horas subsequentes (SOUZA FILHO et al., 2010).

Para ensaios de caracterização de efeito alelopático, o uso de sementes de espécies cultivadas, de boa qualidade, é aconselhável (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Entretanto sementes das plantas daninhas também podem ser utilizadas, desde que os mecanismos de

dormência presente em muitas destas espécies, sejam verificados e manipulados, de modo que forneçam percentuais de germinação superiores a 80% (SOUZA FILHO et al., 2010).

Os parâmetros mais utilizados para caracterização da atividade alelopática em plantas são a germinação, velocidade de germinação, e o desempenho das plântulas. Souza Filho (2010) observa que a redução no IVG causado pelo extrato pode superestimar os efeitos causados no desenvolvimento das plântulas, recomendando que ambos sejam realizados separadamente. Outras avaliações como a atividade de enzimas antioxidantes e a presença de radicais livres também são encontrados em trabalhos, porem com pequena frequência.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DE *Lantana camara* L. (VERBENACEAE)

2.2.1 Botânica *L. camara*

Reino:	Plantae (Plantas);
Sub-Reino:	Tracheobionta (Plantas vasculares);
Super-divisão:	Spermatophyta (Plantas de sementes);
Divisão:	Magnoliophyta (Plantas de floração);
Classe:	Magnoliopsida (Dicotiledônea);
Subclasse:	Asteridae;
Ordem:	Lamiales;
Famila:	Verbenaceae;
Gênero:	<i>Lantana</i> ;
	Espécie: <i>Lantana camara</i> L.

A família Verbenaceae compreende 100 gêneros distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (JOLY, 2002). O gênero *Lantana* L. apresenta 80 espécies distribuídas pela América Tropical e Subtropical com alguns representantes na África e Ásia.

L. camara é arbusto muito ramificado de 2 a 4 metros de altura. As hastes são lenhosas quadradas em seção transversal mas tornam-se cilíndricas com até 150 mm de espessura com a idade. As folhas têm 2 a 10 cm de comprimento com bordas dentadas, coloração verde brilhante na superfície superior e verde mais pálido na inferior. Crescem opostas umas às outras ao longo das hastes, são ásperas e com cheiro aromático quando maceradas. Possui sistema radicular forte com raiz principal e muitas raízes laterais rasas. As flores crescem nas axilas perto do caule. Possuem várias cores. As inflorescências são aglomerados de 20 a 40 flores individuais

com cerca de 2,5 cm de diâmetro. Os frutos são pequenos de coloração preto esverdeado. A espécie propaga-se por sementes e estaquia. Flore-se o ano todo.

Lantana camara L. (cambará, cambará-de-espinho, chumbinho, erva-chumbinho, cambará-de-duas-cores, cambará-juba, cambará-de-cheiro, cambará-de-chumbo, lantana, lantana-espinhosa, camará, camará-miúdo, camará-de-espinho, camará-de-chumbo, capitão-do-campo, bem-mequer e mal-me-quer), é uma planta subarborescente perene, nativa da América Tropical e bastante frequente em quase todo o território brasileiro, onde infesta principalmente pastagens e terrenos baldios (LORENZI, 2014). *L. camara* cresce bem em áreas mais quentes do mundo, particularmente as áreas temperadas, subtropicais e tropicais. Ocorre em diversos habitats e em vários tipos de solo. Geralmente cresce melhor em áreas abertas sem sombras, bordas de floresta, costas de praias, áreas perturbadas, beira de estradas e vias férreas. *L. camara* cresce melhor em condições de chuva constante ou umidade do solo, particularmente em áreas que recebem mais de 900 mm de chuva.

As plantas exóticas invasoras tornaram-se uma séria ameaça para a biodiversidade vegetal em muitas partes do mundo. *L. camara* foi introduzida como ornamental em vários países tornando-se uma das plantas daninhas mais nocivas do mundo (CHENGXU et al., 2011; DAY et al., 2003). *L. camara* também tem sido relatada na intoxicação de gado, búfalo, ovelha, cabra, cavalos, cães, e cangurus vermelhos cativos (MISHRA, 2015).

A planta possui diversas variedades estéreis, algumas sexo feminino estéril que produzem sementes, mas muito pouco são viáveis e algumas sexo masculino estéril onde 10% ou menos do pólen é viável. Alguns são macho e fêmea estéril. Essa característica pode ser útil no cultivo da planta para preparo do biocontrole, evitando sua dispersão.

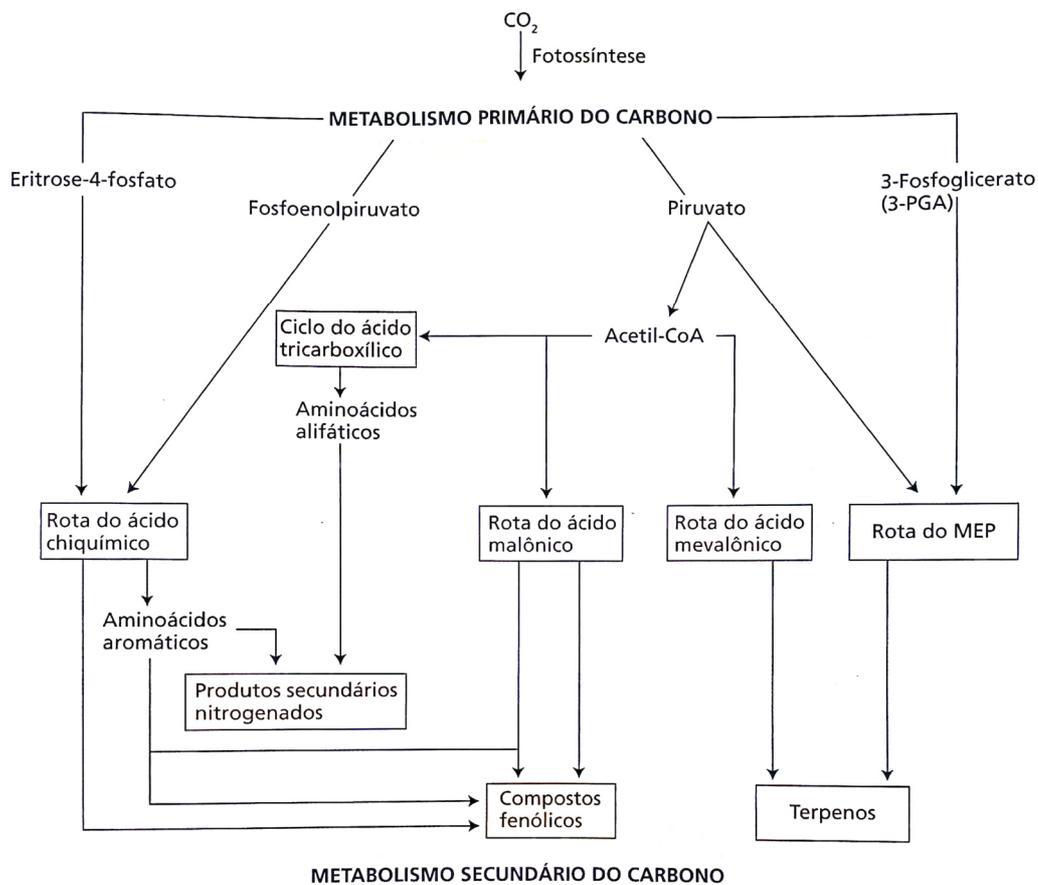
2.2.2 Metabólitos secundários de *L. camara*

As plantas produzem uma larga e diversa ordem de componentes orgânicos divididos em metabólitos primários (MPs) e secundários (MSs). Apesar da definição entre metabólitos primários e secundários não ser inteiramente clara, MPs são compostos produzidos por todas as espécies vegetais e outros organismos com função estrutural, plástica e de armazenamento de energia, ao passo que MSs aparentemente não possuem relação com crescimento e desenvolvimento da planta e são estruturalmente muito diversos (PICHERSKY; GANG, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os MSs têm importantes funções ecológicas nas plantas, protegem as plantas contra herbívoros e patógenos, servem como atrativos para polinizadores e funcionam como agentes alelopáticos entre plantas e microorganismos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os principais grupos de MSs vegetais são os terpenos, compostos fenólicos e os compostos nitrogenados (AHARONI; GALILI, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013). Os terpenos constituem a maior classe de MSs, sendo sintetizados a partir de acetil-CoA ou seus intermediários glicolíticos, em pelo menos duas rotas biossintéticas, a do ácido mevalônico e a do metileritritol fosfato (MEP). Os compostos fenólicos constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico, eles contêm um grupo hidroxila funcional em um anel aromático, sendo sintetizados por diferentes rotas metabólicas, onde as duas rotas básicas são a do ácido chiquímico e a do ácido mevalônico. A maioria dos MSs nitrogenados é sintetizada a partir de aminoácidos comuns (Figura 1) (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Figura 1- Visão simplificada das principais rotas de biossíntese de metabolitos secundários e suas inter-relações com o metabolismo primário.



Fonte: Taiz e Zeiger (2013).

Aleloquímicos de *L. câmara* já foram isolados e documentados por muitos cientistas. Aleloquímicos estão presentes em folhas, caule, raízes, frutos e flores da planta (Tabela 1).

As folhas são ricas em compostos fenólicos, alcaloides, triterpenóides e flavonoides. Estudos desta espécie têm demonstrado a presença de vários terpenóides, esteróides e alcalóides (GHISALBERTI, 2000). Costa et al. (2009) encontrou predominância no óleo essencial os sesquiterpenos, biciclogermacreno (19,42%), isocariofileno (16,70%), valenceno (12,94%) e germacreno D (12,34%). Sousa et al. (2013) relatam a presença de quinonas, taninos condensados, flavonas, flavonóis, flavononóis, flavononas, chalconas, auronas, proantocianidinas, catequinas, alcaloides e triterpenoides em extratos de folhas de *L. camara*.

Yadav et al. (2017) encontraram a presença de carboidratos, glicosídeos, fenólicos, flavonoides, proteínas e diterpenos em extrato metanólico de folhas de *L. câmara*. Os autores não encontraram a presença de alcaloides e fito esteróis. Badgujar et al. (2017) relatam a presença de compostos fenólicos (144.7 ± 1.34 mg GAE/g extrato seco) e flavonoides (12.44 ± 2.85 mg QE/g extrato seco) em extrato metanólico. Naz e Bano (2013) também relatam a presença de compostos fenólicos ($40,85 \pm 0,01$ mg GAE/g) e flavonoides ($53,11 \pm 0,19$ mg/g de peso seco). Sousa et al. (2015) encontraram teores de 227.10 ± 9.07 (GAE g.mg⁻¹) e 46.55 ± 1.50 (QE g.mg⁻¹) respectivamente para fenólicos e flavonoides em extrato etanólico de folhas de *L. camara*.

Yi et al. (2006) relataram a presença de vários compostos fenólicos em extrato de folha de *L. camara* identificados por HPLC, como ácido salicílico, gentísico, ácido β-resorcílico, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido ferúlico, Ácido ρ-hidroxibenzóico, cumarina e 6-metil cumarina.

Singh et al. (2012), analisando o óleo essencial de *L. camara*, identificou 52, 50 e 37 componentes respectivamente em folhas, flores e frutos. Trans-β cariofileno (17,65%, 21,80%, 21,42%), sabinene (9,11%, 14,18%, 1,13%), α -humuleno (7,14%, 9,29%, 9,97%) e biciclo-mecanicroma (5,77%, 8,49%, 2,18%) foram os principais compostos encontrados.

Tabela 1- Constituintes químicos metabólitos de *Lantana camara* (Continua)

Composto	Atividade Biológica	Composto	Atividade Biológica
Compostos Fenólicos: Benzenóides e Fenilpropanóides			
6-Methylcoumarin	Não determinada. ²¹	p-cymene	Não determinada. ^{15; 25}
Caffeic acid	Suprime nematoides e fungos infectantes de raízes. Supressores da destruição do AIA. ^{8; 13; 14; 21, 26}	p-hydroxybenzoic acid	Nematicida. Inibiu a atividade enzimática. Estimulou a AIA oxidase. Inibiu giberelinas. Despolarizou membrana do coleóptilo de aveia. ^{8; 19; 21, 39; 42}
Cinnamic acid	Inibe a ativação da H + ATPase plasmática, PPase e o processo de germinação de sementes. Inibição da fosforilação oxidativa. Inibe crescimento de plantas de alface. ^{3; 10; 22; 39}	p-coumaric acid	Estimulantes da AIA oxidase. Redução na clorofila de plantas. Reduz o potencial de água nas folhas. Inibição da fosforilação oxidativa. Inibiu giberelinas. Suprime nematoides e fungos infectantes de raízes. Inibe o processo de germinação de sementes e crescimento de plantas de pepino. Aumentou a concentração de H ₂ O ₂ . ^{1; 3; 8; 10; 14; 18; 19, 38; 39}
Coumarin	Toxicidade a <i>Sitophilus oryzae</i> , <i>Tribolium castaneum</i> e <i>Callosobruchus chinensis</i> . Inibiu giberelinas. Inibiu a absorção e incorporação de 14C-fenilalanina em <i>Lactuca sativa</i> , <i>Hordeum vulgare</i> e na levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ^{21; 23, 39}	Vanillic acid	Inibe a atividade enzimática. Redução na clorofila de plantas. Reduziu germinação e crescimento de <i>B. pilosa</i> . Inibiu giberelinas. Estimulantes da AIA oxidase. ^{3; 8; 12; 19; 21; 39}
Ferulic acid	Reduziu os teores de clorofila na folha de soja e inibiu o processo de germinação de sementes. Inibiu o crescimento de plantas de sorgo, soja e pepino. Inibiu absorção e incorporação de 14C-fenilalanina de plantas de <i>Lactuca sativa</i> , <i>Hordeum vulgare</i> . Supressores da destruição do AIA. Redução na clorofila de plantas. Reduz o potencial de água nas folhas. Aumentou a concentração de H ₂ O ₂ . ^{1; 3; 4; 8; 17; 21, 38; 39}	Salicylic acid	Inibiu a absorção de K ⁺ pelas raízes de aveia. Despolarizou a membrana das células de raízes de cevada. ^{21, 40, 41}
Calceolarioside E	Não determinada. ^{5; 25}	Isoverbascoside	Não determinada. ^{5; 25}
Gallic acid	Não determinada. ^{13; 26}	β-resorecylic acid	Não determinada. ²¹
Genticic acid	Não determinada. ²¹	Chlorogenic acid	Não determinada. ^{26, 47}
		Verbascoside	Inibidor da proteína quinase e processos antitumor. Atividade antibacteriana. ^{3; 25; 36; 37}
Compostos Fenólicos: Flavonóides			
3,7,4'-trimethoxy-quercetin	Não determinada. ²⁵	Hispidulin	Não determinada. ⁷
3-methoxy-3,7-dimethoxy-quercetin	Não determinada. ²⁵	Lantoside	Antimicrobiano e Nematicida. Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . Atividade antibacteriana contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . ^{18; 25; 34}
3-methoxy-quercetin	Não determinada. ²⁵	Linaroside	Antimicrobiano e Nematicida. Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . Atividade antibacteriana contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . ^{18; 25; 34}
7-O-β-D-pectolarigenine	Atividade antifúngica contra o fungo <i>Corynespora cassicola</i> . ⁹	Pectolarigenin	Não determinada. ^{7; 25}
Quercetin 3-rutinoside	Não determinada. ^{13; 26}	Camaraside	Não determinada. ¹⁸
Quercetin	Não determinada. ^{13; 26}	Pectolarin	Não determinada. ^{7; 25}
Compostos Fenólicos: Furanonaftoquinonas			
5-hydroxy-13-(methyl-dimethyl-hydroxy)-diodantunezone	Não determinada. ²⁵	7-methoxy-8-hydroxy-diodantunezone	Não determinada. ²⁵
6-methoxy-7-hydroxy-diodantunezone	Não determinada. ²⁵	7-methoxydiodantunezone	Não determinada. ²⁵
6-methoxy-8-hydroxy-diodantunezone	Não determinada. ²⁵	8-hydroxy-13-(methyl-dimethyl-hydroxy)-diodantunezone	Não determinada. ²⁵
6-methoxydiodantunezone	Não determinada. ²⁵	Diodantunezone	Não determinada. ²⁵
7-methoxy-5-hydroxyisodiodantunezone	Não determinada. ²⁵	Isodiodantunezone	Não determinada. ²⁵
Esteróides			
3β-hydroxystigmast-5-en-7-one	Não determinada. ^{25; 35}	β-sitosterole	Não determinada. ²⁵
β-sitosterol	Não determinada. ^{7; 25}	Campesterol	Não determinada. ^{7; 25; 35}
β-sitosterol acetate	Não determinada. ²⁵	Lancamarone	Não determinada. ²⁵
β-sitosterol-3-O-β-D-Dglicoside	Não determinada. ²⁵	Stigmasterol	Não determinada. ^{25; 35}
β-sitosterol-3-O-β-D-glucopiranoside	Não determinada. ²⁵	Stigmasterol acetate	Não determinada. ^{25; 35}

Tabela 1 - Constituintes químicos metabólitos de *Lantana camara* (Continuação)

Composto	Atividade Biológica	Composto	Atividade Biológica
Triterpenos			
19 α -hydroxy ursolic,	Não determinada. ²⁵	Hederagenin, 25-hydroxyolean-12-en-28-oic methyl ester	Não determinada. ²⁵
22β-dimethylacryloyloxy-lantic acid	Não determinada. ^{25; 32}	Lancamaric acid	Não determinada. ²⁵
22β-angeloyloxy-3β-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	Atividade antibacteriana contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . ^{25; 29}	Lantabetulic acid	Não determinada. ²⁵
22β-dimethylacryloyloxy-24-hydroxy-3-oxo-olean-12-en-28-oic acid	Atividade citotóxica. ^{25; 28}	Lantacin	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{25; 35}
22β-dimethylacryloyloxy-3β-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	Atividade antibacteriana contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . ²⁵	Lantadene A	Atividade antioxidante. Morte de cavalos, bovinos, ovinos, caprinos e coelhos por falha no fígado e outros órgãos. Atividade inseticida. Inibe o crescimento de plantas. Atividade citotóxica. ^{5; 6; 25; 27; 28}
22β-dimethylacryloyloxy-lantanolic acid	Não determinada. ²⁵	Lantadene B	Morte de cavalos, bovinos, ovinos, caprinos e coelhos por falha no fígado e outros órgãos. Atividade inseticida. Inibe o crescimento de plantas. Atividade citotóxica. ^{5; 25; 27; 28}
22β-hydroxy-3-oxoolean-12-en-28-oic acid	Não determinada. ²⁵	Lantadene C	Atividade patotóxica. Atividade citotóxica. ^{5; 25; 28}
22β-hydroxyoleanoic acid	Não determinada. ^{25; 30}	Lantadene D	Não determinada. ²⁵
22β-O-angeloyl-oleanoic acid	Não determinada. ²⁵	Lantadienone	Não determinada. ²⁵
22β-tigloyloxy-lantanolic acid	Não determinada. ²⁵	Lantaiursolic acid	Não determinada. ²⁵
24-hydroxy-3-oxoolean-12-en-28-oic acid	Não determinada. ²⁵	Lantanilic acid	Nematocida. Atividade antimutagênica. ^{18; 25; 32; 33}
3,24-Dioxo-urs-12-en-28-oic acid	Não determinada. ^{20; 25}	Lantanolic acid	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{5; 25; 35}
3β,19αdihydroxy-ursan-28-oic acid	Não determinada. ²⁵	Lantanone	Não determinada. ^{25; 35}
Betulinic acid	Não determinada. ^{7; 25}	Lantic acid	Atividade antibacteriana. ^{5; 25; 33}
Betulonic acid	Não determinada. ^{7; 25}	Lantoic acid	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{25; 35}
Betulonol	Não determinada. ²⁵	Lantrigloylic acid	Não determinada. ²⁵
Camangeloyl acid	Não determinada. ²⁵	Lupeol analogue	Não determinada. ²⁵
Camaracinic acid	Não determinada. ²⁵	Methyl 3-oxours-late	Não determinada. ²⁵
Camaradienone	Não determinada. ²⁵	Methyl ursoxylate	Não determinada. ²⁵
Camaranoic acid	Não determinada. ²⁵	Methylcamaralate	Não determinada. ²⁵
Camaric acid	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{25; 34}	Oleanenoic acid (Caryophyllin)	Atividade antibacteriana contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Atividade anti-inflamatória. ²⁵
Camarilic acid	Não determinada. ²⁵	Oleanoic acid acetate	Não determinada. ²⁵
Camarin	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{25; 35}	Oleanolic acid	Hepatoprotetor, anti-inflamatório, antiulcera, antifertilidade, antimicrobiano, nematocida. Atividade contra <i>Brugia malayi</i> . Atividade inseticida. Atividade citotóxica. ^{18; 25; 29; 31}
Camarinic acid	Atividade antibacteriana. Atividade antimutagênica. e Nematocida. ^{18; 25}	Oleanonic acid	Inibe o crescimento em culturas de células de melanoma em ratos e vírus da herpes simples I e II in vitro. Atividade contra <i>Brugia malayi</i> . Atividade inseticida. ^{7; 18; 25}
Camarinin	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{7; 25; 35}	Pomolic acid	Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{7; 25; 35}
Camarolic acid	Não determinada. ^{25; 35}	Ursangilic acid	Não determinada. ²⁵
Camarolide	Não determinada. ²⁵	Ursethoxy acid	Não determinada. ²⁵
Euphane lactone A	Atividade anticoagulante. ²⁵	Ursolic acid	Inibidor de elastase de leucócito. Ansiolítico. Atividade nematocida contra <i>Meloidogyne incognita</i> . ^{5; 24; 25;}
Euphane lactone B	Atividade anticoagulante. ²⁵	Ursonic acid	Inibe o crescimento de melanoma em células de ratos em cultura, e o vírus Herpes simplex, tipo I e II in vitro. ^{18; 25}
Euphane lactone C	Atividade anticoagulante. ²⁵	Ursoxy acid	Não determinada. ²⁵
Icterogenic acid	Tóxico para cabras, gado e ovelhas. ⁵	α-amyrin	Não determinada. ²⁵
Icterogenin	Atividade citotóxica. ^{25; 28}		

Tabela 1 - Constituintes químicos metabólitos de *Lantana camara* (Conclusão)

Composto	Atividade Biológica	Composto	Atividade Biológica
Monoterpenos e Sesquiterpenos			
1,8-Cineol (Eucalyptol)	Inibe crescimento da planta. ^{11; 15; 39}	Valencene	Não determinada. ^{2; 25}
Alloaromadendrene	Não determinada. ^{15; 25}	Viridiflorene	Não determinada. ¹⁵
Aromadendrene	Não determinada. ¹⁵	α-curcumene	Não determinada. ¹¹
Bicycloelemene	Não determinada. ¹⁵	α-Terpinyl acetate	Não determinada. ¹⁵
Bicyclogermacrene	Não determinada. ^{2; 15}	α-copaene	Não determinada. ¹⁵
Borneol	Não determinada. ¹⁵	α-cubebene	Não determinada. ¹⁵
Camphene	Não determinada. ¹⁵	α-gurjunene	Não determinada. ¹⁵
Camphor	Não determinada. ¹⁵	α-humulene	Não determinada. ^{11; 15; 25}
Caryophyllene oxido	Não determinada. ^{11; 15; 25}	α-phellandrene	Não determinada. ¹⁵
Cis-p-menth-2-en-1-ol	Não determinada. ^{15; 25}	α-pinene	Não determinada. ¹⁵
Cis-Sabinenehydrate	Não determinada. ¹⁵	α-terpinene	Não determinada. ^{15; 25}
Cis-β-ocimene	Não determinada. ¹⁵	α-terpineol	Não determinada. ¹⁵
Dipentene	Inibe o crescimento da planta. ³⁹	α-terpinolene	Não determinada. ¹⁵
Elemol	Não determinada. ¹⁵	α-thujene	Não determinada. ¹⁵
Germacrene B	Não determinada. ¹⁵	β-bisabolene	Não determinada. ¹¹
Germacrene D	Não determinada. ^{2; 15; 25}	β-bourbonene	Não determinada. ¹⁵
Geniposide	Inibe a hepatotoxicidade e a síntese de reparo do DNA induzida pela aflatoxina B1 em hepatócitos primários de ratos. ^{5; 25}		
Isocaryophyllene	Não determinada. ^{2; 15}	β-caryophyllene	Não determinada. ^{11; 15}
Limonene	Não determinada. ¹⁵	β-Copaene	Não determinada. ¹⁵
Linalool	Não determinada. ^{11; 15}	β-elemene	Não determinada. ^{15; 25}
Mintsulfide	Não determinada. ¹⁵	β-myrcene	Não determinada. ¹⁵
Phytol	Não determinada. ¹⁵	β-pinene	Inibe a germinação de sementes. Inibe o crescimento e a atividade antibacteriana. ^{15; 16; 25; 39}
Sabinene	Não determinada. ^{11; 15; 25}	β-selinene	Não determinada. ¹⁵
Spathulinol	Não determinada. ¹⁵	γ-elemene	Não determinada. ^{15; 25}
Terpin-4-ol	Não determinada. ¹⁵	γ-muurolene	Não determinada. ¹⁵
Trans-Cadina 1,4 diene	Não determinada. ¹⁵	γ-terpinene	Não determinada. ¹⁵
Trans-Nerolidol	Não determinada. ¹⁵	δ-3-carene	Não determinada. ¹⁵
Trans-Sabinene hydrate	Não determinada. ¹⁵	δ-cadinene	Não determinada. ²⁵
Trans-β-ocimene	Não determinada. ¹⁵	δ-elemene	Não determinada. ¹⁵
Compostos alifáticos: Ácidos graxos, oligossacarídeos, derivados do ácido carboxílico			
1-Hexanol	Não determinada. ¹⁵	Icosanoic acid	Não determinada. ²⁵
1-octen-3-ol	Não determinada. ¹⁵	Lignoceric acid	Não determinada. ²⁵
3-Octanol	Não determinada. ¹⁵	Myristic acid	Inibe o crescimento de plantas. ³⁹
Ajugose	Não determinada. ²⁵	N-1-triacontanol	Não determinada. ²⁵
Caprylic acid	Não determinada. ²⁵	Palmitic acid	Inibe o crescimento de vegetais. ^{25; 39}
Cis 3 hexenol	Não determinada. ¹⁵	Stachyose	Não determinada. ²⁵
Cotriacontanoic Acid	Não determinada. ²⁵	Stearic acid	Não determinada. ²⁵
Docosanoic acid	Não determinada. ²⁵	Verbascotrose	Não determinada. ²⁵
Compostos Diversos			
Davanone B	Não determinada. ^{11; 15}	Lantanose B	Não determinada. ²⁵
Ethyl-β-D-galactoside	Não determinada. ²⁵	Nonanal	Não determinada. ¹⁵
Heneicosane	Não determinada. ¹⁵	Theveside	Não determinada. ⁵
8-Epiloganin	Não determinada. ^{15; 25}	Derhamnosylverbascoside	Não determinada. ²⁵
Lamiridoside	Não determinada. ^{5; 25}	Martynoside	Não determinada. ²⁵
Lantanaside	Não determinada. ²⁵	Shanzhiside methyl ester	Não determinada. ²⁵
Theviridoside	Não determinada. ²⁵	Isonuomioside A	Não determinada. ^{5; 25}
Lantanose A	Não determinada. ²⁵		

Fonte: ¹Blum et al. (1985); ²Costa et al. (2009); ³Einhellig (1986); ⁴Einhellig e Eckrich (1984); ⁵Ghisalberti (2000); ⁶Grace-Lynn et al. (2012); ⁷Huang e Huang (2004); ⁸Lee et al. (1982); ⁹Nogueiras C. et al. (2010); ¹⁰Putnam (1987); ¹¹Randrianalijaona et al. (2005); ¹²Moraes et al. (2010); ¹³Sousa et al. (2015); ¹⁴Shaukat e Siddiqui, (2002); ¹⁵Singh (2012); ¹⁶Sonibare e Effiong (2008); ¹⁷Van Sumere et at. (1972); ¹⁸Wahab (2004); ¹⁹Weir et al. (2004); ²⁰Yadav e Tripathi (2003); ²¹Yi et al. (2006); ²²Zhou et al. (2006); ²³Rajashekar et al. (2013); ²⁴Kazmi et al. (2013); ²⁵Sousa e Costa (2012); ²⁶Sousa et al. (2013); ²⁷Kong et al. (2006); ²⁸Litaudon et al. (2009); ²⁹Jiménez-Arellanes (2007); ³⁰Sharma e Sharma (2006); ³¹Shikha et al. (2010); ³²Barre et al. (1997); ³³Saleh et al. (1999); ³⁴Begum et al. (2000); ³⁵Begum et al. (2008); ³⁶Pereira et al. (2008); ³⁷Herbert et al. (1991); ³⁸Politycka (1996); ³⁹Mishra (2015); ⁴⁰Harper e Balke (1981); ⁴¹Glass e Dunlop (1974); ⁴²Bates e Goldsmith (1983).

2.2.3 Estudos farmacognósticos de *L. camara*

A lantamina, um alcalóide obtido a partir da casca, galhos e raízes de *L. camara* mostra efeito antipirético e intensa e atividade antiespasmódica (GHISALBERTI, 2000). É usada na medicina popular como diurética, expectorante, febrífuga e anti-reumática (AGRA et al., 2008; BRANDÃO et al., 2009).

Os triterpenóides da *L. camara* atraíram interesse considerável, principalmente por causa da sua citotoxicidade. A maioria do triterpenóides isolados desta espécie são pentacíclicos, pertencentes à série oleanano, e são nomeados como lantadenos. Badgujar et al. (2017) relatam que o extrato metanólico de folhas de *L. camara* mostrou pronunciado efeito citotóxico contra câncer humano.

Garcia et al. (2009) relatam que o extrato da folha de *L. camara* apresentou efeito quimiopreventivo na carcinogênese em pele de camundongos suíços albinos e fêmeas. A quimioprevenção é uma estratégia efetiva para controlar a incidência de câncer. Foi demonstrado que o lantadene A e o seu congênere lantadene A metil-éster tem atividade quimiopreventiva em câncer de pele de camundongos induzido por dimetilbenzenoantraceno e 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato. No entanto alguns autores como Rodrigues et. al. (2011) relatam que *L. camara* apresenta atividade embriotóxica. Verbascoside, foi isolado e apresenta atividades antimicrobianas, imunossupressoras e antitumorais. Lantanoside, linaroside e ácido camarínico foram isolados e estão sendo estudados como possíveis nematicidas (MISHRA, 2015).

Costa et al. (2009) relatam considerável atividade antibacteriana do óleo de *L. camara*, para *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com atividades de toxicidade inferiores ao limite padrão de 1000 µg/mL. O extrato de flores, folhas, caules e raízes de *L. camara* mostrou atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus saprohiticus* (KUMARASAMYRAJA et al., 2012; NAZ; BANO, 2013). Segundo Basu et al. (2005) os extratos clorofórmicos e metanólicos de *L. camara* inibiram o crescimento bacteriano, sendo mais específico para as cepas Gram-positivas, embora a bactéria Gram-negativa *P. aeruginosa* também tenha sido inibida.

A planta *L. camara* possui atividade inseticida, nematicida e antifúngica do óleo essencial relatada por Nogueiras et al. (2010), onde um flavonoide (7-O-β-D-pectolinarigenine) foi isolado a partir do extrato de folhas desta planta, que mostrou atividade antifúngica contra o fungo *Corynespora cassiicola*, semelhante aos encontrados para o produto disponível comercialmente. Os extratos de *L. camara* inibiram o crescimento de *Phytophthora infestans*

(MAHARJAN et al., 2010). Uma alta concentração de extrato de *L. camara* com mais de 25 mg.ml⁻¹ foi necessária para inibir o crescimento de *Aspergillus flavus* (MOSTAFA et al., 2011). O lixiviado de raízes de *L. camara* tem potencial para controlar os fungos de solo *Fusarium Solani* e *Rhizoctonia Solani* (SHAUKAT E SIDDIQUI, 2002).

Zandi-Sohani et al. (2012) relatam que o óleo essencial de *L. camara* tem atividade repelente forte contra adultos do caruncho do feijão (*Callosobruchus maculatus*), concluindo que o óleo essencial pode ser útil como uma alternativa para o controle da praga no feijão. A análise da composição química mostrou grandes quantidades de sesquiterpenos, principalmente α -humelene (23,3%) e cis-cariofileno (16,2%). Cumarina isolada de folhas de *L. Camara* apresentou toxicidade a *Sitophilus oryzae*, *Tribolium castaneum* e *Callosobruchus chinensis* (RAJASHEKAR et al., 2013). Atividade inseticida do óleo essencial de *L. camara* também foi relatada por Mohamed e Abdelgaleil (2008) contra *Sitophilus* spp. e *Tribolium castaneum*.

Udo et al. (2014) encontraram atividade nematicida do extrato de *L. camara* contra *Meloidogyne incognita*. O ácido lantanólico, o ácido pomólico e o ácido lantóico apresentaram mortalidade de 100% a uma concentração de 1,0% após 24 h, enquanto a camarina, a camarinina, a lantacina e o ácido ursólico apresentaram 100% de mortalidade a 1,0% de concentração após 48 h. Extratos metanólicos e etanólicos de folhas e flores de *L. camara* mostraram atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (KUMAR; MANEEMEGALAI, 2008).

Gorla e Perez (1997) testando extrato aquoso de folhas frescas de *L. camara* relatam efeito inibitório na germinação das sementes de *Lycopersicon esculentum* (Tomate) e *Cucumis sativus* (Pepino) quando submetidas a concentrações acima de 75%. A espécie também causou efeito inibitório significativo na germinação de sementes de *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, *Vigna sinensis*, *Cucurbita pepo* L., *Abelmoschus esculentus*, *Amaranthus tricolor*, *Acacia auriculiformis*, *Paraserianthes falcataria*, *Albizia procera* (HOSSAIN; ALAM, 2010), *Pennisetum americanum*, *Lactuca sativa*, *Setaria italica* (HUSSAIN et al., 2011), *Vigna mungo* (MAITI et al., 2010) e *Parthenium hysterophorus* (MISHRA; SINGH, 2010).

Manohar et al. (2017) investigando os efeitos alelopáticos de extratos aquoso de folhas de *L. camara* em espécies arbóreas de *Albizia lebbek* e *Dalbergia sissoo* relatam efeito inibitório na germinação das sementes.

Verdeguer M. et al. (2009) encontrou, no óleo essencial, altos percentuais de sesquiterpenos hidrocarbonetos, que apresentaram atividade fitotóxica contra *Amaranthus hybridus* e *Portulaca oleracea*. Kenany e Darier (2013) relatam que o extrato aquoso de *L. camara* suprimiu a germinação de sementes e o crescimento de plântulas *Phalaris minor* e *Sorghum bicolor*, bem como inibiu o alongamento de raízes e caules destas espécies sugerindo

que o extrato pode ser utilizado como uma substância potencialmente alelopática (bioherbicida).

2.3 ESPÉCIES ALVO

Bidens pilosa L. (Asteraceae), conhecida popularmente por picão preto, é uma planta anual, herbácea, nativa da América Tropical. Considerada uma das mais sérias infestantes encontradas em lavouras anuais e perenes do Centro-Sul do Brasil. Muito prolífica e de ciclo curto, é capaz de produzir até três gerações por ano (LORENZI, 2014). A utilização de herbicidas sintéticos tem se apresentado como única ferramenta no controle desta espécie de planta daninha, levando ao desenvolvimento de biótipos resistentes aos herbicidas. Populações de biótipos resistentes aos herbicidas chlorimuron-ethyl, cloransulam-methyl, imazamox, imazaquin, e imazethapyr, inibidores da enzima acetolactato sintase - ALS, foram identificados no Brasil em 1993. Recentemente no México, em 2014, foi identificada resistência ao herbicida glyphosate (HEAP, 2014).

Formagio et al. (2012) encontrou efeito fitotóxico do extrato metanólico das folhas e raízes de capuchinha sobre a germinação de picão-preto. Borella e Pastorini (2010) relatam que sementes de picão-preto submetidas aos extratos de folhas e de frutos de umbu (*Phytolacca dioica* L.) não germinaram, provavelmente devido a presença de flavonóides nos frutos. Corsato et al. (2010) observaram o efeito inibitório de folhas frescas de girassol (*Helianthus annuus* L.) sobre a germinação de sementes de picão preto e relataram que os terpenos podem não ter sido os responsáveis pelo expressivo efeito inibitório do girassol sobre as sementes de picão preto, enquanto outras substâncias presentes nas folhas, como os flavonóides (substâncias solúveis em água) podem ter ocasionado esse resultado.

Avena Sativa (Aveia branca) possui potencial alelopático. Extratos da parte aérea dessa planta provocaram efeito alelopático negativo na germinação e no crescimento de plântulas de *Lolium multiflorum*, *Euphorbia heterophylla* (HAGEMANN et al., 2010). A aveia branca é alohexaplóide, onde o maior número de genes pode codificar a produção maior de aleloquímicos. Hagemann et al. (2010) verificaram maior efeito alelopático dos extratos foliares de cultivares de *A. sativa* em relação a cultivares de *A. strigosa* (diplóide). Essa característica pode também conferir maior potencial de tolerância aos aleloquímicos produzidos por outras espécies de plantas, tornando a planta *A. sativa* uma boa planta modelo para ensaios de efeito alelopático com monocotiledôneas.

2.4 FATORES QUE INTERFEREM NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Num sentido amplo, a palavra germinação refere-se ao conjunto de processos associados à fase inicial do desenvolvimento de uma estrutura reprodutiva, seja uma semente, esporo ou gema. Porém, de maneira tradicional, este conceito é aplicado ao crescimento do embrião (particularmente do eixo radicular) em sementes maduras de espermatófitas (CARDOSO, 2004).

A germinação “*stricto sensu*” não inclui o crescimento de plântulas, a qual começa após a germinação ser concluída (BEWLEY et al., 2013). Entretanto em tecnologia de sementes a germinação é um atributo de qualidade fisiológica das sementes, sendo definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando sua capacidade para dar origem a uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis (PESKE; BARROS, 2003).

A germinação começa com a absorção de água pela semente (embebição). A embebição ativa complexos processos metabólicos que devem permitir a recuperação de danos estruturais ocorridos na semente, durante o período de repouso, e conduzir ao crescimento e desenvolvimento normal no embrião.

A embebição das sementes é um processo físico, relacionado basicamente às propriedades coloidais dos seus constituintes e às diferenças de potencial hídrico entre a semente e o meio externo. No início da embebição, o componente matricial da semente é o principal responsável pelo movimento da água, mas, com o aumento da disponibilidade de água livre e do metabolismo na semente, o componente osmótico aumenta sua participação no processo. Em plena disponibilidade de água, a embebição apresenta, em muitos casos, uma curva trifásica, onde na fase I, o teor de água na semente aumenta rapidamente, seguido de uma estabilização na fase II, mantida até o início da germinação visível (protrusão da radícula), que dá início a fase III, havendo outro aumento no teor de água, em decorrência do crescimento do embrião (BEWLEY et al., 2013)

Durante a fase I, as membranas sofrem a mudança do estado gel (seca) para o estado líquido-cristalino (hidratadas). Durante a reestruturação das membranas, a rápida entrada de água na fase I pode promover o vazamento de metabólitos de baixo peso molecular e outros solutos (BEWLEY et al., 2013)

Na fase I da germinação, ocorre a reativação das enzimas mitocondriais do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, bem como a síntese proteica a partir de substratos (enzimas, RNAt, ribossomos, RNAm etc.) presentes na semente madura e reativados com a embebição.

Nessa fase, existe uma grande quantidade de RNAm conservado, porém apenas parte dele será transcrito e traduzido em proteínas. As reações da fase I são catalisadas por enzimas preservadas na semente e ativadas pela hidratação. Na fase II, ocorre a ativação dos processos metabólicos necessários para o início do crescimento do embrião. A duração dessa fase e a quantidade de água na semente são dependentes do potencial de água no meio, da temperatura e da presença ou não de dormência. A síntese de DNA, divisões mitóticas e a mobilização das substâncias de reserva ocorre após o início do crescimento do embrião, na fase III (BEWLEY et al., 2013; CARDOSO, 2004).

A germinação das sementes pode ser influenciada por diversos fatores (morfologia, viabilidade, dormência, luz, temperatura, potencial hídrico, substâncias orgânicas e inorgânicas, fatores bióticos). Substâncias orgânicas liberadas por material vegetal vivo ou morto podem influenciar a germinação de sementes. A maior parte dessas substâncias (alelopáticas) atuam inibindo a germinação, embora outras possam promovê-la, como o estrigol, substância encontrada no exsudado de raízes de *Sorghum bicolor*, que induz a germinação da angiosperma parasita, *Striga asiática* (CARDOSO, 2004).

As substâncias orgânicas (aleloquímicos) podem afetar estruturas citológicas e ultra-estruturais, a concentração e o balanço hormonal, a permeabilidade de membranas, a absorção de minerais, o movimento dos estômatos, a síntese de pigmentos, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteínas, a atividade enzimática, as relações hídricas, e alterações no DNA e RNA (RIZVI et al., 1992). Esses processos constituem resultados da ação dos aleloquímicos, que atuam diretamente, ou na sinalização de processos de degradação celular, através da produção e acumulação de espécies reativas de oxigênio, resultando em estresse oxidativo celular (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007; QIAN et al., 2009).

As enzimas superóxido-dismutase, peroxidase e catalase promovem a remoção de radicais livres durante o processo de deterioração em sementes (MUNIZ et al., 2007). Neste contexto, Singh et al. (2002) afirmam que lactonas sesquiterpênicas são capazes de inibir a germinação e afetar proteínas hidrossolúveis, carboidratos e a atividade das enzimas alfa e beta amilase. Samaj et al. (2004) e Cruz-Ortega et al. (2007) relatam que a ação de determinados aleloquímicos aumenta a atividade de enzimas do metabolismo antioxidativo.

Substâncias com efeito alelopático podem influenciar na velocidade, porcentagem de emergência de plântulas e no crescimento da planta. Testes de qualidade fisiológica envolvendo germinação, condutividade elétrica e análises bioquímicas, como solubilização, degradação do amido e atividade das enzimas hidrolases, podem fornecer parâmetros do vigor e viabilidade

das sementes diante de agentes externos (NEVES; MORAES, 2005), como os compostos alelopáticos de plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das sementes: Foram utilizadas sementes de *Bidens pilosa* de duas populações de plantas, coletadas em campo, em Santa Maria/RS (população SMA) e em Lages/SC (população LAG), retirando-se apenas as sementes maduras. As sementes foram homogeneizadas manualmente e armazenadas em câmara seca e fria ($50\pm 5\%$ de umidade relativa e $8\pm 2^\circ\text{C}$). As sementes de *Avena sativa* foram adquiridas no comércio e armazenadas em câmara seca e fria ($50\pm 5\%$ de umidade relativa e $8\pm 2^\circ\text{C}$) até o momento de utilização.

Obtenção do material vegetal: As folhas de *Lantana camara* para o preparo dos extratos foram obtidas no mês de novembro, no município de Lages/SC, de plantas adultas em floração e sob condições de campo, coletadas pela manhã, lavadas com água destilada e secas em estufa de circulação de ar forçada por 72 horas, em temperatura de 40°C . As folhas secas foram trituradas em liquidificador e armazenadas em câmara seca e fria ($50\pm 5\%$ de umidade relativa e $8\pm 2^\circ\text{C}$).

Preparo do extrato: As folhas secas trituradas foram misturadas em água destilada na concentração de 10% (10g de pó/90mL de água). O material vegetal permaneceu imerso em água, à temperatura de 25°C , por 24h, para extração dos princípios ativos, sendo coado em tecido de algodão e centrifugado. Os filtrados líquidos resultantes foram diluídos em água nas concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) para *B. pilosa* e 0; 2,5; 5; 7,5 e 10% (v/v) para *A. sativa*, e utilizados nos tratamentos.

Viabilidade pelo teste de germinação (G): conduzido em cinco repetições com cinco amostras de 50 sementes (*B. pilosa*) e 25 sementes (*A. sativa*), semeadas em caixas de acrílico (12x12cm), sobre três folhas de papel germitest umedecidas na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, com as diferentes concentrações de extrato. As caixas foram transferidas para câmara de germinação tipo BOD a 25°C e 12 horas de fotoperíodo. Para avaliação do efeito alelopático durante as fases da germinação as sementes foram expostas, durante as fases I e II da germinação, até o início da fase III da germinação (protrusão radicular) em água destilada e nas concentrações do extrato aquoso. As sementes expostas em água, durante as fases I e II, foram mantidas e também transferidas para caixas de acrílico contendo as concentrações do extrato aquoso e as sementes expostas aos extratos, nas fases I e II, foram mantidas e também transferidas para caixas de acrílico com água. As avaliações foram efetuadas aos sete dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, anormais e mortas (BRASIL, 2009).

Índice de velocidade de germinação (IVG): conduzido nas mesmas condições do teste de germinação. Obtido a partir de contagens a cada 12 horas das sementes germinadas (protrusão radicular mínima de 2 mm). As contagens foram realizadas até a obtenção do número constante de sementes germinadas. O IVG foi calculado através da fórmula (SOUZA FILHO et al., 2010):

$$IVG = \sum [N1/1 + N2/2 + N3/3 + \dots Nn/n] \times 100$$

Onde N1, N2, N3 e Nn são a proporção de sementes germinadas na primeira, segunda, terceira e enésima contagem após a semeadura nas caixas, respectivamente.

Vigor pela condutividade elétrica: conduzido em quatro repetições com quatro amostras de 100 sementes (*B. pilosa*), 50 sementes (*A. sativa*). As sementes tiveram sua massa previamente aferida e foram submetidas à embebição no extrato, nas diferentes concentrações, por 1 hora. Decorrido o tempo, foram lavadas com água destilada, transferidas para recipientes contendo 50mL de água destilada e mantidas em BOD à temperatura de 20°C. A condutividade elétrica foi determinada após 3, 12 e 24 horas. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

Vigor pelo crescimento inicial de plântulas: Conduzido nas mesmas condições do teste de germinação. Foram mensurados o comprimento (cm) do hipocótilo/epicótilo e raiz e presença de raízes secundárias. Os resultados foram expressos em comprimento (cm) e percentual de inibição do crescimento em relação ao controle e percentual de presença de raízes secundárias (NAKAGAWA, 1999).

Efeito osmótico das concentrações: conduzido nas mesmas condições do teste de germinação utilizando-se água, extrato aquoso das folhas na concentração de 5,0% e solução de polietilenoglicol (PEG 6000) nas concentrações de -0,2 e -0,4 Mpa. Foram verificados o percentual de germinação, o índice de velocidade de germinação e o comprimento total das plântulas.

Curva de embebição das sementes: conduzido para *Avena sativa*, em duas repetições de 25 sementes para cada tempo mensurado, semeadas em caixas de acrílico (12x12cm), sobre três folhas de papel germitest umedecidas na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, com água e as diferentes concentrações de extrato. As caixas foram transferidos para câmara de germinação tipo BOD a 25°C e 12 horas de fotoperíodo. Em cada tempo, foi retirada duas amostras de 5 g de sementes e levadas a estufa a 1050°C durante 24h para a determinação da umidade. Através da diferença de umidade entre os tempos, obteve-se a curva de embebição.

Teor de H₂O₂: foi determinado durante a germinação (24, 48, 72 e 120 h) para *A. sativa*, em 3 repetições, por meio de amostras de sementes (200 mg) maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenizado foi centrifugado a 3600 rpm durante 15 minutos. Após centrifugação, para quantificação do H₂O₂ utilizou-se 200 µL do sobrenadante acrescido de 800 µL de iodeto de potássio e 200 µL de tampão fosfato (0,1M pH 7,5), que foram incubados no gelo por 1h, na sequência as amostras foram deixadas a temperatura ambiente por 5min e as leituras realizadas em espectrofotômetro UV/VIS Spectro800S a 390nm. Os resultados foram expressos em nmol.g⁻¹ de massa fresca (ALEXIEVA et al., 2001).

Teor de Malondialdeído (MDA): foi determinado durante a germinação (24, 48, 72 e 120 h) para *A. sativa*, em 3 repetições, por meio de amostras de sementes (200 mg) maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenizado foi centrifugado a 3600 rpm durante 15'. Após centrifugação, para quantificação do MDA, 250 µL do sobrenadante acrescido de 1 mL de TCA (20%) + TBA (0,5%) foi incubado em banho-maria (95°C) por 30 minutos, e a reação interrompida em gelo por 10'. Após as amostras foram deixadas a temperatura ambiente por 10' e as leituras realizadas em espectrofotômetro UV/VIS Spectro800S a 600 e 535nm. Os resultados foram expressos em µmol.g⁻¹ de massa fresca (HEATH; PACKER, 1968).

Teor de Prolina: foi determinado durante a germinação (24, 48, 72 e 120 h) para *A. sativa*, em 3 repetições, por meio de amostras de sementes (0,3 mg) maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 6 mL de ácido sulfo-salicílico (3%). O homogenizado foi centrifugado a 3600 rpm durante 30'. Após centrifugação, para quantificação de Prolina, 2 mL do sobrenadante acrescido de 2 mL de solução de ninidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial foi incubado em banho-maria (100°C) por 60', e a reação interrompida em gelo por 10'. Após foi adicionado 2 mL de tolueno agitado vigorosamente e deixado em repouso por 20' (temperatura ambiente) para separação de fases. As leituras da fase superior foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS Spectro800S a 520nm. Os resultados foram expressos em µmol.g⁻¹ de massa fresca (BATES et al., 1973).

Teor de Compostos fenólicos: foi determinado durante a germinação (24, 48, 72 e 120 h) para *A. sativa*, em 3 repetições, por meio de amostras de sementes (0,3 mg) maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 3 mL de metanol acidificado (0,1 ml ácido clorídrico + 100 ml metanol - 80%) e no extrato aquoso de folhas de *L. camara* (10% v/v), em 3 repetições, por meio de aliquotas de 3 mL. O macerado e o extrato foram incubados em banho-maria (55°C) por 15' e após centrifugado a 3600 rpm durante 30'. A reação foi iniciada com a adição de 100

μL do sobrenadante em 700 μL de Folin-Ciocalteu (0,25 M) agitado e incubado no escuro por 3'. Após foi adicionado 700 μL de Na_2CO_3 (0,2 M) agitado e incubado no escuro por 30'. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS Spectro800S a 725nm. Os resultados foram expressos em mg GAE.g^{-1} de massa fresca (FOLIN; CIOCALTEU, 1927).

Teor de Flavonóides: foi determinado no extrato aquoso de folhas de *L. camara* (10% v/v), em 3 repetições, pelo método colorimétrico de cloreto de alumínio (CHANG et al., 2002) e soluções padrão (0-1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ de quercetina em 80% de metanol). Foram misturados 1 mL do extrato com 0,5 mL de etanol a 95% (v / v), 0,1 mL de acetato de potássio 1M, 0,1 mL de solução de cloreto de alumínio (10% de AlCl_3) e 0,8 mL de água destilada até um volume total de 2,5 mL . A mistura foi agitada e incubada a temperatura ambiente durante 30 minutos. A quercetina foi utilizada como padrão ($y = 0.0006x - 0.0995$, $r^2 = 0.80$) para a quantificação do flavonóide total. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS Spectro800S. Os resultados foram expressos em mg QE.mL^{-1} de extrato. Os dados foram apresentados como média aritmética \pm desvio padrão para três repetições.

Determinação de proteínas e extração de enzimas: foram determinadas durante a germinação (24, 48, 72 e 120 h) para *A. sativa*, a partir de amostras de matéria fresca de plântulas maceradas em gral e pistilo com nitrogênio líquido, contendo polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20% e homogeneizados em 1,8 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8) contendo EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 20 mM. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante utilizado para mensurar a atividade enzimática (BRADFORD, 1976).

Determinação da atividade de Catalase (CAT – EC 1.11.1.6): realizada em 3 repetições, utilizando 25 μL de extrato vegetal (proteína solúvel) extraídas de acordo com Azevedo et al. (1998). O ensaio foi realizado a 25°C em uma solução contendo 100 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) acrescida de 25 μL de H_2O_2 (solução 25%). A reação inicia-se pela adição de 25 μL de extrato vegetal e a atividade é determinada monitorando-se a degradação de H_2O_2 a 240 nm (pico de absorção do H_2O_2) durante o período de 1 minuto e dosagem contínua em intervalos de 1segundo em temperatura ambiente, em cubetas de quartzo. Os resultados foram expressos em $\text{umol.min}^{-1}.\text{mg prot}^{-1}$ (AEBI, 1983).

Determinação da atividade de Ascorbato peroxidase (APX – EC 1.11.1.11): determinada por metodologia proposta por Nakano e Asada (1981) pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato por 2 min a 290 nm ($\epsilon = 2.80 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). O meio de reação foi incubado a 30°C e composto por 13 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), 2 mL de ácido ascórbico 0,5 mM e 2 mL de EDTA 1mM. A reação iniciou-se pela adição de 1780 μL

do meio de reação, seguida de 200 μL de H_2O_2 0,1mM e 20 μL do extrato enzimático. Os resultados foram expressos em $\text{umol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ (NAKANO; ASADA, 1981).

Espectros eletrônicos: Foram determinados no extrato aquoso de folhas de *L. camara* (10% v/v), na região do UV/Vis (200-500nm), registrados em um espectrofotômetro UV/VIS Spectro800S, utilizando-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm e na região de infravermelho (FT-IR), determinados nas folhas (pastilhamento em KBr) e no extrato aquoso de folhas de *L. camara* (10% v/v) (precionado em cristal), em 5 repetições, utilizando-se um espectrômetro IFS-55 (Modelo Opus v. 5.0, Bruker Biospin, Alemanha) com um detector DTGS equipado com um acessório de reflectância total de tamanho único de reflexão dourada (ângulo de incidência 45°). Os espectros foram gravados no modo de absorbância entre 400 e 4000 Cm^{-1} , com SCAN de 16 vezes e abertura de slit de 4,0 Cm^{-1} .

Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS): foi determinado em extrato hidroalcoólico de folhas de *L. camara*. No processo de separação cromatográfica o cromatógrafo empregado foi um HPLC 1290 UHD – QtoF – LC/MSMS (Agilent) cuja fase estacionária empregada foi uma coluna Eclipse Plus C18 – RRHO de 100mm x 2,1 com partículas de 1,8 μm e a fase móvel composta por acetonitrila (B) e água (A) acidificada com 0,1% de ácido fórmico nas análises no modo de ionização positiva ou 0,1% de formiato de amônio nas determinações no modo negativo em análises de 20 minutos para cada injeção. Para detecção dos compostos presentes na amostra, o detector foi configurado no modo scan onde as amostras foram injetadas duas vezes, uma para o modo positivo e outra no modo negativo, para a correta determinação de compostos aceptores ou doadores de prótons, respectivamente, possibilitando a detecção pela técnica espectrométrica dos íons quasimolar formados a partir dos possíveis compostos presentes.

Análises estatísticas: Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Todos os conjuntos de dados foram testados quanto a sua normalidade e homogeneidade de variâncias antes da análise de variância conjunta pelo teste F e a comparação de médias pelo teste de Dunnett, a 1 e 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se o software R (R Core Team, 2017).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 *Bidens pilosa* L. (PICÃO PRETO)

O efeito inibitório do extrato aquoso de *L. camara* na germinabilidade e desenvolvimento das plântulas de *B. pilosa* foi inferior ao efeito inibitório apresentado pelas soluções de PEG a -0,2 e -0,4 MPa (Tabela 2), indicado que o efeito inibitório do extrato foliar de *L. camara* na germinação, IVG e comprimento de plântulas não pode ser explicado por uma limitação na disponibilidade de água, mas sim por um efeito fitotóxico do extrato.

Tabela 2 - Comparativo do efeito das soluções controle, polietilenoglicol e extrato aquoso de folhas de *L. camara* na germinação, IVG e comprimento de plântulas de *B. pilosa*¹.

Solução	Germinação (%)	IVG	Plântulas (cm)
0% (controle)	90 ± 3 a	20,1 ± 1,6 a	5,5 ± 0,5 a
Extrato (5,0%)	68 ± 6 b	11,5 ± 0,9 b	4,5 ± 0,1 b
PEG -0,2 (MPa)	56 ± 4 c	5,2 ± 1,2 c	3,1 ± 0,3 c
PEG -0,4 (MPa)	0 d	0 d	0 d

Notas: ¹ População LAG. Dados representados pela média ± Erro padrão da média. Médias seguidas de mesma letra do controle (0%) na coluna não diferem entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

A população LAG apresentou resultado de germinação das sementes, no tratamento 0% (controle), muito superior (90±3%) ao da população SMA (42±2%). A diferença na germinação pode ser atribuída a diversidade genética das população no desenvolvimento e na deterioração das sementes (Figura 2).

A germinação das sementes de *B. pilosa* não foi afetada pelas concentrações do extrato aquoso de folhas de *L. camara* quando expostas apenas durante a fase I da germinação (Figura 2A). Entretanto observou-se prejuízo a germinação quando as sementes foram expostas ao extrato apenas na fase III ou em todas as fases da germinação. A germinação foi reduzida para 70±6 e 68±6% na população LAG e para 32±2 e 27±2% na população SMA, quando expostas apenas na fase III e para 62±6 e 57±6% na população LAG e para 32±2 e 26±2% na população SMA quando expostas em todas as fases, respectivamente para as concentrações de 3,75 e 5% do extrato (Figura 2A).

Observou-se que o principal prejuízo a germinação foi devido a ocorrência de plântulas anormais, sendo raízes retorcidas a principal anomalia encontrada (Figura 7B). O percentual de plântulas anormais foi significativamente maior que o controle, quando as sementes foram expostas aos aleloquímicos apenas na fase III ou em todas as fases da germinação, nas

concentrações de 3,75 e 5,0% do extrato para a população LAG e em todas as concentrações do extrato para a população SMA (Figura 2B).

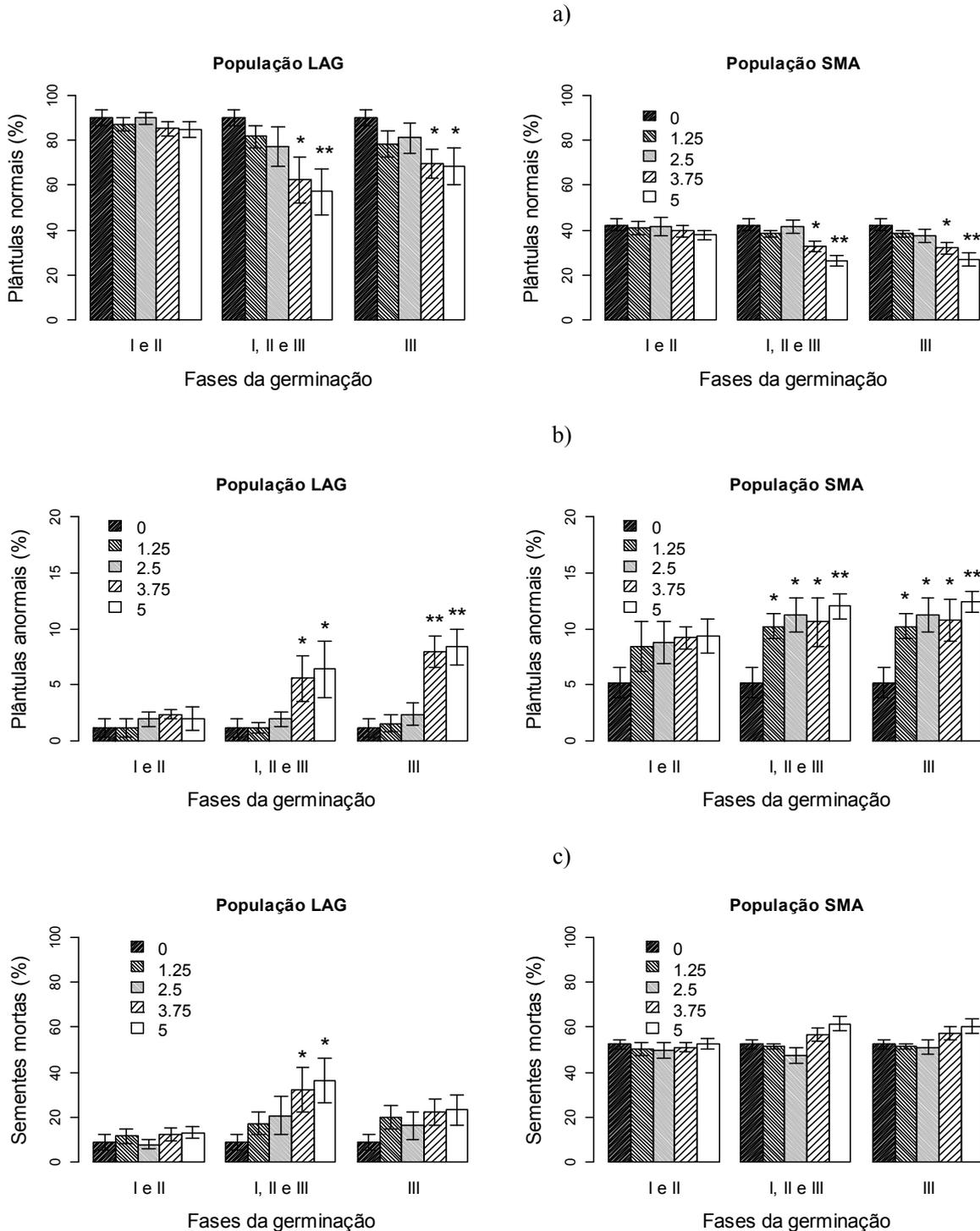
As auxinas são compostos caracterizados pela mediação de respostas trópicas, como dobrar-se em resposta à gravidade e a luz (BEWLEY et al., 2013). A presença de elevado número de plântulas com geotropismo alterado (Figura 7B) pode ser devido a interferências dos fitoquímicos no metabolismo de auxinas.

Outros autores também relatam que extratos de *L. camara* afetaram negativamente a germinação de sementes de diversas outras espécies (GORLA; PEREZ, 1997; HOSSAIN; ALAM, 2010; HUSSAIN et al., 2011; KENANY; DARIER, 2013; MAITI et al., 2010; MANOHAR et al., 2017; MISHRA; SINGH, 2010).

Mesmo não atingindo níveis capazes de prejudicar a germinação das sementes (plântulas anormais e sementes mortas), o extrato quando exposto às sementes durante as fases I e II da germinação provocou redução na velocidade de germinação. A velocidade de germinação foi reduzida significativamente em todas as concentrações testadas em ambas as populações. O IVG foi reduzido de 20,08 no tratamento controle, para 11,51 no tratamento 5,0% na população LAG e de 15,02 no controle para 6,9 no tratamento 5,0% na população SMA (Figura 3). A redução na velocidade de germinação indica uma interferência dos metabolitos alelopáticos nos processos fisiológicos durante as fases I e II da germinação. Nessa fases ocorre a reativação das enzimas mitocondriais do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, bem como a síntese proteica a partir de substratos (enzimas, RNAt, ribossomos, RNAm etc.) presentes na semente madura (BEWLEY et al., 2013; CARDOSO, 2004).

Prejuízo a velocidade de germinação de sementes de *B. pilosa* também foi relatado por Hoffmann et al. (2007) devido à ação de extratos aquosos de *Dieffenbachia picta* Schott. Outros autores apresentam que o extrato aquoso de folhas de *L. camara* também afetou a velocidade de germinação de sementes de *Lycopersicon esculentum* e *Cucumis sativus* (GORLA; PEREZ, 1997).

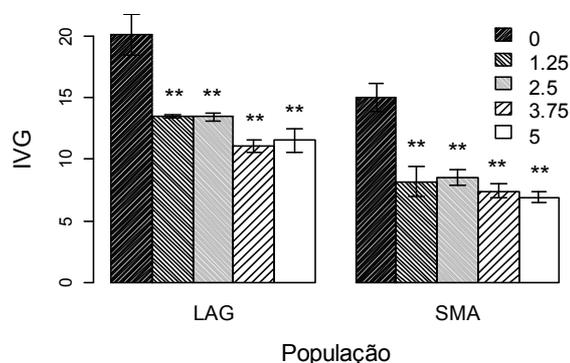
Figura 2 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no percentual de plântulas normais a), plântulas anormais b) e sementes mortas c) das populações LAG e SMA de *B. pilosa* submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação .



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (***) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Figura 3 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no IVG de sementes de *B. pilosa*.



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Com relação ao crescimento das plântulas de *B. pilosa*, o mesmo foi inibido pelo extrato das folhas de *L. camara*, sendo o crescimento radicular o mais afetado quando comparado ao hipocótilo (Figura 4).

Quando as sementes foram submetidas ao extrato nas fases I e II da germinação, o crescimento do hipocótilo foi inibido na população LAG e não foi inibido na população SMA. Nestas mesmas condições o crescimento radicular foi afetado em ambas as populações (Figura 4A). Os danos fitotóxicos causados aos processos de reativação do metabolismo nas sementes durante as primeiras fases da germinação, assim como na velocidade de germinação, também promovem prejuízos ao crescimento inicial das plântulas, possivelmente relacionado à síntese de enzimas ligadas a mobilização de reservas.

Quando as sementes foram expostas ao extrato durante a fase III da germinação, as concentrações de 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% reduziram o tamanho das raízes, comparativamente ao controle, em 49, 46, 51, e 44% na população LAG e em 46, 36, 38 e 55% na população SMA respectivamente (Figura 4B). As sementes quando expostas ao extrato em todas as fases da germinação (fases I, II e III), apresentaram uma inibição do crescimento de plântula a medida que aumentou-se a concentração do extrato, tanto para o hipocótilo quanto raiz, em ambas as populações testadas. Na concentração de 5,0%, o hipocótilo e a radícula foram reduzidos em 26 e 45% na população LAG e em 24 e 47% respectivamente na população SMA (Figura 4C).

O crescimento das plântulas depende da divisão celular, que quando inibida pela ação de aleloquímicos, compromete seu desenvolvimento normal. Tais processos constituem resultados da ação dos aleloquímicos, que atuam diretamente, ou na sinalização de processos

de degradação celular, por meio da produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em estresse oxidativo celular (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007; QIAN et al., 2009). O efeito inibitório sobre o alongamento das plântulas pode ser devido a interferências no metabolismo hormonal. Bogatek e Gniazdowska (2007) relatam que aleloquímicos de girassol induziram um desbalanço hormonal entre ABA e Etileno em sementes de mostarda. O ácido ferúlico, o ácido *p*-cumárico, o ácido vanílico e a cumarina, conhecidos aleloquímicos, inibem a síntese de giberelinas (MISHRA, 2015).

Os ácidos vanílico e gálico foram sugeridos por Moraes et al. (2010) como os responsáveis pela redução da germinação e do crescimento de plântulas de *B. pilosa*, submetidas ao extrato da parte aérea de mourisco (*Fogopyrum esculentum* Moench). Muitos compostos fenólicos são capazes de provocar alterações no equilíbrio hormonal da planta receptora, que em certos casos levam a uma inibição do crescimento. O ácido ferúlico, o ácido *p*-cumárico, o ácido vanílico e a cumarina, conhecidos aleloquímicos e presentes nas folhas de *L. camara*, que também inibem giberelina (MISHRA, 2015).

O extrato aquoso de *L. camara* também inibiu o alongamento de raízes e caules das espécies de *Brassica juncea*, *Raphanus sativus*, *Cucumis sativus*, *Cicer arietinum*, *Vigna mungo* e *Vigna unguiculata* (AHMED et al., 2007), *Parthenium hyaterophorus* (MISHRA; SINGH, 2010), *Phalaris minor* e *Sorghum bicolor* (KENANY; DARIER, 2013), *Albizia lebbeck* e *Dalbergia sissoo* (MANOHAR et al., 2017).

Um dos indicadores do dano da membrana plasmática é a medida de vazamento eletrolítico. Os resultados do teste de condutividade elétrica, nos tempos de 3, 12 e 24 horas, mostraram efeito significativo no extravasamento de solutos das sementes, de ambas as populações, quando expostas ao extrato em todas as concentrações testadas. Quanto maior a concentração do extrato maior a condutividade elétrica (Figura 5). Estes resultados indicam um dano, causado pelos aleloquímicos, ao sistema de reparo das membranas celulares durante a embebição das sementes. Aleloquímicos podem danificar as membranas celulares através da interação direta com um componente da membrana ou podem resultar em comprometimento de alguns processos metabólicos necessários para a manutenção da função da membrana (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007). Autores relatam que aleloquímicos podem rapidamente despolarizar a membrana celular, aumentando a permeabilidade e induzindo peroxidação lipídica (ZENG et al., 2001; YU et al., 2003).

Figura 4 - Efeito das concentrações 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0 % (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no crescimento do hipocótilo (H) e raízes (R) de plântulas de *B. pilosa*, avaliadas aos 7 dias após germinação e submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação (Continua).

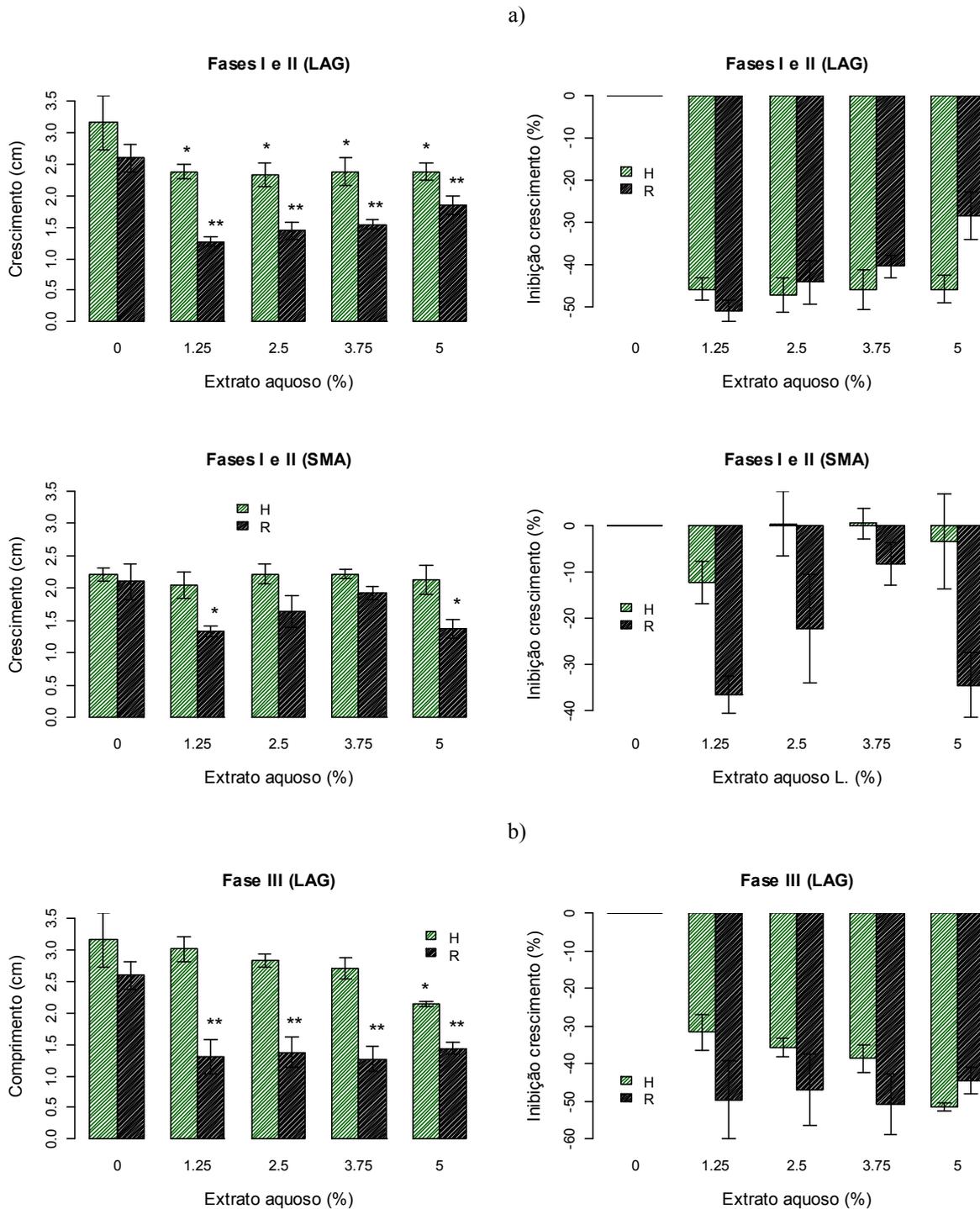
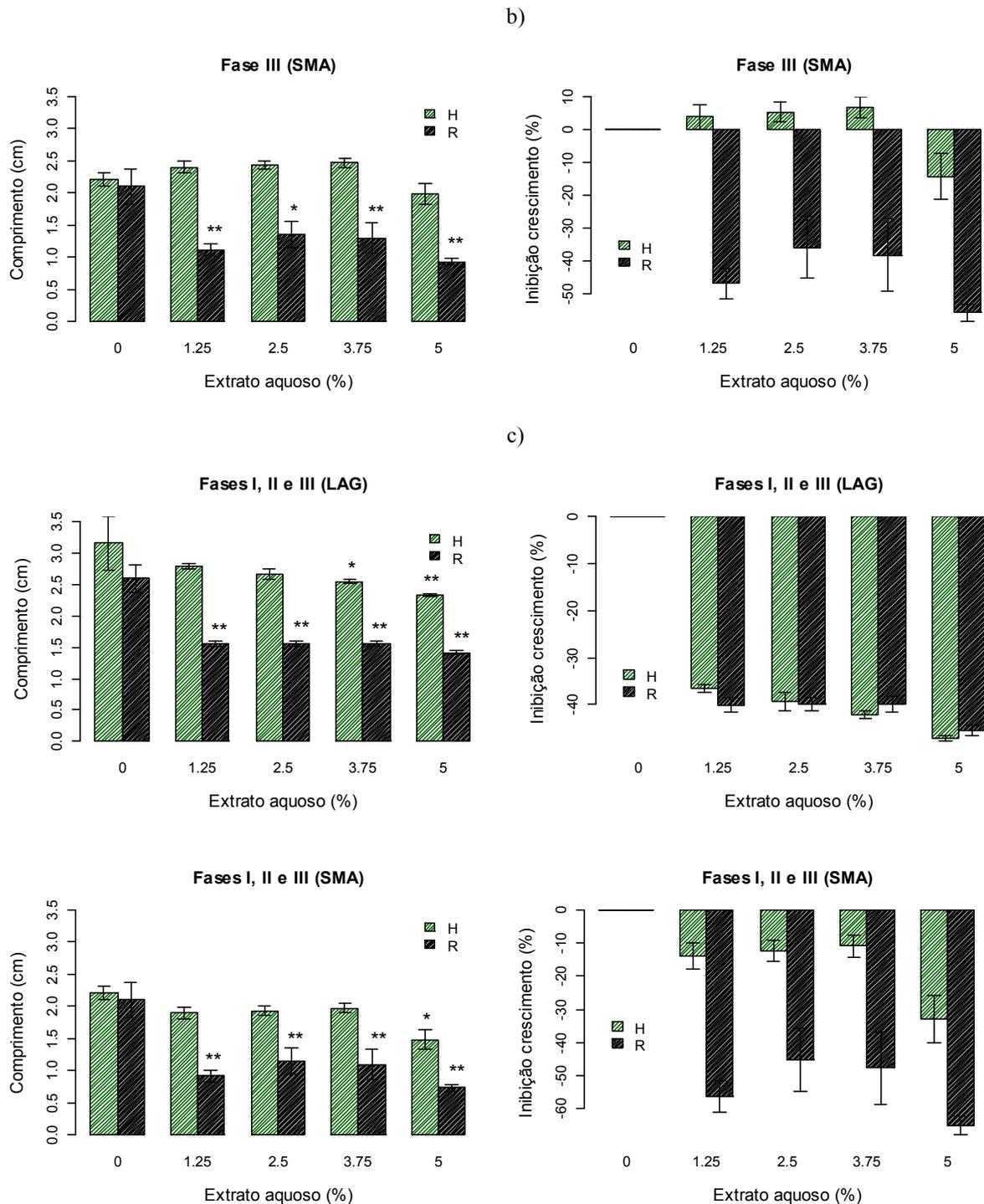


Figura 4 - Efeito das concentrações 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0 % (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no crescimento do hipocótilo (H) e raízes (R) de plântulas de *B. pilosa*, avaliadas aos 7 dias após germinação e submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação (Conclusão).

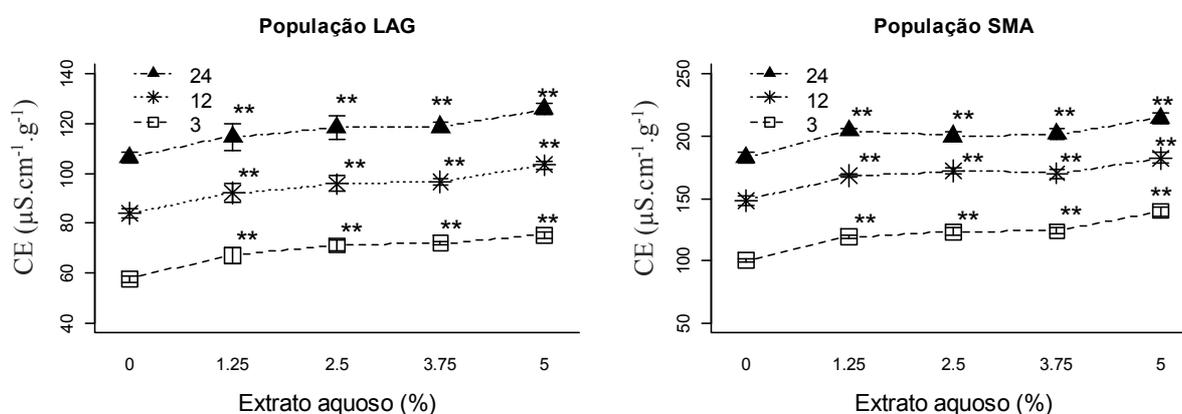


Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Aumonde et al. (2013) também encontrou maior liberação de eletrólitos de sementes de alface com a elevação da concentração do extrato aquoso de *Philodendron bipinnatifidum*. O ácido benzóico, metabolito encontrado em folhas de *L. camara*, tem um efeito nas membranas, sendo capazes de provocar mudanças na polaridade que trariam alterações na estrutura e permeabilidade (MISHRA, 2015; Yi et al., 2006).

Figura 5 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no teste de condutividade elétrica de sementes das populações LAG e SMA de *B. pilosa*.



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade.

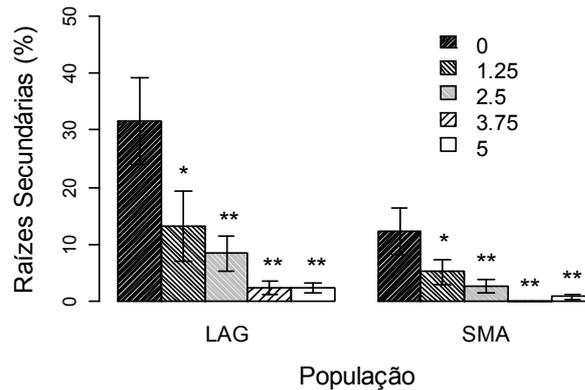
Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Observou-se nos resultados uma redução significativa em relação ao controle, da presença de raízes secundárias nas plântulas avaliadas, em todas as concentrações testadas e em ambas as populações (Figura 6 e 7A). Os resultados de presença de raízes secundárias foram 31,6, 13,2, 8,4, 2,4 e 2,4 para a população LAG e 12,4, 5,2, 2,8, 0 e 0,8 para a população SMA respectivamente para os tratamentos 0; 1,25; 2,5; 5,5; 7,5 e 10% (v/v) do extrato. Ahmed et al. (2007) também relata efeito inibitório no desenvolvimento de raízes secundárias de *B. juncea*, *R. sativus*, *C. sativus*, *C. arietinum*, *V. mungo* e *V. unguiculata* expostas ao extrato aquoso de *L. camara* durante a germinação das sementes. Caspersen et al. (1999) observou que o metabolito secundário ácido ferrúlico provocou a ausência de pêlos radiculares em plântulas de alface.

As auxinas são compostos caracterizados, além da mediação de respostas trópicas, pela sua atividade fisiológica em promover o desenvolvimento de raízes laterais (BEWLEY et al., 2013). A redução ou ausência de raízes secundárias nas plântulas expostas aos aleloquímicos,

podem indicar alterações no metabolismo de auxinas provocados pelos compostos alelopáticos presentes no extrato aquoso de folhas de *L. camara*.

Figura 6 - Efeito das concentrações 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5,0% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no percentual de plântulas com raízes secundárias de *B. pilosa*.



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

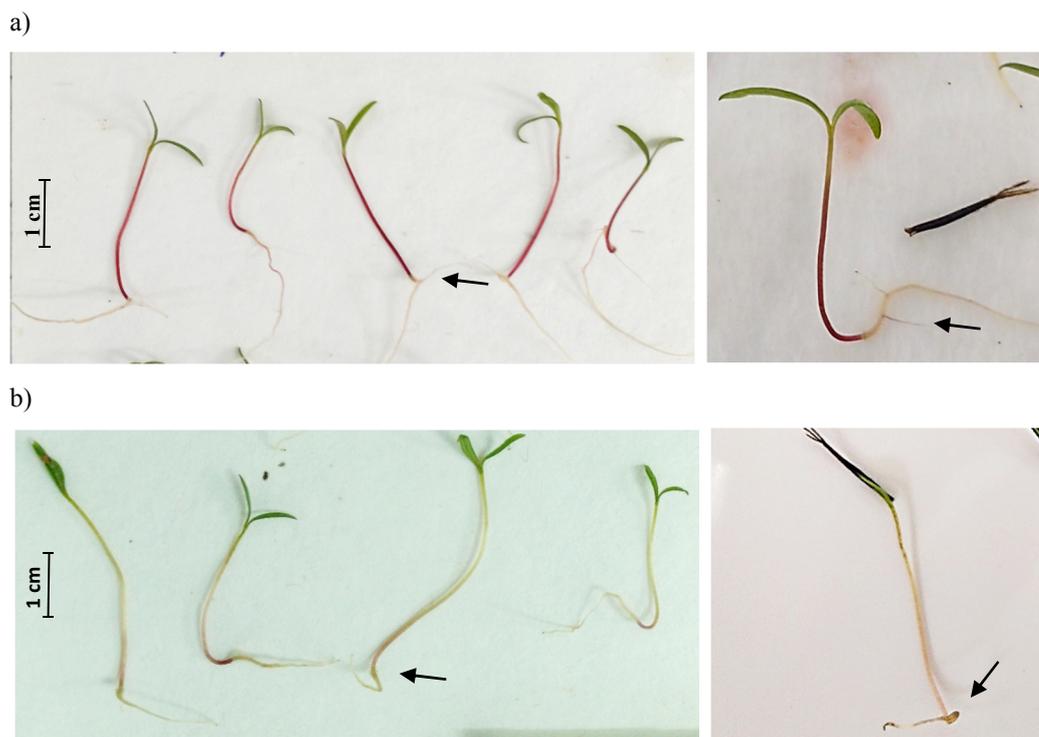
Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os ácidos benzóicos podem estar envolvidos no catabolismo de auxina. Em baixas concentrações, o derivado de ácido benzóico 3,4-dihidroxibenzóico (3,4-DHB), imita a auxina estimulando a formação de calo, enquanto que concentrações mais altas desta molécula inibiram o crescimento radicular de tabaco (MUCCIARELLI et al., 2000). Devido à capacidade da auxina de induzir a síntese de etileno nos tecidos radiculares, as concentrações de auxina de 106 M e acima são consideradas como inibidores do crescimento radicular (TAIZ; ZEIGER, 2013). O 3,4-DHB atuando como um análogo de auxina, poderá estimular a síntese de etileno, o que poderia explicar por que as maiores concentrações dessa molécula inibem o crescimento (WEIR et al., 2004).

As plântula submetidas ao extrato aquoso das folhas apresentaram descoloração do hipocótilo em relação as plântulas controle (Figura 7A e B). As antocianinas são pigmentos dissolvidos em vacúolos dos tecidos epidérmicos com propriedades antioxidantes e os carotenóides também são pigmentos responsáveis pela extinção do oxigênio singlete (KNOX; DODGE, 1985). A ausência de pigmentação no hipocótilo das plântulas expostas ao extrato de *L. camara* pode indicar uma ação de defesa aos agentes tóxicos, onde as antocianinas e carotenóides atuaram como antioxidantes (ABE et al., 2007; LOPEZ AGÜERO et al., 2006). Outros autores também relatam a redução no conteúdo de pigmentos carotenóides em plântulas

expostas a extratos aleloquímicos (HUSSAIN et al., 2017; IBRAHIM et al., 2013; PANDEY et al., 2005) indicando que estes podem estar envolvidos no processo de defesa das plântulas aos compostos tóxicos.

Figura 7 - Plântulas de *B. pilosa* submetidas ao controle a) e ao extrato aquoso de folhas de *L. camara* (5% v/v) b). Presença de raízes secundária b) e de raízes retorcidas b). Hipocótilo vermelho a) e descolorido b).

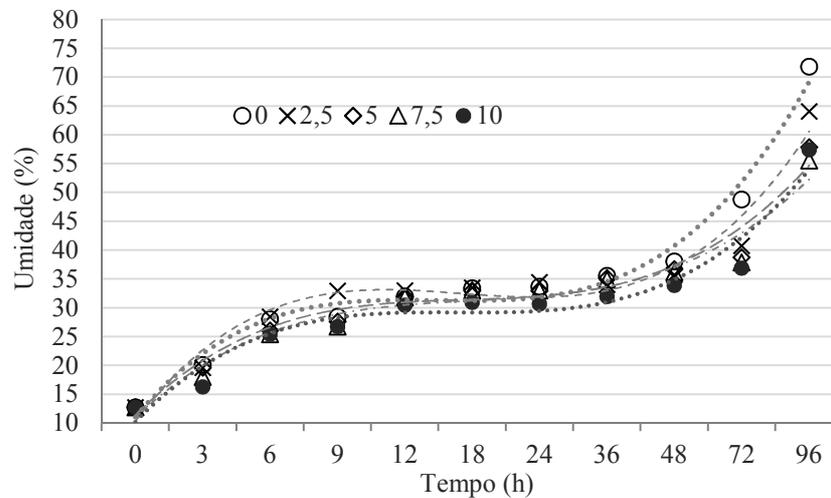


Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

4.2 *Avena sativa* L. (AVEIA BRANCA)

Em plena disponibilidade de água, a embebição apresenta, em muitos casos, uma curva trifásica, onde na fase I, o teor de água na semente aumenta rapidamente, seguido de uma estabilização na fase II, havendo outro aumento no teor de água na fase III. Observou-se na curva de embebição o padrão trifásico da germinação de sementes para todos os tratamentos, com uma rápida absorção de água até 9 horas, uma fase de pouca absorção de água entre 9 e 36 horas, e uma retomada na velocidade de absorção de água após 48 (Figura 8). Os resultados indicam que o potencial osmótico das soluções do extrato aquoso de folhas de *L. camara* não interferiu na absorção de água das sementes.

Figura 8 - Embebição das sementes de *A. sativa* submetidas as concentrações de 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. câmara*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

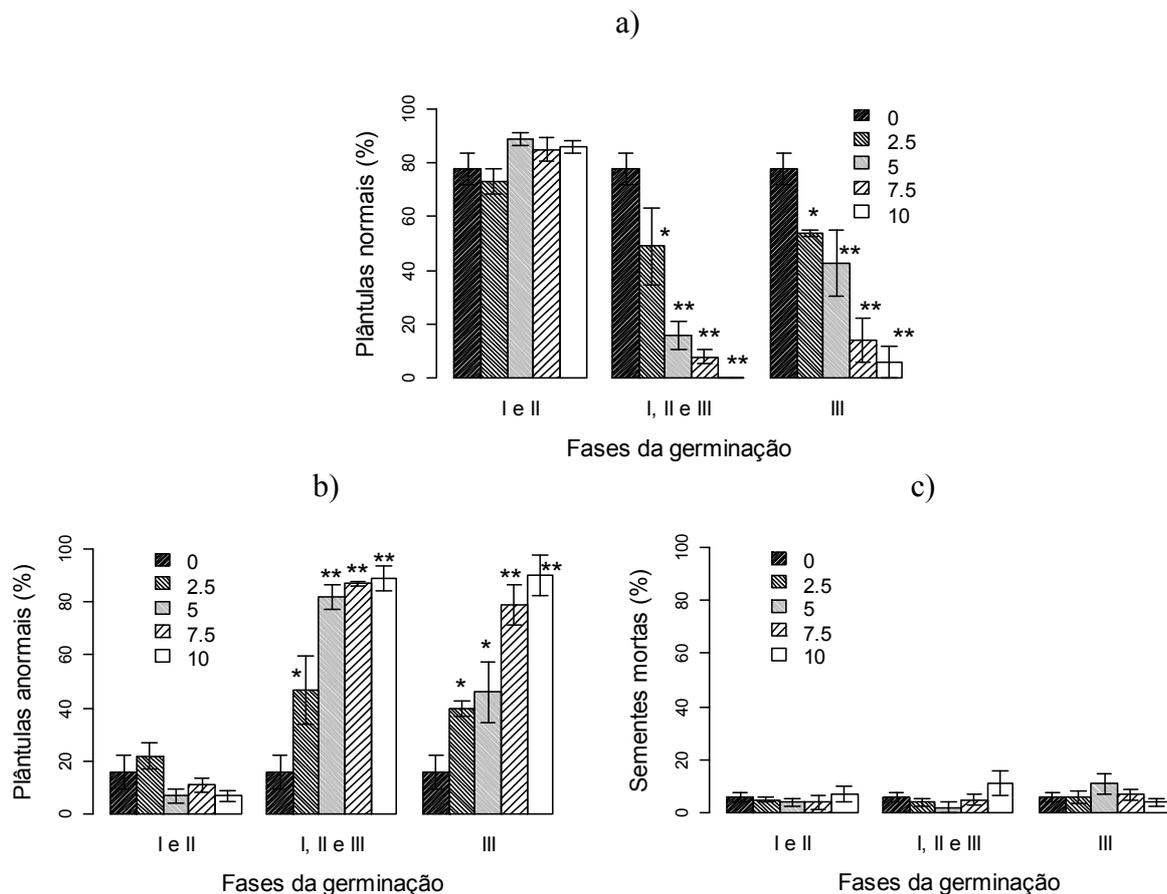
A germinação das sementes de *A. sativa* não foi afetada pelas concentrações do extrato aquoso de folhas de *L. camara* quando expostas apenas durante a fase I e II da germinação (Figura 9A). Entretanto a germinação das sementes de *A. sativa*, quando expostas ao extrato apenas na fase III da germinação, foi afetada significativamente em todas as concentrações do extrato aquoso das folhas de *L. camara* (Figura 9A). A germinação foi reduzida, de 78 ± 5 no tratamento controle, para 54 ± 1 , 43 ± 12 , 14 ± 8 e $6 \pm 6\%$ respectivamente para as concentrações 2,5; 5,0; 7,5 e 10%.

As sementes de *A. sativa*, quando expostas ao extrato durante todas as fases da germinação, também foram afetadas significativamente na germinação em todas as concentrações do extrato aquoso das folhas de *L. camara* (Figura 9A). Neste tratamento, devido ao maior tempo de exposição ao extrato, observou-se um maior prejuízo a germinação das sementes. A germinação foi 100% reduzida, chegando a zero na concentração de 10% (v/v) de folhas de *L. camara*.

Observou-se que o principal prejuízo a germinação foi devido a ocorrência de plântulas anormais, sendo raízes atrofiadas e necrosadas a principal anomalia encontrada (Figura 17B). O percentual de plântulas anormais foi significativamente maior que o controle, quando as sementes foram expostas aos aleloquímicos apenas na fase III, sendo 16, 40, 46, 79, e 90%, ou em todas as fases da germinação, sendo 16, 47, 82, 87, e 89% respectivamente para T0, T2,5, T5, T7,5 e T10 (Figura 9B). Segundo Ferreira e Áquila (2000), o crescimento da plântula é mais sensível aos aleloquímicos, devido as substâncias alelopáticas provocarem a necrose da

radícula e induzem o aparecimento de plântulas anormais. O fitoquímico cumarina, presente em extrato aquoso de folhas de *L. camara* (YI et al., 2006), causa necrose e inibição do crescimento radicular (KUPIDLOWSKA et al., 1994).

Figura 9 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no percentual de plântulas normais a), anormais b) e sementes mortas c), de sementes de *A. sativa*.



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

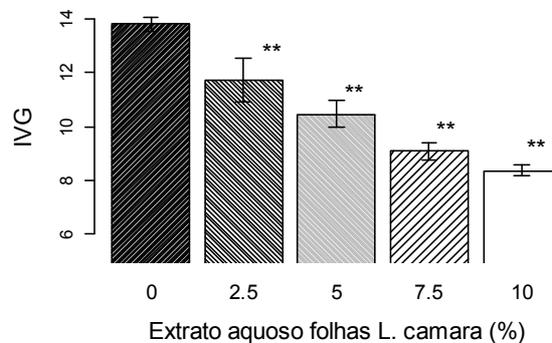
Outros autores também relatam que extratos de *L. camara* afetaram negativamente a germinação de sementes de diversas outras espécies (GORLA; PEREZ, 1997; HOSSAIN; ALAM, 2010; HUSSAIN et al., 2011; KENANY; DARIER, 2013; MAITI et al., 2010; MANOHAR et al., 2017; MISHRA; SINGH, 2010.). Tucat et al. (2013) encontraram efeito alelopático de extratos aquosos de *Baccharis ulicina* sobre a germinação de *A. sativa*.

Mesmo não atingindo níveis capazes de prejudicar a germinação das sementes (plântulas anormais e sementes mortas), o extrato quando exposto às sementes durante as fases I e II da

germinação provocou redução na velocidade de germinação. A velocidade de germinação foi reduzida significativamente em todas as concentrações testadas em ambas as populações.

O IVG foi reduzido de $13,8 \pm 0,3$ no tratamento controle, para $11,7 \pm 0,8$, $10,5 \pm 0,5$, $9,1,73 \pm 0,3$, $8,4 \pm 0,2$ nas concentrações 2,5; 5,0; 7,5 e 10% respectivamente (Figura 10). O atraso na emissão da radícula pode estar relacionada a interferência dos aleloquímicos, presentes no extrato, nos processos bioquímicos, como reativação das enzimas mitocondriais do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, bem como a síntese proteica a partir de substratos (enzimas, RNAt, ribossomos, RNAm etc.), que ocorrem durante a fase I e II da germinação (BEWLEY et al., 2013; CARDOSO, 2004). Outros autores apresentam que o extrato aquoso de folhas de *L. camara* também afetou a velocidade de germinação de sementes de *Lycopersicon esculentum* e *Cucumis sativus* (GORLA; PEREZ, 1997). Aleloquímicos presentes em extratos de *Baccharis ulicina* e *Pinus taeda* também reduziram significativamente a velocidade de germinação de sementes de *A. sativa* (TUCAT et al. 2013).

Figura 10 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* no IVG de sementes de *A. sativa*.



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média ± Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

O crescimento das plântulas de *A. sativa*, quando as sementes foram submetidas aos extratos apenas nas fases I e II da germinação afetou negativamente o desenvolvimento do epicótilo, não afetando o crescimento radicular. As concentrações de 2,5 e 5,0% inibiram o crescimento do epicótilo em 18 e 16% respectivamente em relação ao controle (Figura 11A).

Entretanto, quando as sementes foram submetidas ao extrato apenas durante fase III da germinação, o crescimento radicular e da parte aérea foram afetados negativamente pelo extrato aquoso das folhas de *L. camara*, sendo o crescimento do epicótilo o mais afetado. A

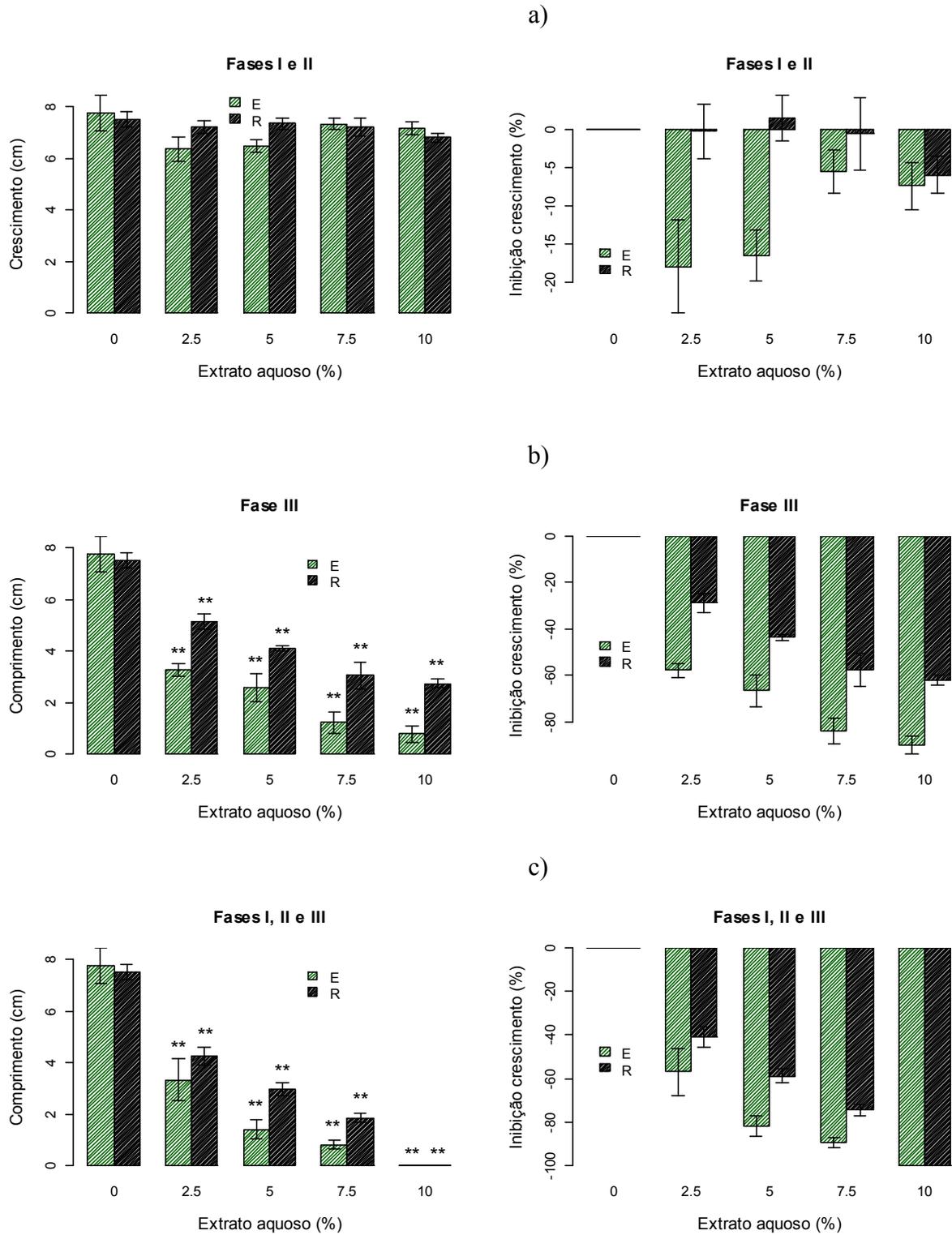
exposição aos aleloquímicos apenas na fase III da germinação, para as concentrações 2,5; 5,0; 7,5 e 10% respectivamente, reduziram o tamanho dos epicótilos, comparativamente ao controle, em 57, 66, 84 e 90% e das raízes em 28, 43, 57 e 62% (Figura 11B). As sementes quando expostas ao extrato em todas as fases da germinação, também apresentaram inibição do crescimento de plântula, tanto para o epicótilo quanto radícula. A inibição de crescimento, para as concentrações 2,5; 5,0; 7,5 e 10% respectivamente, comparativamente ao controle, foi de 57, 81, 89 e 99% para epicótilos e de 41, 58, 74 e 99% para raízes (Figura 11C).

O crescimento das plântulas depende da síntese de DNA, divisões mitóticas e da mobilização das substâncias de reserva das sementes (BEWLEY et al., 2013; CARDOSO, 2004), que quando inibida pela ação de aleloquímicos, compromete seu desenvolvimento normal. Outros autores também correlacionaram uma redução drástica do índice mitótico ao efeito citotóxico nas células da ponta da raiz, com modificações morfológicas e necrose, provocada pelos aleloquímicos presentes em extratos aquosos de *Capparis spinosa* L. e *Cleome arabica* L. (LADHARI et al., 2014). Os compostos alelopáticos presentes no extrato aquoso de *L. camara* também inibiram o alongamento de raízes e caules, durante a germinação, das espécies de *Phalaris minor* e *Sorghum bicolor* (KENANY; DARIER, 2013).

Um dos indicadores do dano da membrana plasmática é a medida de vazamento eletrolítico. Os resultados do teste de condutividade elétrica, nos tempos de 3, 12 e 24 horas, mostraram efeito significativo no extravasamento de solutos das sementes quando expostas ao extrato em todas as concentrações testadas. Quanto maior a concentração do extrato maior a condutividade elétrica (Figura 12). Estes resultados indicam um dano ao sistema de reparo das membranas celulares durante a embebição das sementes, causado pelos aleloquímicos presentes no extrato.

Estudos mostram que o aumento da vazão eletrolítica de raízes de *Echinochloa crus-galli* sob o estresse de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* é resultado de dano a integridade de membranas (POONPAIBOONPIPAT et al., 2013). Reigosa et al. (2001) relataram que o estresse do ácido hidroxâmico, conhecido aleloquímico, aumentou significativamente o vazamento de eletrólitos das raízes de alface após 4 horas. Aumonde et al. (2013) também encontrou maior liberação de eletrólitos de sementes de alface com a elevação da concentração do extrato aquoso de *Philodendron bipinnatifidum*.

Figura 11 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* na inibição de crescimento do epicótilo (E) e raízes (R) de plântulas de *A. sativa*, submetidas ao extrato durante as fases I e II a), III b) e I, II e III c) da germinação.

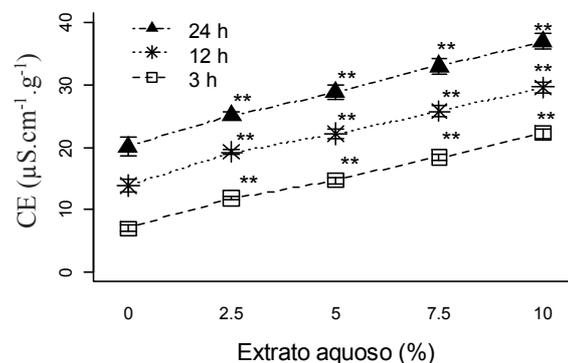


Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (***) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Aleloquímicos podem danificar as membranas celulares através da interação direta com um componente da membrana ou podem resultar em comprometimento de alguns processos metabólicos necessários para a manutenção da função da membrana (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007). Autores relatam que aleloquímicos podem rapidamente despolarizar a membrana celular, aumentando a permeabilidade e induzindo peroxidação lipídica (YU et al., 2003; ZENG et al., 2001). A toxicidade de muitas quinonas e fenóis pode ser atribuída em grande parte à formação de radicais de semiquinona que doam elétrons para o oxigênio molecular, formando espécies reativas de oxigênio - ROS (HAMMOND-KOSAK; JONES, 1996; TESTA, 1995). Posteriormente, esses radicais podem afetar a permeabilidade da membrana, causar danos ao DNA e proteínas e gerar moléculas de sinalização de peroxidação lipídica (WEIER et al., 2004), resultando na formação de vários produtos, incluindo malondialdeído (MDA) (MANESS et al., 1999).

Figura 12 - Efeito das concentrações 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% (v/v) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* (v/v) no teste de condutividade elétrica de sementes de *A. sativa*.



Notas: Médias diferem do controle pelo teste de Dunnett a (**) 1% ou (*) 5% de probabilidade. Dados representados pela média ± Erro padrão da média.

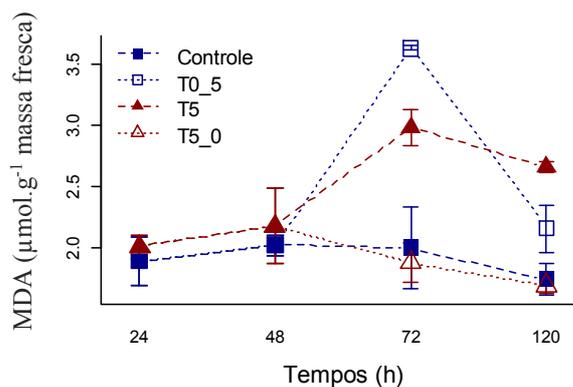
Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os teores de MDA foram pouco maiores no tratamento T5 ($2,0 \pm 0,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$ e $2,2 \pm 0,3 \mu\text{mol.g}^{-1}$) que no controle ($1,9 \pm 0,2 \mu\text{mol.g}^{-1}$ e $2,0 \pm 0,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$) nos tempos de 24 e 48h de germinação, apresentando uma grande elevação, no tratamento T5 em 72h ($3,0 \pm 0,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$) e permanecendo alto às 120h ($2,7 \pm 0,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$) de exposição ao extrato. Quando as sementes foram retiradas do estresse nas 48h de germinação, observou-se 24h após, no tempo de 72h, uma redução nos níveis de MDA ($1,8 \pm 0,2 \mu\text{mol.g}^{-1}$), e na situação oposta, quanto as sementes foram expostas ao extrato nas 48h de germinação, observou-se, 24h após, uma grande elevação ($3,6 \pm 0,1 \mu\text{mol.g}^{-1}$) (Figura 13). Os teores elevados de MDA nas sementes expostas ao estresse

demonstram uma maior peroxidação lipídica, indicando que os aleloquímicos presentes no extrato de *L. camara* provocaram elevado grau de estresse oxidativo.

Ladhari et al. (2014) relatam que os níveis de MDA também aumentaram em raízes e folhas de alface após o tratamento com extratos aquosos de *C. spinosa* e *C. arábica*. Os ácidos ferulícos e p-coumarícos aumentaram a peroxidação de lipídios nas raízes de milho, ervilha e rabanete (GMEREK; POLITYCKA, 2011). A peroxidação lipídica também foi observada em soja submetida ao extrato fenólico de *Brassica napuse* (HADDADCHI; GERIVANI, 2009) e em sementes de mostarda (*Sinapis alba* L.) submetidas ao extrato de *Helianthus annuus* L. (ORACZ et al., 2007).

Figura 13 - Teores de malondialdeído (MDA) ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ massa fresca) em sementes de *A. sativa* submetidas ao extrato de *L. camara*.



Notas: Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.
Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Embora os aleloquímicos atuem como inibidores da germinação das sementes, seu modo de ação muitas vezes não é claro. O estresse oxidativo participa do fenômeno fitotóxico (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007; WEIR et al., 2004).

Condições fisiológicas de estresse, bem como a fotossíntese e a respiração, levam a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que são sequestrados por sistemas antioxidantes, de natureza enzimática e não enzimática, confinados em diversos compartimentos celulares nas plantas (APEL; HIRT, 2004). Mecanismos não enzimáticos incluem a prolina, flavonoides e carotenoides. Por sua vez, mecanismos enzimáticos em plantas incluem, entre outras enzimas, a superóxido dismutase – SOD, ascorbato peroxidase - APX e a catalase - CAT. SOD atua como primeira linha de defesa, dismutando o íon superóxido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2). APX e CAT subsequentemente detoxificam o peróxido de

hidrogênio. O estresse oxidativo celular é função da quantidade de ROS, no entanto, o balanço de SOD, APX e CAT é crucial à supressão do efeito tóxico das ROS (APEL; HIRT, 2004).

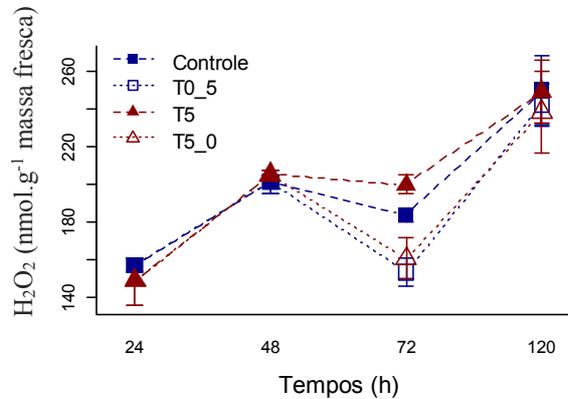
Observou-se, nas 24 horas de germinação, o teor de H_2O_2 de 148 ± 4 $nmol.g^{-1}$ para o controle e de 157 ± 12 $nmol.g^{-1}$ para as sementes expostas ao extrato, com uma elevação para 200 ± 6 e 204 ± 2 $nmol.g^{-1}$ de H_2O_2 nas 48 horas respectivamente (Figura 14). Os resultados mostraram que não houveram diferenças até 48 horas de germinação nos teores de H_2O_2 nas sementes de *A. sativa* expostas ou não aos aleloquímicos de *L. camara*. A elevação no teor de H_2O_2 nas sementes em ambos os tratamentos pode ser explicada pelo fato de que nas sementes ortodoxas, a embebição (fase I da germinação) reativa a respiração mitocondrial, e esses processos geraram um excesso de ROS (BAILLY et al., 2008; KRANNER et al., 2010).

Em 72 horas de germinação, quando as sementes já estavam na fase III, observou-se a manutenção do teor de H_2O_2 nas sementes expostas ao extrato (200 ± 5 $nmol.g^{-1}$) e uma pequena redução do conteúdo nas sementes controle (182 ± 3 $nmol.g^{-1}$). Níveis mais altos nas sementes expostas ao extrato podem ser explicados pelo fato das mesmas permanecerem em estresse durante o desenvolvimento das plântulas. Alguns estudos relataram que metabolitos alelopáticos causaram acumulação de H_2O_2 em algumas plantas (MUTLU et al., 2011; ORACZ et al., 2007; POLITYCKA, 1996; SINGH et al., 2006, 2009). Entretanto observou-se que ambos os tratamentos das sementes que foram retiradas do estresse ou submetidas ao estresse após 48 horas de germinação apresentaram uma grande redução do teor de H_2O_2 em 72 horas, 160 ± 11 $nmol.g^{-1}$ e 153 ± 7 $nmol.g^{-1}$ respectivamente. O teor de H_2O_2 nas plântulas de *A. sativa* em 120 horas de germinação foi elevado para níveis de 250 ± 18 $nmol.g^{-1}$ (T0), 248 ± 16 $nmol.g^{-1}$ (T5), 241 ± 11 $nmol.g^{-1}$ (T0_5), 238 ± 21 $nmol.g^{-1}$ (T5_0), semelhante para todos os tratamentos (Figura 14).

Bogatek e Gniazdowska (2007) relatam que aleloquímicos de girassol induziram um desbalanço hormonal entre ABA e Etileno em sementes de mostarda, provocado pelo acúmulo de H_2O_2 nas sementes. O efeito inibitório sobre o crescimento das plântulas de *A. sativa* (Figura 11) pode também ser devido a um desbalanço hormonal entre ABA e Etileno, sinalizada pelo acúmulo de H_2O_2 , provocado pelo efeito fitotóxico do extrato, nas 72 horas de germinação (Figura 14).

Em alguns casos, um aleloquímico pode estar diretamente envolvido na produção de ROS, enquanto que o aumento das enzimas oxidantes é uma resposta secundária ao aumento dos radicais livres. Em outros casos, o aleloquímico pode inibir diretamente as enzimas oxidantes por danos gerais na síntese de proteínas deixando a planta vulnerável ao dano oxidativo (BAILS et al., 2003; MUSCOLO et al., 2001; WEIR et al., 2004).

Figura 14 - Teores de H_2O_2 ($nmol.g^{-1}$ de massa fresca) em sementes de *A. sativa* submetidas ao extrato de *L. camara*.



Notas: Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os níveis da enzima catalase - CAT nas sementes expostas ao extrato de *L. camara* apresentaram-se maiores que o controle após 24h de germinação, $14,3 \pm 1,6$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$ (T5) e $6,2 \pm 0,5$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$ (Controle), entretanto em 48h de germinação apresentaram-se menores no tratamento T5 ($31,5 \pm 1,6$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$) que no controle ($50,6 \pm 0,4$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$) (Figura 15A). A elevação nos níveis de CAT até 48h, do tratamento controle, pode ser explicada pelo acúmulo de H_2O_2 e outras ROS, possivelmente provocado pela reativação da respiração mitocondrial. Em 72h, observou-se também, quando as sementes foram expostas ao extrato após 48h de germinação (Tratamento 0_5), uma elevação nos níveis de CAT após 24h de exposição ($72,8 \pm 2,8$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$) e uma redução no tempo seguinte ($46,2 \pm 1,4$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$). Em situação inversa, observando-se a capacidade de recuperação das plântulas após o estresse, quando as sementes foram retiradas da exposição ao extrato (Tratamento 5_0), observa-se também uma elevação ($43,8 \pm 4,5$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$), porém menor que no tratamento 0_5, nos níveis de CAT em 72h, permanecendo semelhante no tempo seguinte ($48,9 \pm 8,6$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$) (Figura 15A).

Em 72h, na fase de desenvolvimento de plântulas, a atividade da enzima CAT apresentou um declínio para o controle ($33,5 \pm 1,4$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$), apresentando-se semelhante ao tratamento T5, que manteve o mesmo nível que em 48h ($29,8 \pm 6,4$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$). Em 120h a atividade de CAT também apresentou um declínio, sendo de $19,5 \pm 2,1$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$ e $15,8 \pm 3,2$ $umol.min^{-1}.mg\ prot^{-1}$ respectivamente para os tratamentos controle e T5 (Figura 15A).

Atividade mais alta de CAT, logo após a exposição (24h), nos tratamentos expostos aos aleloquímicos, ocorreram possivelmente devido a sinalização pelo maior acúmulo de ROS provocado pelo extrato, e níveis menores que o controle após 48h de exposição, ocorreram possivelmente pela ação da enzima para neutralização das ROS ou por redução na síntese de proteínas. Oracz et al. (2007) relatam aumento da atividade de CAT em sementes de mostarda (*Sinapis alba* L.) submetidas ao extrato de *Helianthus annuus* L. até 8 dias de germinação. Entretanto autores, como Pandey et al. (2005), relatam uma redução na atividade da CAT em plantas (*Chara zeylanica*) submetidas ao estresse alelopático (hidroquinona). Lin et al., (2000) também relatam que extratos aquosos de arroz bloquearam a atividade de catalase em *Echinochloa crus-galli*.

A atividade da enzima Ascorbato peroxidase (APX) apresentou-se semelhante entre o controle ($0,9 \pm 0,4$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) e as sementes expostas aos aleloquímicos ($0,8 \pm 0,2$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) nas 24h de germinação. Observou-se uma grande elevação na atividade da APX nas sementes expostas ao estresse nas 48h ($3,0 \pm 0,1$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) e uma redução em 72h ($1,7 \pm 0,5$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) e 120h ($0,9 \pm 0,1$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) (Figura 15B). Níveis mais altos em 48 h ocorreram possivelmente devido a sinalização pelo acúmulo de ROS provocado pelo extrato e níveis menores em 72 e 120h possivelmente pela ação da enzima para neutralização das ROS. Muscolo et al. (2001) relatam que compostos fenólicos tais como o ácido vanílico, p-cumárico e p-hidroxibenzóico foram capazes de inibir a atividade enzimática em plântulas. Essas substâncias são encontrados em folhas de *L. camara* (MISHRA, 2015; YI et al., 2006).

O tratamento controle permaneceu com níveis baixos de atividade da enzima APX ($0,6 \pm 0,2$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) até 48h de germinação, tendo seus níveis elevados durante a fase III da germinação para $1,6 \pm 0,3$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ em 72h e $2,8 \pm 0,1$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ em 120h (Figura 15B).

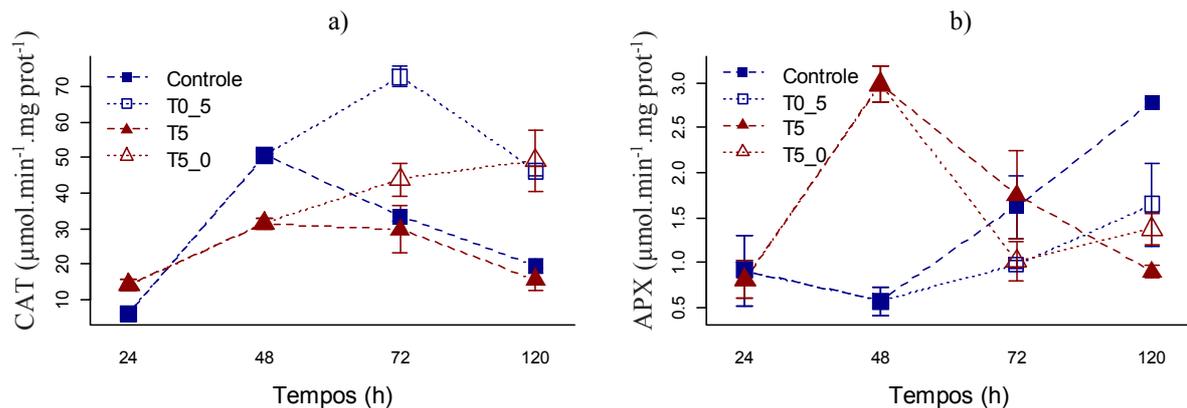
Do mesmo modo que no tratamento T5, em 72h, observou-se, quando as sementes foram expostas ao extrato após 48h de germinação (Tratamento 0_5), uma elevação nos níveis de APX após exposição aos aleloquímicos, sendo $1,0 \pm 0,1$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ (72h) e $1,6 \pm 0,5$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ (120h). Em situação inversa, quando as sementes foram retiradas da exposição ao extrato (Tratamento 5_0), observa-se uma redução na atividade de APX ($1,0 \pm 0,2$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$), 24h após retiradas do estresse e uma elevação após este momento ($1,4 \pm 0,2$ $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) em 120h (Figura 15B).

As sementes ortodoxas entram em quiescência sem conteúdo de APX, sendo o ciclo ascorbato-glutationa (via de Halliwell-Asada) ativado durante as fases II ou III da germinação

(HERNÁNDEZ-PÉREZ et al., 2015). A APX é uma das principais enzimas da via de Halliwell-Asada. A ASC é necessária para a atividade de dioxigenases, que estão envolvidas na síntese de hormônios como etileno, ácido giberélico e abscisico ácido, entre outros, que são necessários para o ciclo celular e divisão celular em radículas (NAMBARA; MARION-POLL, 2003). Os baixos níveis de APX nas sementes expostas ao extrato de *L. camara* podem explicar o menor desenvolvimento radicular das plântulas de *A. sativa* (Figura 15B).

Hernández-Pérez et al. (2015) também encontraram níveis de APX menores em plântulas de *Alvaradoa amorphoides* submetidas a restrição hídrica e Pandey et al. (2005) relata também que a hidroquinona reduziu a atividade da APX em plantas de *C. zeylanica* no tempo 72h, porém neste caso também foi menor em 24 e 48h.

Figura 15 - Atividade de Catalase (CAT) ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) a) e Ascorbato peroxidase (APX) ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prot}^{-1}$) b) em sementes de *A. sativa* submetidas ao extrato de *L. camara*.



Notas: Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.
Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

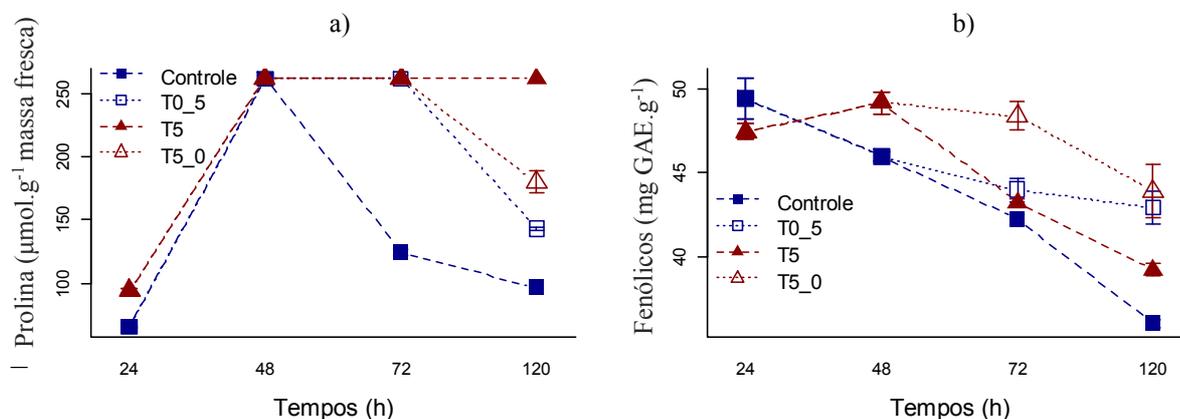
Observou-se no estudo uma elevação nos níveis de prolina até 48h, tanto no estresse ($261\pm 0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) como no controle ($262\pm 0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$), entretanto os níveis permanecem altos, $262\pm 0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ em 72h e $261\pm 0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ em 120h e reduzem-se no tratamento controle para $124\pm 2,4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ em 72h e $96\pm 0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ em 120h (Figura 16A). De acordo com Singh e Rao (2003), a prolina protege as proteínas da desnaturação, o que pode explicar a elevação e manutenção de teores elevados nas plântulas submetidas ao estresse, como tentativa de defesa das plântulas ao dano aleloquímico. O aumento do conteúdo de prolina também foi registrado em *Triticum turgidum* e em *Pisium sativum* em resposta a aplicação do fitoquímico, relatado presente em folhas de *L. camara* (Tabela1), cumarina (ABENAVOLI et al., 2006), em *Tagetes erecta* sob tratamento com lixiviados de *Jatropha curcas* (WANG et al., 2009) e em folhas de

trigo com extrato aquoso de folhas de milho (IBRAHIM et al., 2013). Mais recentemente Ladhari et al. (2014) também observaram acumulação do nível de prolina em folhas de alface em resposta ao extrato metanólico de *Cleome arábica*, entretanto, nas raízes, essa acumulação foi reduzida.

O conteúdo de compostos fenólicos nas sementes de *A. sativa* apresentaram uma redução ao longo da germinação no tratamento controle e no tratamento exposto ao extrato (T5), entretanto o conteúdo de fenólicos apresentou-se mais elevado no tratamento T5 nos tempo de 48, 72 e 120h. Em 24h o conteúdo de fenólicos foi de $49,5 \pm 1,2$ mg GAE.g⁻¹ e $47,5 \pm 0,5$ mg GAE.g⁻¹ e em 120h de $36,1 \pm 0,2$ mg GAE.g⁻¹ e $39,3 \pm 0,4$ mg GAE.g⁻¹ respectivamente para o controle e T5. Observou-se também uma redução, nos tempo de 72 e 120h, no conteúdo de fenólicos nas sementes que foram retiradas do estresse (Tratamento 5_0) e expostas ao estresse (Tratamento 0_5) após 48h de germinação. Em 72h o conteúdo de fenólicos foi de $48,3 \pm 0,8$ mg GAE.g⁻¹ e $43,9 \pm 1,6$ mg GAE.g⁻¹ e em 120h de $43,9 \pm 0,7$ mg GAE.g⁻¹ e $42,9 \pm 1,0$ mg GAE.g⁻¹ respectivamente para tratamento 5_0 e tratamento 0_5 (Figura 16B).

Djanaguiraman et al. (2005), também relatam que os aleloquímicos aumentaram o teor de fenólicos em sorgo e feijão, entretanto Ladhari et al. (2014) relatam uma elevação em raízes e uma redução em folhas de alface, e Pandey et al. (2005) uma redução em plantas de *Chara zeylanica*. Compostos fenólicos são metabolitos que podem atuar como defesa ao estresse fisiológico e também como aleloquímico (TAIZ; ZEIGER, 2013), dependente de cada composto, desta forma é difícil afirmar que os compostos fenólicos encontrados durante a germinação nas sementes de *A. sativa* foram produzidos pelas sementes como forma de atenuar o estresse ou são oriundos do extrato de *L. camara*.

Figura 16 - Teores de Prolina ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ massa fresca) a) e Fenólicos (mg GAE.g⁻¹) b) em sementes de *A. sativa* submetidas ao tratamento de *L. camara*.



Notas: Dados representados pela média \pm Erro padrão da média.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Figura 17 - Plântulas de *A. sativa* no tratamento controle a) e submetidas ao extrato aquoso de folhas de *L. camara* 5% (v/v) b).



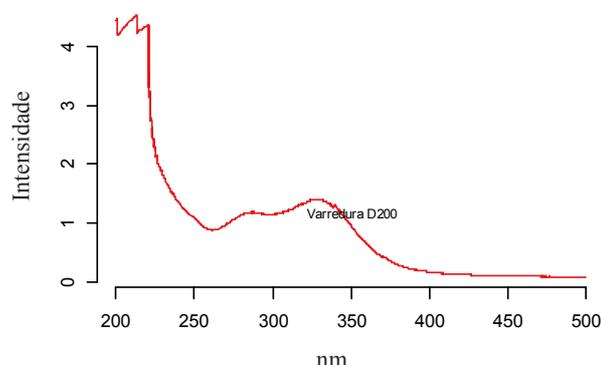
Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

4.3 PERFÍL FITOQUÍMICO DO EXTRATO AQUOSO DE *L. camara*

O espectro eletrônico de varredura, obtido na região UV-Vis (200 a 500 nm), do extrato aquoso das folhas de *L. camara* (10% v/v), apresentou picos de absorvância em 205, 215, 240, 285, 305, 330 e 345 nm (Figura 18). Os compostos fenólicos exibem forte absorvância na região ultravioleta – UV (200 a 400 nm). Compostos fenólicos alelopáticos como o ácido ferúlico exibe uma absorvância máxima a 215 nm com absorvâncias adicionais a 287 nm e 312 nm, o ácido p-coumarico exibe uma absorvância máxima a 286 nm com absorventes adicionais a 209 nm e 220 nm e a catequina e epicatequina absorvem fortemente a 280 nm (HOLSER, 2012). A maioria dos flavonóides mostra uma banda de absorção na região de 210 a 290 nm e uma segunda banda na região de 320 a 380 nm (BLOOR, 2001).

O resultados indicaram a presença de compostos fenólicos e flavonóides no extrato, entretanto geralmente os espectros da região UV-Vis não apresentam um número suficiente de estruturas finas que permitam identificar um analito de forma inequívoca. Assim dados qualitativos da região ultravioleta devem ser complementados com outras análises (HOLSER, 2012).

Figura 18 - Espectros eletrônicos de absorção no UV-Vis (200-500 nm) do extrato aquoso de folhas de *L. camara* 10% (v/v).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

O extrato aquoso de folhas de *L. camara* apresentou teores de $336,8 \pm 6,2$ mg GAE. ml^{-1} e $124 \pm 5,3$ mg QE. ml^{-1} para compostos fenólicos e flavonóides respectivamente. Outros autores relatam a presença de compostos fenólicos e flavonóides em extrato metanólico de folhas de *L. camara* (YADAV et al., 2017), entretanto em menor quantidade, $144,7 \pm 1,34$ mg GAE. g^{-1} e $12,44 \pm 2,85$ mg QE. g^{-1} de extrato seco (BADGUJAR et al., 2017) e $40,85 \pm 0,01$ mg GAE. g^{-1} e $53,11 \pm 0,19$ mg QE. g^{-1} de extrato seco (NAZ; BANO, 2013). Os resultados de quantificação confirmaram a presença de compostos fenólicos e flavonóides no extrato, indicado nos espectros de UV-Vis e sinalizando a hipótese de estarem nestes grupos químicos as substâncias metabólicas causadoras da alelopatia na germinação de *B. pilosa* e *A. sativa*.

Os espectros de absorção na região de infra vermelho FT-IR, reforçaram as evidências da presença de ácidos fénólicos alelopáticos e trouxeram evidências da presença de terpenóides alelopáticos nas folhas e extrato aquoso das folhas de *L. camara*.

Os espectros FT-IR das folhas apresentaram 12 picos de absorção (Figura 19 A), onde as bandas em 3396 e 3388 cm^{-1} podem estar relacionadas ao alongamento de vibração de grupos hidroxílicos, relacionados a ligação intermolecular de OH em álcool (KUMAR et al., 2015) e em ácidos carboxílicos (OLIVEIRA et al., 2016). A banda 2927 cm^{-1} encontrada está relacionada ao estiramento assimétrico de C-H de grupos $-\text{CH}_3$ ou $-\text{CH}_2$ em ácidos corboxílicos (LU; RASCO, 2012; OLIVEIRA et al., 2016) ou ligação intermolecular de OH em álcool (KUMAR et al., 2015).

A banda encontrada em 1640 cm^{-1} (Figura 16 A), pode ser devido a vibrações de alongamento de grupos C = C de áneis aromáticos de β -Pinene e β -Caryophylleno (OLIVEIRA et al., 2016; SCHULZ; BARANSKA, 2007), vibrações de estiramento de grupos C=O de

cetonas ou alcenos conjugados (KUMAR et al., 2015) ou aminas e grupos carboxílicos, vibração de flexão assimétrica de N-H de aminas, vibração de alongamento C=O de ácido caféico, de lipídios ou de flavonóides (OLIVEIRA et al., 2016).

O derivado do ácido salicílico, ácido 2,4-dihydroxybenzoico apresenta vibração do grupo -OH na banda de 3374 cm^{-1} e do grupo C=O na banda de 1650 cm^{-1} (TAKAC; TOPIC, 2004). O ácido salicílico e seu derivado 2,4 dihidroxi estão presentes em muitas plantas, tendo ambas as assinaturas sido encontradas nas folhas de *L. camara*.

A banda 1609 cm^{-1} pode estar relacionada ao alongamento de grupos C=O de cetonas ou alcenos conjugados (KUMAR et al., 2015) ou vibração de grupos éster -COO⁻ (SCHULZ; BARANSKA, 2007). A banda 1518 cm^{-1} pode estar relacionada ao alongamento do grupo C=C de áneis aromáticos de compostos fenólicos e flavonóides (OLIVEIRA et al., 2016). A banda 1444 cm^{-1} está relacionada a vibração de grupos -CH₂ presente em β-Caryophylleno e 1419 cm^{-1} relacionada a vibração de alongamento de grupos -COO⁻ (SCHULZ; BARANSKA, 2007).

A banda 1265 cm^{-1} estaria relacionada à vibração do grupo C-O relacionados a hidroxiflavonóides (OLIVEIRA et al., 2016), ou ao alongamento do grupo C-C-O de compostos fenólicos (SCHULZ; BARANSKA, 2007). A banda 1201 cm^{-1} estaria relacionada à vibração C-O, C-O-H, deformação C-O-C e alongamento C-C (LU; RASCO, 2012) e C-N de aminas (KUMAR et al., 2015), sendo também relacionada ao alongamento do grupo C-C-O de compostos fenólicos (SCHULZ; BARANSKA, 2007).

A banda 1154 cm^{-1} não foi identificada, e a banda 1063 cm^{-1} poderia estar relacionada ao alongamento do grupo éster C-O (LU E RASCO, 2012; OLIVEIRA et al., 2016; SCHULZ; BARANSKA, 2007), ao alongamento C-C (LU; RASCO, 2012; SCHULZ; BARANSKA, 2007) e a deformação C-O-C (LU; RASCO, 2012) reacionada ao metabolito 1,8-Cineole (OLIVEIRA et al., 2016).

Lantadene, metabolito secundário encontrado em folhas de *L. camara*, apresenta vibração do grupo -OH na banda de 3448 cm^{-1} , estiramento assimétrico de C-H de grupos -CH₃ ou -CH₂ em ácidos corboxílicos na banda 2921 cm^{-1} , vibração de grupos -CH₂ em 1455 cm^{-1} e alongamento do grupo C-C-O na banda 1303 cm^{-1} (INGAWALE; GOSWAMI-GIRI, 2014). Essas assinaturas vibracionais foram encontradas em folhas de *L. camara*, nas bandas 3396, 2927, 1444 e 1265 cm^{-1} , evidenciando a presença de Lantadene.

Nos espectros de folhas de *L. camara*, foram encontradas várias bandas relacionadas a terpenos, compostos fenólicos e flavonóides, estando algumas relacionadas a 1,8-Cineole, β-Pinene, β-Caryophylleno, lantadene, ácido caféico e derivado do ácido salicílico, compostos relatados presentes em folhas de *L. camara* e também relatados com potencial alelopático.

Os espectros FT-IR do extrato aquoso de folhas de *L. camara* também apresentaram 12 picos de absorção (Figura 19 B). As bandas em 3902, 3853, 3541, 2621 e 1983 cm^{-1} não foram identificadas.

A banda 1473 cm^{-1} pode estar relacionada a deformação de C-H em $-\text{CH}_2$ (LU; RASCO, 2012). A banda 1458 cm^{-1} esta relacionada à vibração de C-H em $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2$ e vibração C=C de anéis aromáticos de flavonóides e compostos fenólicos (SCHULZ; BARANSKA, 2007; OLIVEIRA et al., 2016). A banda 1436 cm^{-1} está relacionada à deformação de $-\text{CH}_2$ (SCHULZ; BARANSKA, 2007), presente em Lantadene na banda 1455 cm^{-1} .

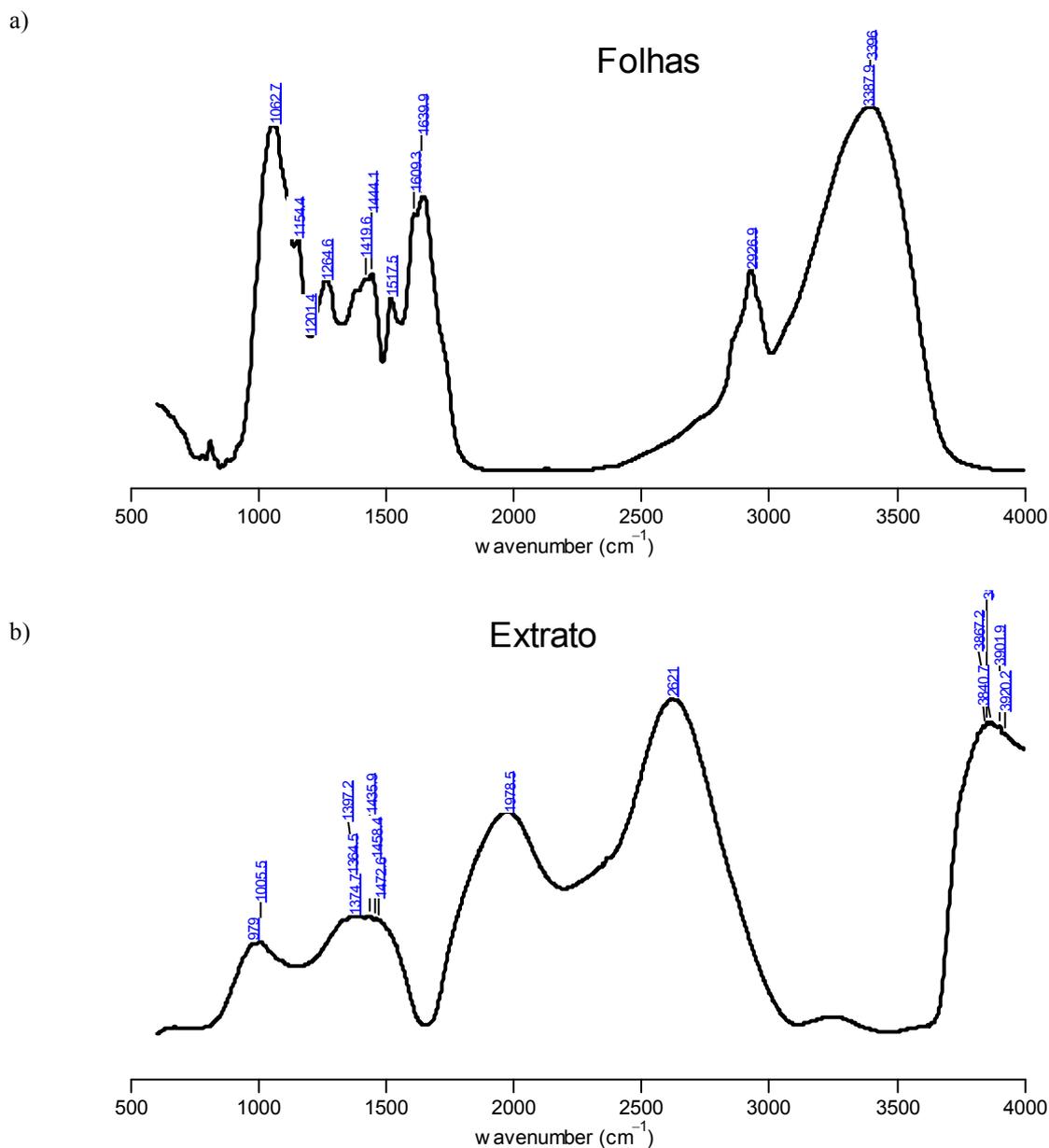
As bandas 1395 e 1365 cm^{-1} são relatadas como a vibração simétrica de $-\text{CH}_3$ (C=O) em éster- COO^- (LU; RASCO, 2012; SCHULZ; BARANSKA, 2007) relacionada aos metabolitos 1,8-Cineole e β -Caryophylleno (OLIVEIRA et al., 2016).

As bandas 1004 e 979 cm^{-1} podem estar relacionadas à vibração dos grupos C-O e C-O-H, ao alongamento C-C e a deformação C-O-C (LU; RASCO, 2012), esta última presente na molécula de 1,8-Cineole (OLIVEIRA et al., 2016) e Lantadene (INGAWALE; GOSWAMI-GIRI, 2014).

No espectro do extrato aquoso de folhas de *L. camara*, também foram encontradas bandas relacionadas a terpenos, compostos fenólicos e flavonóides, possivelmente relacionadas a 1,8-Cineole, β -Caryophylleno e Lantadene.

Os possíveis compostos encontrados no extrato hidroalcoólico de *L. camara* pela técnica espectrométrica (HPLC/MSMS(QToF)) no modo positivo, foram camaraside, camaroside e ácido salicílico (Tabela 4). Yi et al. (2006) relatam que o polifenol ácido salicílico presente no extrato de folhas de *L. camara* causou forte inibição no crescimento e desenvolvimento de *Eichhornia crassipes*. O efeito alelopático do ácido salicílico é atribuído a inibição da absorção de K^+ e a despolarização da membrana das células de raízes (GLASS; DUNLOP, 1974; HARPER; BALKE, 1981; YADAV; TRIPATHI, 2003). O composto camaraside foi relatado presente em *L. camara* por Wahab (2004), entretanto não foi relacionado com efeitos alelopáticos. Também não foram encontrados relatos de alelopátia causado por camaroside.

Figura 19 - Espectros de absorção FT-IR de folhas a) e extrato aquoso 10% (v/v) b) de *L. camara*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os possíveis compostos encontrados no extrato hidroalcoólico de *L. camara* pela técnica espectrométrica (HPLC/MSMS(QToF)) no modo negativo foram isoverbascoside, lantanaside e verbascoside com massa molar idêntica de 623 e fórmula molecular de C₂₉ H₃₆ O₁₅. Outro grupo de moléculas de massa molar 554 idêntica foram landene A, landene D e Ácido 22 β-Hidroxi-3-oxoolean-12-en-28-oic, que apresentaram espectro de massas de m/z próxima a 553,39 e fórmula molecular de C₃₅ H₅₄ O₅ (Tabela 4).

Isoverbascoside, lantanaside e verbascoside já foram relatados presentes em folhas de *L. camara* (GHISALBERTI, 2000; HERBERT et al., 1991; SOUZA; COSTA, 2012), entretanto nenhum deles relatado com atividade alelopática no desenvolvimento de plântas. Verbascoside é relatado como inibidor da proteína quinase e processos antitumor (HERBERT et al., 1991), também com atividade antibacteriana (PEREIRA et al., 2008). Já Lantadene A, além de atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e toxicidade a animais por falha no fígado e outros órgãos (GHISALBERTI, 2000; GRACE-LYNN et al., 2012; LITAUDON et al., 2009; SOUZA; COSTA, 2012), apresenta capacidade de inibir o crescimento de plantas (KONG et al., 2006).

Tabela 3 - Indicação de compostos através da massa molecular detectada na análise do extrato hidroalcolóico das folhas de *L. camara*, empregando espectrometria de massa in tandem QToF, modo scan e ionização negativa e positiva.

Tempo de retenção (min)	Massa (u)	m/z (-H)	Composto
0,659	138,0316	139,039	Ácido salicílico
1,786	492,12691	493,1351	Camaraside
2,148	476,13224	477,1405	Camaroside
1,094	624,20614	623,1986	Isoverbascoside Lantanaside Verbascoside
4,786	554,39856	553,3913	Landene A Landene D Ácido 22 β- Hidroxi-3-oxoolean-12-en-28-oic

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os resultados obtidos não podem ser conclusivos, mas podem nortear, quais compostos podem estar presentes nos extratos testados. Os compostos identificados pela técnica espectrométrica (HPLC/MSMS(QToF)) com efeito negativo no desenvolvimento de plantas já relatados foram ácido salicílico e lantadene. O composto ácido salicílico apresentou assinaturas nos espectros FT-IR das folhas, entretando não foi assinalado no extrato aquoso. Já lantadene apresentou assinaturas vibracionais nos espectros FT-IR das folhas e também do extrato aquoso. Diante do exposto é possível inferir que lantadene pode ser o metabolito presente no extrato aquoso de folhas de *L. camara* causador da alelopatia na germinação de *B. pilosa* e *A. sativa*.

Ensaio adicionais serão necessários para o isolamento e confirmação da atividade alelopática de lantadene presente no extrato aquoso de folhas de *L. camara* e seu efeito sobre o processo germinativo das espécies avaliadas.

5 CONCLUSÕES

As fitotoxinas causaram elevação na concentração de H_2O_2 , nos teores de prolina, fenólicos e MDA, e alterações na atividade das enzimas antioxidantes catalase e ascorbato peroxidase em *A. sativa*. Os resultados demonstram que, apesar da ativação do sistema antioxidante pelas fitotoxinas, a acumulação de espécies reativas de oxigênio causaram danos celulares, resultando na redução da velocidade de germinação e crescimento das plântulas, anormalidades no geotropismo e desenvolvimento radicular. A fase III da germinação foi mais sensível aos efeitos alelopáticos do extrato em relação as fases I e II. Lantadene A e D foram identificados como possíveis compostos responsáveis pelos efeitos fitotóxicos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados neste trabalho, confirmaram a possibilidade de exploração da bioatividade da planta *L. camara* para o desenvolvimento de novos produtos fitossanitários no controle de plantas daninhas.

A interferência negativa no crescimento das plantas indica a possibilidade de utilização do extrato aquoso das folhas de *L. camara* como redutor de crescimento das plantas daninhas em fases iniciais de desenvolvimento, reduzindo sua capacidade de competição com as espécies de interesse econômico. A redução do desenvolvimento e não a morte das plantas daninhas também pode possibilitar a manutenção do equilíbrio ecológico, sem elevadas perdas de produtividade da cultura em cultivo.

Estudos complementares como dose e formas de aplicação, bem como do efeito alelopático do extrato sobre as espécies de interesse econômico serão necessários, entretanto caso os aleloquímicos presentes no extrato também causem efeito negativo no desenvolvimento das espécies de interesse, uma hipótese de sua utilização é em jato dirigido nas entre linhas de cultivo.

Os resultados encontrados no trabalho, bem como os resultados relatados por outros autores indicam que uma agricultura mais sustentável é possível, entretanto a manutenção de linhas de pesquisa é indispensável para resultados práticos.

REFERÊNCIAS

- ABARAHIM, D. et al. Effect of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 26, n. 3, p. 611-624, mar. 2000.
- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394-400, abr/jun. 2007.
- ABENAVOLI, M. et al. The inhibitory effects of coumarin on the germination of durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum, cv. Simeto) seeds. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 32, n. 2, p. 489-506, feb. 2006.
- ABU-ROMMAN, S.; SHATNAWI, M.; SHIBLI, R. Allelopathic effects of spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on wheat (*Triticum durum*). **American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 298-302, 2010.
- AEBI, H. E. Catalase. In: BERGMAYER, H.U. **Methods of enzymatic analyses**, Vol. 3. Verlag Chemie, Weinheim, 1983. p.273-282.
- AGRA, M. de F. et al. Survey of medicinal plants used in the region northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 472-508, jul-set. 2008.
- AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary and secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, [S.l.], v. 22, n. 2, p. 239-244, apr. 2011.
- AHMED, R. et al. Allelopathic effects of *Lantana camara* on germination and growth behavior of some agricultural crops in Bangladesh. **Journal of Forestry Research**, [S.l.], v. 18, n. 4, p. 301-304, dec. 2007.
- ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell & Environment**, Oxford, v. 24, p.1337-1344, 2001.
- ANAYA, A. L.; PELAYO-BENAVIDES, H. R. Allelopathic potential of *Mirabilis jalapa* L. (Nyctaginaceae): Effects on germination, growth and cell division of some plants. **Allelopathy**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 57-68, jan. 1997.
- APEL, K; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative Stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, [S.l.], v. 55, p. 373-399, 2004.

AUMONDE, T. Z. et al. Respostas fisiológicas de sementes e plântulas de alface submetidas ao extrato de *Philodendron bipinnatifidum*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, Supl.1, p. 3181, 2013.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, [S.l.], v. 104, n. 2, p. 280-292, oct. 1998.

BADGUJAR, N. V., MISTRY, K. N., CHUDASAMA, P. N. E PATEL, J. S. In vitro Antioxidant and cytotoxic effects of methanol extracts of *Vitex negundo*, *Lantana camara*, *Bauhinia variegata* and *Barringtonia racemosa* on human cancer cell lines. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S.l.], v. 79, n. 3, p. 431-437, mai-jun. 2017.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, [S.l.], v. 331, n. 10, p. 806-814, oct. 2008.

BARRE, J. T. et al. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 45, n. 2, p. 321-324, may. 1997.

BASU, S.; GHOSH, A.; HAZRA, B. Evaluation of the antibacterial activity of *Ventilago madraspatana* Gaertn., *Rubia cordifolia* Linn. and *Lantana camara* Linn.: isolation of emodin and physcion as active antibacterial agents. **Phytotherapy Research**, [S.l.], v. 19, n. 10, p. 888-894, oct. 2005.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**. The Hague, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BATES, G. W.; GOLDSMITH, M. H. M. Rapid response of the plasma-membrane potential in oat coleoptiles to auxin and other weak acids. **Planta**, [S.l.], v. 159, n. 3, p. 231-237, nov. 1983.

BEGUM, S. et al. Nematicidal constituents of the aerial parts of *Lantana camara*. **Journal of Natural Products**, [S.l.], v. 63, n. 6, p. 765-767, jun. 2000.

BEGUM, S. et al. Pentacyclic triterpenoids from the aerial parts of *Lantana camara* and their nematicidal activity. **Chemistry & Biodiversity**, [S.l.], v. 5, n. 9, p. 1856-1866, sep. 2008.

BEWLEY, J. et al. Chapter 4: Germination. In: BEWLEY, J. et al. *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. 3.ed. New York, NY: Springer, 2013. p. 133-182.

BLOOR S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. In: PACKER, L. **Flavonoids and other polyphenols**. San Diego: Academic Press, 2001. p. 3-14.

BLUM, U.; DALTON, B.; SHANN, J. Effects of ferulic and p-coumaric acids in nutrient culture of cucumber leaf expansion as influenced by pH. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 11, n. 11, p. 1567-1582, nov. 1985.

BOGATEK, R.; GNIAZDOWSKA, A. ROS and phytohormons in plant-plant allelopathic interaction. **Plant Signaling & Behavior**, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 317-318, jul. 2007.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Efeito alelopático de frutos de umbu (*Phytolacca dioica* L.) sobre a germinação e crescimento inicial de alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia**, [online], v. 34, n. 5, p. 1129-1135, 2010.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [S.l.], v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Traditional uses of American plant species from the 1st edition of Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 19, n. 2a, p. 478-487, apr./jun. 2009.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 395p.

CALERA, M. R. et al. 5-O- β -D-galactopyranosyl-7-methoxy-3',4'-dihydroxy-4-phenylcoumarin, an inhibitor of photophosphorylation in spinach chloroplasts. **Photosynthesis Research**, [S.l.], v. 45, n. 2, p. 105-110, aug. 1995.

CARDOSO, V. J. M. Germinação. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

CASPERSEN, S. et al. Interactive effects of lettuce (*Lactuca sativa* L.), irradiance, and ferulic acid in axenic, hydroponic culture. **Plant and Soil**, [S.l.], p.115-126, mar. 1999.

CHANG, C. C. et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 178- 182, sep. 2002.

CHEEMA, Z. A.; KHALIQ, A. Efficacy of sorgaab for weed control in wheat grown at different fertility levels. **Pakistan Journal of Weed Sciences Research**, [S.l.], v. 8, p. 33-38, 2002.

- CHEEMA, Z. A.; KHALIQ, A. Use of sorghum allelopathic properties to control weeds in irrigated wheat in a semiarid region of Punjab. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [S.l.], v. 79, n. 2-3, p. 105-112, jul. 2000.
- CHENGXU, et al. Review on allelopathy of exotic invasive plants. **Procedia Engineering**, [S.l.], v. 18, p. 240-246, 2011.
- CORCORAN, M. R.; GEISSMAN, T. A.; PHINNEY, B. O. Tannins as Gibberellin antagonists. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 49, n. 3, p. 323-330, mar. 1972.
- CORSATO, J. M. et al. Efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de girassol sobre a germinação de soja e picão-preto. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 353, abr./jun. 2010.
- COSTA, J. G. M. da, et al. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 19, n. 3, p. 710-714, jul./sep. 2009.
- CRUZ-ORTEGA, R. et al. Effect of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v.24, n. 12, p.2039-2057., dec. 1998.
- CRUZ-ORTEGA, R.; LARA-NÚÑEZ, A.; ANAYA, A. L. Allelochemical stress can trigger oxidative damage in receptor plants. **Plant Signaling & Behavior**, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 269-270, jul.-aug. 2007.
- DAY, M. D et al. **Lantana current management status and future prospects**. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research, 2003.
- DING, J. et al. Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and fig leaf gourd plants to cinnamic acid. **Journal of Experimental Botany**, [S.l.], v. 58, n. 13, p. 3765-3773, oct. 2007.
- DJANAGUIRAMAN, M. et al. Physiological responses of *Eucalyptus globulus* leaf leachate on seedling physiology of rice, sorghum and blackgram. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, [S.l.], v.7, p.35-38, 2005.
- EINHELLIG, F. A. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: PUTNAM, A. R.; TANG, C. S. **The Science of Allelopathy**. New York: John Wiley & Sons, 1986, p. 171-188.

EINHELLIG, F.; ECKRICH, P. Interactions of temperature and ferulic acid stress on grain sorghum and soybeans. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 161-170, jan. 1984.

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

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

FOLIN, O; CIOCALTEU, V. On Tyrosine and tryptophane determinations in proteins. The **Journal of Biological Chemistry**, [S.l.], v. 73, p. 627-650, 1927.

FORMAGIO, A. et al. Potencial alelopático de *Tropaeolum majus* L. na germinação e crescimento inicial de plântulas de picão-preto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42 n. 1, p.83-89, dec. 2012.

GARCIA, A. F.; ZANOLI, J. C.; CMINGATTO, F. E. **Lantana e câncer: uma revisão sistemática**. In: V Simpósio de Ciências da Unesp. Dracena: [s.n.], 2009, p. 22-24.

GHISALBERTI, E. L. *Lantana camara* L. (Verbenaceae). **Fitoterapia**, [S.l.], v. 71, n. 5, p. 467-486, sep. 2000.

GLASS, A. D. M.; DUNLOP, J. Influence of phenolic acids on ion uptake: IV. Depolarization of membrane potentials. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 54, n. 6, p. 855-858, 1974.

GMEREK, J.; POLITYCKA, B. Response of maize, pea and radish roots to allelochemical stress. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, Cracow, v. 53, n. 1, 2011.

GONZALEZ, V. M. et al. Inhibition of a photosystem II electron transfer reaction by the natural product sorgoleone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 45, n. 4, p. 1415-1421, apr. 1997.

GORLA, C.; PEREZ, S. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 19, n. 2, p.261-266, 1997.

GRACE-LYNN, C. et al. In vitro antioxidant activity potential of lantadene A, a pentacyclic triterpenoid of Lantana plants. **Molecules**, [S.l.], v. 17, n. 12, p. 11185-11198, sep. 2012.

HADDADCHI, G. R.; GERIVANI, Z. Effects of phenolic extracts of Canola (*Brassica napuse* L.) on germination and physiological responses of Soybean (*Glycin max* L.) seedlings. **International Journal of Plant Production**, [S.l.], v. 3, p. 63-67, feb. 2009.

HAGEMANN, T. R. et al. Potencial alelopático de extratos aquosos foliares de aveia sobre azevém e amendoim-bravo. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 509-518, 2010.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, [S.l.], v. 8, n. 10, p. 1773, oct. 1996.

HARPER, J. R.; BALKE, N. E. Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oat roots by salicylic acid. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 68, n. 6, p. 1349-1353, dec. 1981.

HEAP, I. The international survey of herbicide resistant weeds. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org/Account/AboutUs.aspx>>. Acesso em: 21 out. 2014.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**. New York, v. 125, p. 189-198, 1968.

HERBERT, J. M. et al. Verbascoside isolated from *Lantana camara*, an inhibitor of protein kinase C. **Journal of Natural Products**, [S.l.], v. 54, n. 6, p. 1595-1600, nov./dec. 1991.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, V. et al. *Alvaradoa amorphoides* germination at low water potential and the role of the antioxidant system. **Botanical Sciences**, [S.l.], v. 93, n. 2, 2015.

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

HOLSER, R. A. Principal component analysis of phenolic acid spectra. **International Scholarly Research Network Spectroscopy**, [S.l.], p. 1- 5, 2012.

HOSSAIN, M.K.; ALAM, N.M.D. Allelopathic effects of *Lantana camara* leaf extract on germination and growth behavior of some agricultural and forest crops in Bangladesh. **Pakistan Journal of Weed Science Research**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 217-226, 2010.

HUANG, F.K.; HUANG, W.K. Constituents from the stems of *L. camara* (III). **Journal Chinese Medical**, [S.l.], v. 15, p. 109-114, 2004.

HUSSAIN F.; GHULAM, S.; SHER, Z.; AHMAD, B. Allelopathy by *Lantana camara*. **Pakistan Journal Botany**, [S.l.], n. 43, v. 5, p. 2373-2378, 2011.

HUSSAIN, I. et al. Allelopathic potential of sesame plant leachate against *Cyperus rotundus* L. **Annals of Agrarian Science**, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 141-147, 2017.

HUSSAIN, M. I.; REIGOSA, M. J. Allelochemical stress inhibits growth, leaf water relations, PSII photochemistry, non-photochemical fluorescence quenching, and heat energy dissipation in three C3 perennial species. **Journal of Experimental Botany**, [S.l.], v. 62, n. 13, p. 4533-4545, aug. 2011.

IBRAHIM, M.; AHMAD, N.; SHINWARI, Z.K. et al. Allelopathic assessment of genetically modified and non modified maize (*Zea mays* L.) on physiology of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pakistan Journal of Botany**, [S.l.], v. 45, n. 13, p.235-240, 2013.

INDERJIT. The Botanical Review: Plant phenolics in allelopathy. **New York Botanical Garden Press**, [S.l.], v. 62, n. 2, p. 186-202, apr. 1996.

INGAWALE G. S.; GOSWAMI-GIRI A. S. Isolation and characterization of bioactive molecule from *Lantana camara*. **Asian Journal Research Chemistry**, [S.l.], v. 7, n. 3, mar. 2014.

JIMÉNEZ-ARELLANES, A.; MECKES, M.; NATORRES, J. Antimycobacterial triterpenoids from *Lantana hispida* (Verbenaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 111, n. 2, p. 202-205, may. 2007.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 13. ed. São Paulo: Nacional, 2002.

KAZMI, I. et al. Anxiolytic potential of ursolic acid derivative-a stearyl glucoside isolated from *Lantana camara* L. (verbanaceae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.l.], v. 6, n. 6, p. 433-437, jun. 2013.

KENANY, E. T.; DARIER, S. M. Suppression effects of *Lantana camara* L. aqueous extracts on germination efficiency of *Phalaris minor* Retz. and *Sorghum bicolor* L. (Moench). **Journal of Taibah University for Science**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 64-71, apr. 2013.

KHANH, T. D.; XUAN, T. D.; CHUNG, I. M. Rice allelopathy and the possibility for weed management. **Annals of Applied Biology**, [S.l.], v. 151, n. 3, p. 325-339, sep. 2007.

KNOX, J.; PAULDODGE, A. D. Singlet oxygen and plants. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 24, n. 5, p. 889-896, 1985.

KOHLI, R. K.; BATISH, D.; SINGH, H. P. Allelopathy and its implications in agroecosystems. **Journal of Crop Production**, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 169-202, 1997.

KONG, C. H. et al. Herbicidal potential of allelochemicals from *Lantana camara* against *Eichhornia crassipes* and the alga *Microcystis aeruginosa*. **Weed Research**, [S.l.], v. 46, n. 4, p. 290-295, jul. 2006.

KRANNER, I. et al. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, [S.l.], v. 188, n. 3, p. 655-673, nov. 2010.

KUMAR, M.S.; MANEEMEGALAI, S. Evaluation of larvicidal effect of *Lantana camara* Linn against mosquito species *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Advances of Biology Research**, [S.l.], v. 2, p. 39-43, nov. 2008.

KUMAR, S. S.; MANOJ, P.; GIRIDHAR, P. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis, chlorophyll content and antioxidant properties of native and defatted foliage of green leafy vegetables. **Journal of Food Science and Technology**, [S.l.], v. 52, n. 12, p. 8131-8139, dec. 2015.

KUMARASAMYRAJA, D.; JEGANATHAN, N.S.; MANAVALAN, R. Pharmacological review of *Lantana camara* .L review article. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 1-5, jan./mar. 2012.

KUPIDLOWSKA, E. et al. Effect of coumarin and xanthotoxin on mitochondrial structure, oxygen uptake, and succinate dehydrogenase activity in onion root cells. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 20, n. 10, p. 2471-2480, oct. 1994.

LADHARI, A.; OMEZZINE, F.; HAOUALA, R. The impact of Tunisian Capparidaceae species on cytological, physiological and biochemical mechanisms in lettuce. **South African Journal of Botany**, [S.l.], v. 93, p. 222-230, jul. 2014.

LEE, T. T.; STARRATT, A. N.; JEVNIKAR, J. J. Regulation of enzymic oxidation of indole-3-acetic acid by phenols: Structure-activity relationships. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 21, n. 3, p. 517-523, 1982.

LEHMAN, M. E.; BLUM, U. Evaluation of ferulic acid uptake as a measurement of allelochemical dose: Effective concentration. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 25, n. 11, p. 2585-2600, nov. 1999.

LIN, W. X.; KIM, K. U.; SHIN, D. H. Rice allelopathic potential and its modes of action on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Allelopathy Journal**, [S.l.], v.7, n. 2, p.215-224, jul. 2000.

LITAUDON, M. et al. Cytotoxic pentacyclic triterpenoids from *Combretum sundaicum* and *Lantana camara* as inhibitors of Bcl-xL/BakBH3 domain peptide interaction. **Journal of Natural Products**, [S.l.], v. 72, n. 7, p. 1314-1320, jul. 2009.

LOPEZ A. L. et al. Utilización de extractos de *Avena sativa* L. en dermatitis. **Revista Argentina de dermatología**, Buenos Aires, v. 87, n. 2, p. 100-105, abr./jun. 2006.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. 7. ed. Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014, 640 p.

LU, X.; RASCO, B. Determination of antioxidant content and antioxidant activity in foods using infrared spectroscopy and chemometrics: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.l.], v. 52, n. 10, p. 853-875, 2012.

MAHARJAN, B.L.; SHRESTHA, K.; BASNYAT, S. Botanical control of late blight of potato. **Nepal Journal Science Technology**, [S.l.], v. 11, p. 37-40, 2010.

MAITI, P. P.; BHAKAT, R. K.; BHATTACHARJEE, A. Evaluation of Allelopathic potential of an obnoxious weed using mung bean as a bioassay material. **International Journal of Science and Nature**, [S.l.], v.1, n. 2, p. 236-241, 2010.

MANESS, P. C. et al. Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 65, n. 9, p. 4094-4098, sep. 1999.

MANOHAR, K.; KHARE, N.; KUMAR, H. Effects of leaf extract of *Lantana camara* on germination and growth behavior of selected tree species. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [S.l.], v. 6, n. 7, p. 2519-2526, 2017.

MISHRA, A. Allelopathic properties of *Lantana camara*. **International Research Journal of Basic and Clinical Studies**, [S.l.], v. 3, n.1, p. 13-28, jan. 2015.

MISHRA, A.SINGH, R. Comparative study of effect of *Lantana camara* extract of different parts on seed germination of *Parthenium hysterophorus* L. **International Journal of Plant Sciences**, [S.l.], v. 5, n. 1, p. 74-75, jan./jun. 2010.

MOHAMED, M. I. E.; ABDELGALEIL, S. A. M. Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Applied Entomology and Zoology**, [S.l.], v. 43, n. 4, p. 599-607, 2008.

MOLISCH, HANS. **Der einfluss einer pflanze auf die andere allelopathie**. Jena: G. Fischer, 1937.

MORAES, P. V. D. Potencial alelopático de extratos aquosos de mourisco (*Fogopyrum esculentum* Moench) na germinação e crescimento inicial de plantas daninhas. **Tropical Ciências Agrárias e Biológicas**, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 10, 2010.

MOSTAFA, A.A.; AL-RAHMAH, A.N.; ABDEL-MEGEED, A. Evaluation of some plant extracts for their antifungal and antiaflatoxigenic activities. **Journal Medicinal Plants Research**, [S.l.], v. 5, v. 17, p. 4231-4238, sep. 2011.

MUCCIARELLI, M. et al. Effects of 3,4-dihydroxybenzoic acid on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cultured in vitro. Growth regulation in callus and organ cultures. **Plant Biosystems**, [S.l.], v. 134, n. 2, p. 185-192, 2000.

MULLER, C. H. Allelopathy as a fator in a ecológicas processes. **Vegetatio**, [S.l.], v. 18, n.1/6, p. 348-357, 1969.

MUNIZ, F. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p.195-204, 2007.

MUSCOLO, A.; PANUCCIO, M. R.; SIDARI, M. The effect of phenols on respiratory enzymes in seed germination respiratory enzyme activities during germination of *Pinus laricio* seeds treated with phenols extracted from different forest soils. **Plant Growth Regulation**, [S.l.], v.35, p. 31-35, 2001.

MUTLU, S. et al. Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 943-951, may. 2011.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.2, p.1-24.

NAKANO, Y; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, [S.l.], v. 22, p. 867-880, 1981.

NAMBARA, E.; MARION-POLL, A. ABA action and interactions in seeds. **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 8, n. 5, p. 213-217, may. 2003.

NAZ, R.; BANO, A. Phytochemical screening, antioxidants and antimicrobial potential of *Lantana camara* in different solvents. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, [S.l.], v. 3, n. 6, p. 480-486, dec. 2013.

NEVES, L. A. S.; MORAES, D. M. Análise de vigor e da atividade da α – amilase em sementes de cultivares de arroz submetidas a diferentes tratamentos com ácido acético. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 4, n. 1, p. 35-43, 2005.

NOGUEIRAS, C. et al. Contribution to the phytochemical study and biological activity of plants of Cuban flora. **Biotecnologia Aplicada**, La Habana, v. 27, n. 4, dec. 2010.

OLIVEIRA, R. et al. FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. **Matéria**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 767-779, jul./sep. 2016.

ORACZ, K. et al. Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 33, n. 2, p. 251-264, feb. 2007.

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

PEÑUELAS, J.; RIBAS-CARBO, M.; GILES, LARRY. Effects of allelochemicals on plant respiration and oxygen isotope fractionation by the alternative oxidase. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 22, n. 4, p. 801-805, apr. 1996.

PEREIRA, A. C. et al. Purification of an antibacterial compound from *Lantana lilacina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 204-208, 2008.

PESKE, S. T.; BARROS, C. S. Produção de sementes. In: PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M.; ROTA, G. (Org.). Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos. 1. ed. Pelotas: UFPel, 2003, p. 12-93.

PICHERSKY, E; GANG, D. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 5, n. 10, p. 439-445, oct. 2000.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, [S.l.], v. 25, suppl. 1, p. 45-61, 2002.

POLITYCKA, B. Peroxidase activity and lipid peroxidation in roots of cucumber seedlings influenced by derivatives of cinnamic and benzoic acids. **Acta Physiology Plant**, [S.l.], v. 18, p. 365-370, 1996.

POONPAIBOONPIPAT, T. et al. Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 41, p. 403-407, jan. 2013.

PUTNAM, A. R. Weed allelopathy. In: DUKE, S.O. **Weed Physiology**. Boca Raton, EUA: CRC Press, 1987, p. 131-155.

QIAN, H. et al. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. **Chemosphere**, [S.l.], v. 75, n. 3, p. 368-375, apr. 2009.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2017. URL <https://www.R-project.org/>.

RAJASHEKAR, Y. et al. Isolation and characterization of biofumigant from leaves of *Lantana camara* for control of stored grain insect pests. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 51, p. 224-228, nov. 2013.

RANDRIANALJAONA, J. et al. Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L. **Analytica Chimica Acta**, [S.l.], v. 545, n. 1, p. 46-52, jul. 2005.

REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, [S.l.], v. 27, n. 4, p. 629-646, oct./dec. 2013.

REIGOSA, M. R. et al. Comparison of physiological effects of allelochemicals and commercial herbicides. **Allelopathy Journal**, [S.l.], v. 8, p. 211-220, jul. 2001.

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

RIZVI, S. J. H. et al. A discipline called allelopathy. In: RIZVI, S. J. H. **Allelopathy: Basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992, p. 1-10.

RODRIGUES, H. G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 359-366, 2011.

SALEH, M. et al. Antibacterial triterpenoids isolated from *Lantana camara*. **Pharmaceutical Biology**, [S.l.], v. 37, n. 1, p. 63-66, 1999.

SAMAJ, J.; BALUŠKA, F.; MENZEL, D. New signalling molecules regulating root hair tip growth. **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 9, n. 5, p. 217-220, may. 2004.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, [S.l.], v. 43, n. 1, p. 13-25, jan. 2007.

SHARMA, M.; SHARMA, P. D. Optimization of lantadenes isolation and preparation of 22 β -hydroxyoleanonic acid. **Chemistry of Natural Compounds**, [S.l.], v. 42, n. 4, p. 442-444, jul. 2006.

SHAUKAT, S.S.; SIDDIQUI, I.A. Allelopathic and antifungal potential of *Lantana camara* root leachates in soil. **Pakistan Journal of Biological Science**, [S.l.], n. 5, p. 51-53, jan. 2002.

SHIKHA, G. et al. Cytotoxic evaluation of semisynthetic ester and amide derivatives of oleanolic acid. **Natural Product Communications**, [S.l.], v. 5, n. 10, p. 1567-1570, oct. 2010.

SINGH, D.; RAO, Y. B. Allelopathic evaluation of *Andrographis paniculata* aqueous leachates on rice (*Oryza sativa*). **Allelopathy Journal**. [S.l.], v.11, p.71-76, jan. 2003.

SINGH, H. P. et al. Effect of parthenin – a sesquiterpene lactone from *Parthenium hysterophorus* – on early growth and physiology of *Aegatum conyzoides*. **Journal of Chemical Ecology**, v.28, n.11, p.2169-2179, nov. 2002.

SINGH, H. P. et al. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. **Journal of Chemical Ecology**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 154-162, feb. 2009.

SINGH, H. P. et al. β -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. **Annals of Botany**, [S.l.], v. 98, n. 6, p. 1261-1269, 2006.

SINGH, R. K. et al. Comparative study of chemical composition of *Lantana Camara* leaf, flower & fruit essential oil. **International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences**, [S.l.], v. 1 (3), p. 895-899, jul./sep. 2012.

SONIBARE, O. O.; EFFIONG, I. Antibacterial activity and cytotoxicity of essential oil of *Lantana Camara* L. leaves from Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 7 (15), p. 2618-2620, aug. 2008.

SOUSA, E. O. et al. Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts. **Industrial Crops and Products**, [S.l.] v. 70, p. 7-15, aug. 2015.

SOUSA, E. O. et al. Phytochemical characterization and in vitro antioxidant properties of *Lantana camara* L. and *Lantana montevidensis* Briq. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 43, p. 517-522, may. 2013.

SOUSA, E. O.; COSTA, J. G. M. Genus *Lantana*: chemical aspects and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 22, n. 5, p. 1115-1180, sep./oct. 2012.

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

SOUZA FILHO, A. P. S.; TREZZI, M.; MIOUE, M. H. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 29, n. 3, p. 709-716, 2011.

STENLID, G. Flavonoids as inhibitors of the formation of adenosine triphosphate in plant mitochondria. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 9, n. 11, p. 2251-2256, nov. 1970.

TAIZ, L; ZEIGER, E; SANTARÉM, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p. 369-400.

TAKAC, M. J; TOPIC, D. V. FT-IR and NMR spectroscopic studies of salicylic acid derivatives. II. Comparison of 2-hydroxy- and 2,4- and 2,5-dihydroxy derivatives. **Acta Pharm**, [S.l.], v. 54, p. 177-191, 2004.

TESTA, B. **The Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics**. New York: Academic, 1995. 724 p.

TREZZI, M. M. **Recentes avanços e perspectiva da alelopatia no controle de plantas daninhas**. In: Anais do XXIX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. Gramado: [s.n.], 2014.

TUCAT, G. Efecto fitotóxico de *Baccharis ulicina* sobre la germinación y crecimiento inicial de *Avena sativa*, *Lolium perenne* y *Raphanus sativus*. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, [S.l.], v. 45, n. 1, p. 63-77, 2013.

UDO, I. A.; OSAI, E.; ONOKUKEH, D. A. Management of Root-Knot disease on tomato with bioformulated *Paecilomyces lilacinus* and leaf extract of *Lantana camara*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 57, n. 4, p. 486-492, jul./aug. 2014.

VAN SUMERE, C. F. et al. Biochemical studies in relation to the possible germination regulatory role of naturally occurring coumarin and phenolics. **Recent Advances in Phytochemistry**, [S.l.], v. 4, p. 165-170, 1972.

VERDEGUER, M.; BLÁZQUEZ, M.; AMPAROBOIRA, H. Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriosephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. **Biochemical Systematics and Ecology**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 362-369, oct. 2009.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132.

WAHAB A. **Studies on the chemical constituents of *Lantana camara* L.** 2004. Thesis University of Karachi, Pakistan, 2004.

WANG, J. C. et al. Allelopathic effects of *Jatropha curcas* on marigold (*Tagetes erecta* L.). **Allelopathy Journal**, [S.l.], p. 123-130, jul. 2009.

WEIR, T.; PARK, S.; VIVANCO, J. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, [S.l.], v. 7, n. 4, p. 472-479, aug. 2004.

YADAV, R.; KHARE, R.; SINGHAL, A. Qualitative phytochemical screening of some selected medicinal plants of shivpuri district (M.P.). **International Journal of Life-Sciences Scientific Research**, [S.l.], v. 3, n. 1, jan. 2017.

YADAV, S. B.; TRIPATHI, V.; YASJI. A new triterpenoid from *Lantana camara*. **Fitoterapia**, [S.l.], v. 74, n. 3, p. 320-321, apr. 2003.

YI, Z. et al. Inhibitory effects of *Lantana camara* and its contained phenolic compounds in *Eichhornia crassipes* growth. **Journal of Applied Ecology**, [S.l.], p. 1637-1640, sep. 2006.

YU, J. Q. et al. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. **Biochemical Systematics and Ecology**, [S.l.], v. 31, n. 2, p. 129-139, feb. 2003.

ZANDI-SOHANI, N.; HOJJATI, M.; CARBONELL-BARRACHINA, Á. Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). **Chilean journal of agricultural research**, [S.l.], v. 72, n. 4, p. 502-506, 2012.

ZENG, R. S. et al. Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid f on higher plants. **Agronomy Journal**, [S.l.], v. 93, n. 1, p. 72, 2001.

ZHOU, Y.H.; YU J.Q. Allelochemicals and Photosynthesis. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2006. p. 127-139.