

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

**LETÍCIA LEITE MOREIRA**

**AÇÃO ALELOPÁTICA DE EXTRATOS DE**  
***Duranta erecta* L. EM SEMENTES DE *Lactuca sativa* L.**

Alfenas/MG

2017

**LETÍCIA LEITE MOREIRA**

**AÇÃO ALELOPÁTICA DE EXTRATOS DE  
*Duranta erecta* L. EM SEMENTES DE *Lactuca sativa* L.**

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

Orientador: Prof. Dr. Sandro Barbosa.

Coorientadora: Dra. Luciene de O. Ribeiro Trindade (Bolsista PNP/Programas - UNIFAL-MG).

Colaboradores: Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva (FCF/UNIFAL-MG), João Vitor Calvelli Barbosa (PPG em Ciências Ambientais - UNIFAL-MG), Vítor Mezzalira Betelli (Bolsista de IC - PROBIC/CNPq-UNIFAL-MG).

Alfenas/MG

2017

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

Moreira, Letícia Leite  
M838a Ação alelopática de extratos de *Duranta erecta* L. em sementes de  
*Lactuca sativa* L. / Letícia Leite Moreira. -- Alfenas/MG, 2018.  
74 f.: il. -

Orientador: Sandro Barbosa.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal  
de Alfenas, 2018.  
Bibliografia.

1. Alfáce. 2. Bioensaios. 3. Testes de Toxicidade. 4. Índice Mitótico.  
5. Cromossomos – Aberrações. I. Barbosa, Sandro. II. Título.

CDD-583.96



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG  
Programa de Pós-graduação – Ciências Ambientais  
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714. Alfenas - MG CEP 37130-000  
Fone: (35) 3701-9685 (Coordenação) / (35) 3701-9262 (Secretaria)  
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgca/>




LETÍCIA LEITE MOREIRA

“Ação alelopática de extratos foliares de *Duranta erecta* L. pelo teste *Lactuca sativa* L.”

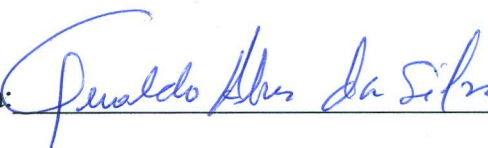
A Banca julgadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 22 de setembro de 2017.


Prof. Dr. Sandro Barbosa  
Instituição: UNIFAL - MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva  
Instituição: UNIFAL - MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza  
Instituição: UNIFAL - MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

*Dedico este trabalho aos meus pais e irmãos.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, por guiar meus passos e dar forças para conduzir com determinação meus objetivos;

Aos meus pais, Agnaldo Mendes Moreira e Regina Aparecida Leite Moreira pelo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado e por terem lutado para que eu chegasse até aqui;

Ao meu orientador, professor Dr. Sandro Barbosa, pela orientação, oportunidade, confiança e ensinamentos;

A minha co-orientadora, Dra. Luciene de O. Ribeiro Trindade, pelas contribuições, pela paciência e pela serenidade passada mostrando sempre que tudo dará certo.

Ao professor Dr. Geraldo Alves pela disponibilidade, ensinamentos e contribuições dadas para a melhoria deste trabalho;

A todos meus amigos de Alfenas que me acompanharam neste trabalho e me ajudaram de alguma forma para que fosse possível realizá-lo em especial Pamela Ingrid, Antônio Rodrigues, Kamilla Pacheco, Rafaella Sueko e Mateus Assis, obrigada pela companhia, amizade, companheirismo e força;

Aos meus amigos e companheiros em especial João Vitor e Vitor Betelli pela ajuda na condução dos experimentos;

E por fim, agradeço às agências de fomento CAPES, FAPEMIG e CNPq que apoiaram financeiramente na realização deste projeto e a todos que contribuíram de alguma maneira para a conclusão deste trabalho.

*"Entrega o teu caminho ao Senhor; confie nele, e ele tudo fará".*

*(Salmos 37:5)*

## RESUMO GERAL

A *Duranta erecta* L. pertence à família Verbenaceae e compreende as espécies que são distribuídas em regiões tropicais e sub-tropicais e que podem apresentar o efeito alelopático devido aos compostos secundários que, muitas vezes, não permitem que outras plantas cresçam ao seu redor. Esta espécie possui na literatura relatos da presença de metabólitos secundários como os alcaloides, flavonoides, acetofenona, cumarina, iridoides, diterpenos, triterpenos, saponinas, glicídios, glicosídeos fenólicos e esteroides; estes compostos são importantes para o desenvolvimento e sobrevivência das plantas agindo como compostos alelopáticos ou aleloquímicos. A alelopatia é a influência de um indivíduo sobre o outro, seja prejudicando ou favorecendo e ela pode ser testada por meio de bioensaios utilizando diversos parâmetros. A *Lactuca Sativa* L. é uma planta-teste utilizada em bioensaios devido a sua sensibilidade a agentes químicos, a rápida germinação, a baixa sensibilidade à variação dos potenciais osmóticos e pH. Esta dissertação é apresentada em forma de capítulos de maneira que, o capítulo 1 apresenta uma breve revisão sobre a caracterização botânica da *Duranta erecta* L., metabólitos secundários da *Duranta erecta* L., alelopatia e quimioecologia: interação planta/planta, a poda do pingo-de-ouro, agricultura orgânica e utilização de aleloquímicos como bioherbicidas, bioensaios com *Lactuca sativa* L. e extratos vegetais. O capítulo 2 apresenta-se em forma de artigo I e artigo II. No artigo I objetivou-se estudar as propriedades fitotóxicas das folhas da *Duranta erecta* L. sob duas formas de manejo (com poda e sem poda) em *L. sativa* L. utilizando o extratos aquosos a quente e a frio. Foi verificado a diferença significativa entre os métodos de extração e as formas de manejo sobre o efeito alelopático na germinação e no crescimento inicial de *L. sativa* L.. A porcentagem de germinação foi afetada 100% nas maiores concentrações, e a velocidade de germinação foi reduzida em todos os tratamentos e o crescimento inicial das plântulas de alface foram drasticamente prejudicados, apresentando diversas anormalidades morfológicas. O extrato aquoso quente de folhas *D. erecta* L. submetidas a prática de poda reduziram significativamente os parâmetros de germinação e de crescimento inicial. O artigo II teve o propósito de estudar as propriedades fitotóxicas e citogenotóxicas das folhas e frutos de *Duranta erecta* L. empregando duas formas de extração aquosa e etanólica. Os extratos aquosos e etanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. apresentaram efeito fitotóxico sobre *L. sativa* L., uma vez que houve redução nos parâmetros de germinação, crescimento inicial e proliferação celular quando comparados ao controle.



**Palavras-chave:** fitotoxicidade. citogenotoxicidade. pingo-de-ouro. bioensaios.

## ABSTRACT

*Duranta erecta* L. belongs to the Verbenaceae family and comprises species that are distributed in tropical and subtropical regions and which may exhibit the allelopathic effect due to secondary compounds that often do not allow other plants to grow around them. This species has in the literature reports of the presence of secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, acetophenone, coumarin, iridoids, diterpenes, triterpenes, saponins, glycines, phenolic glycosides and steroids; these compounds are important for the development and survival of plants acting as allelopathic or allelochemical compounds. Allelopathy is the influence of one individual on the other, either harming or favoring and it can be tested by means of bioassays using various parameters. *Lactuca Sativa* L. is a test plant used in bioassays because of its sensitivity to chemical agents, rapid germination, low sensitivity to variation of osmotic potentials and pH. This dissertation is presented in the form of chapters so that chapter 1 presents a brief review on the botanical characterization of *Duranta erecta* L., secondary metabolites of *Duranta erecta* L., allelopathy and chemoecology: plant / plant interaction, prune pruning gold, organic agriculture and the use of allelochemicals as bioherbicides, bioassays with *Lactuca sativa* L. and plant extracts. Chapter 2 is presented in the form of Article I and Article II. In article I, the objective was to study the phytotoxic properties of the leaves of *Duranta erecta* L. under two management forms (pruning and without pruning) in *L. sativa* L. using hot and cold aqueous extracts. The significant difference between the extraction methods and the management methods on the allelopathic effect on germination and initial growth of *L. sativa* L. was verified. The percentage of germination was affected 100% in the highest concentrations, and the germination speed was reduced in all treatments and initial growth of lettuce seedlings were drastically impaired, presenting several morphological abnormalities. The hot aqueous extract of *D. erecta* L. leaves underwent pruning significantly reduced germination and initial growth parameters. Article II had the purpose of studying the phytotoxic and cytogenotoxic properties of leaves and fruits of *Duranta erecta* L. using two forms of aqueous and ethanolic extraction. The aqueous and ethanolic extracts of leaves and fruits of *Duranta erecta* L. presented a phytotoxic effect on *L. sativa* L., since there was a reduction in the parameters of germination, initial growth and cellular proliferation when compared to the control.

**Key words:** phytotoxicity. cytogenotoxicity. goldfish. bioassays.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	9
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b>	11
2.1 Caracterização botânica do gênero <i>Duranta</i> spp	11
2.2 Metabólitos secundários da <i>Duranta erecta</i> L.	12
2.3 Alelopatia e Químioecologia: interação planta/planta	15
2.4 A poda no pingo-de-ouro	17
2.5 Agricultura Orgânica e Utilização de Aleloquímicos como Bioherbicidas	19
2.6 Bioensaios Vegetais e a Alelopatia	20
2.7 Extratos Vegetais	22
<b>3 JUSTIFICATIVA</b>	24
<b>4 OBJETIVOS</b>	25
4.1 Objetivo Geral	25
4.2 Objetivos específicos	25
<b>REFERÊNCIAS</b>	26
<b>SEGUNDA PARTE</b>	35
ARTIGO I: ALLELOPATHY OF <i>Duranta erecta</i> L. EXTRACTS CULTIVATED UNDER DIFFERENT MANAGEMENT METHODS IN BIOASSAYS WITH <i>Lactuca sativa</i> L.	36
ARTIGO II: Ação alelopática de diferentes extratos de folhas e frutos de <i>Duranta erecta</i> L. (Verbenaceae) sobre o bioteste <i>Lactuca sativa</i> L.	56

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Duranta* spp., pertencente à família Verbenaceae, compreende cerca de 35 espécies, sendo a maioria adaptada às condições climáticas do Brasil (ANIS et al., 2001; BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010). Dentre as espécies catalogadas podem ser citadas *Duranta domberyana*, *Duranta erecta*, *Duranta multisi*, *Duranta peruviana*, *Duranta vestita*, entre outras.

*Duranta erecta* L., (sin. *D. repens* L.), popularmente conhecida como pingo-de-ouro, é nativa de florestas abertas na Índia Ocidental, partes do norte do Paquistão e da América do Sul (STATE, 1995; AHMAD et al., 2009). É um arbusto lenhoso que pode atingir de 1,5 a 4m de altura, apresenta as folhas amarelas douradas de disposição alterna ou opostas e os frutos são alaranjados (BORELLA; TUR; PASTORINI, 2010). Esta espécie é muito usada em áreas de jardinagem e de canteiros de vias urbanas, onde pode suportar o pleno sol, os climas quentes e úmidos, além de não apresentar as exigências na adaptação e no cultivo. A planta possui rápido crescimento e é propagada principalmente por meio de estaquias no período de outono e inverno (BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010).

O gênero *Duranta* spp., produz os metabólitos secundários dos quais já existem os relatos sobre a presença de alcaloides, flavonoides, acetofenona, cumarina, iridoides, diterpenos, triterpenos, saponinas, glicídios, glicosídeos fenólicos e esteroides (ANIS et al., 2001). Deste modo, o potencial alelopático de espécies desse gênero pode ser utilizado com diferentes finalidades dentre elas a busca por defensivos agrícolas, diminuindo o uso de herbicidas sintéticos, substituindo-os por processos naturais, manejo e controle das plantas daninhas por meio de rotação de cultivos e com sistemas adequados de semeadura entre as espécies (SOUTO et al., 2015). Além disso, há atividades biológicas das substâncias alelopáticas como a ação contra os microrganismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento da planta (AQUILA; FERREIRA, 2000).

O termo alelopatia define o fenômeno quimioecológico no qual refere-se à capacidade que as plantas têm de interferir no desenvolvimento e na germinação de outras plantas, no qual o vegetal compete com outro, por meio dos compostos liberados por volatilização, exsudação

radicular, lixiviação e decomposição de resíduos que irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta (SOARES, 2007; BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010; NUNES et al., 2014; DUKE, 2015).

As práticas agrícolas atuais possuem um grande sucesso devido a adoção de produtos químicos para o controle de ervas daninhas e pragas nos quais estes produtos prejudicam o ambiente e o homem. Este fato estimula a descoberta de novas tecnologias para o controle de ervas daninhas e pragas baseados em produtos advindos de plantas (GAALICHE et al., 2017). O fenômeno da alelopatia tem sido sugerido como uma das estratégias para reduzir o uso excessivo de herbicidas. Esta aplicação pode ser realizada através da utilização do uso dos aleloquímicos naturais como herbicidas (GAALICHE et al., 2017).

A comprovação dos efeitos alelopáticos tem sido feita experimentalmente por meio da aplicação de extratos de uma planta a sementes ou plântulas de outras espécies, como no uso dos bioensaios (OLIVEIRA; PIRES, 2011). São diversas as técnicas utilizadas para extrair os aleloquímicos, normalmente são extraídas de partes vegetais trituradas e colocadas em contato com um extrator orgânico, obtendo-se após a filtração o extrato contendo os compostos alelopáticos, que devem ser testados em espécies de plantas mais sensíveis como a alface (OLIVEIRA; PIRES, 2011). Os bioensaios vegetais consistem em monitorar a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de espécies vegetais, sob a presença de amostras ambientais ou extratos da planta em estudo. A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça de grande consumo no mundo, possui baixo custo e é amplamente utilizada como planta-teste em bioensaios devido a sua sensibilidade a agentes químicos, a rápida germinação, a baixa sensibilidade à variação dos potenciais osmóticos e pH (SIMÕES et al., 2013).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito alelopático de *Duranta erecta* L. em bioensaio com a alface (*Lactuca sativa* L.) e mostrar o possível emprego desta espécie na fabricação de herbicidas naturais.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Caracterização botânica do gênero *Duranta* spp.

O gênero *Duranta* spp. pertence à família Verbenaceae e compreende cerca de 35 espécies que estão distribuídas em regiões tropicais e sub-tropicais (ANIS. et al. 2001). No Brasil, o gênero possui distribuição restrita e endêmica da Mata Atlântica nos estados brasileiros do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (THODE et al., 2013).

Dentre as espécies catalogadas podem ser citadas *Duranta erecta*, *Duranta domberyana*, *Duranta multisi*, *Duranta peruviana*, *Duranta vestita*, entre outras, as quais possuem sinônimos e variedades diferentes.

A espécie *Duranta erecta* L. possui os sinônimos *Duranta dentata* Pers., *Duranta erecta* var. *alba*, *Duranta erecta* var. *grandiflora*, *Duranta plumieri* Jacq., *Duranta plumieri* variedade *alba*, *Duranta repens* L., *Duranta repens* var. *alba*, *Duranta spinosa* Mill e *Duranta angustifolia* Salisb. (FRANK, 2016).

*Duranta erecta* L., popularmente conhecida como pingo-de-ouro, é uma espécie nativa de florestas abertas nas Índias Ocidentais, partes do norte do Paquistão e da América do Sul (AHMAD et al., 2009), sendo perfeitamente adaptada às condições climáticas do Brasil. É um arbusto muito utilizado em áreas de jardinagem e canteiros de vias urbanas, o qual pode ser podado em variadas formas, moldando o espaço onde se encontra e/ou formando uma forte cobertura compacta quase impenetrável (Figura 1 B) (AHMAD et al., 2009; BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010). Trata-se de um arbusto lenhoso com a ramificação profusa, atraente folhagem amarelo-dourado, de disposição alterna ou oposta, principalmente em folhas jovens, os frutos são alaranjados, drupáceos ou secos medindo até 11 milímetros de diâmetro (Figura 1 A e C) (TATAGIBA et al., 2004; BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010). Apresenta rápido crescimento e sua propagação pode ser feita por estaquia, principalmente no outono e inverno (KOEHLER; REZENDE; ZUFFELLATO-RIBAS, 2013).

A espécie *Duranta erecta* L. possui flores apresentadas em racemos terminais e são pentâmeras e hermafroditas com corola tubular violeta a azul pálida, com aproximadamente 10

mm de comprimento (Figura 1C). O estilete e as anteras estão incluídos no tubo da corola e o néctar é acumulado na porção inferior do tubo (NAVARRO; MEDEL, 2009). Diferentes partes desta planta são utilizadas na medicina popular, sendo relatadas atividades terapêuticas tais como anti-plasmódios, anti-malária, anti-trombina, antioxidante, anti-cancro e atividades antivirais (KHAN et al., 2013).

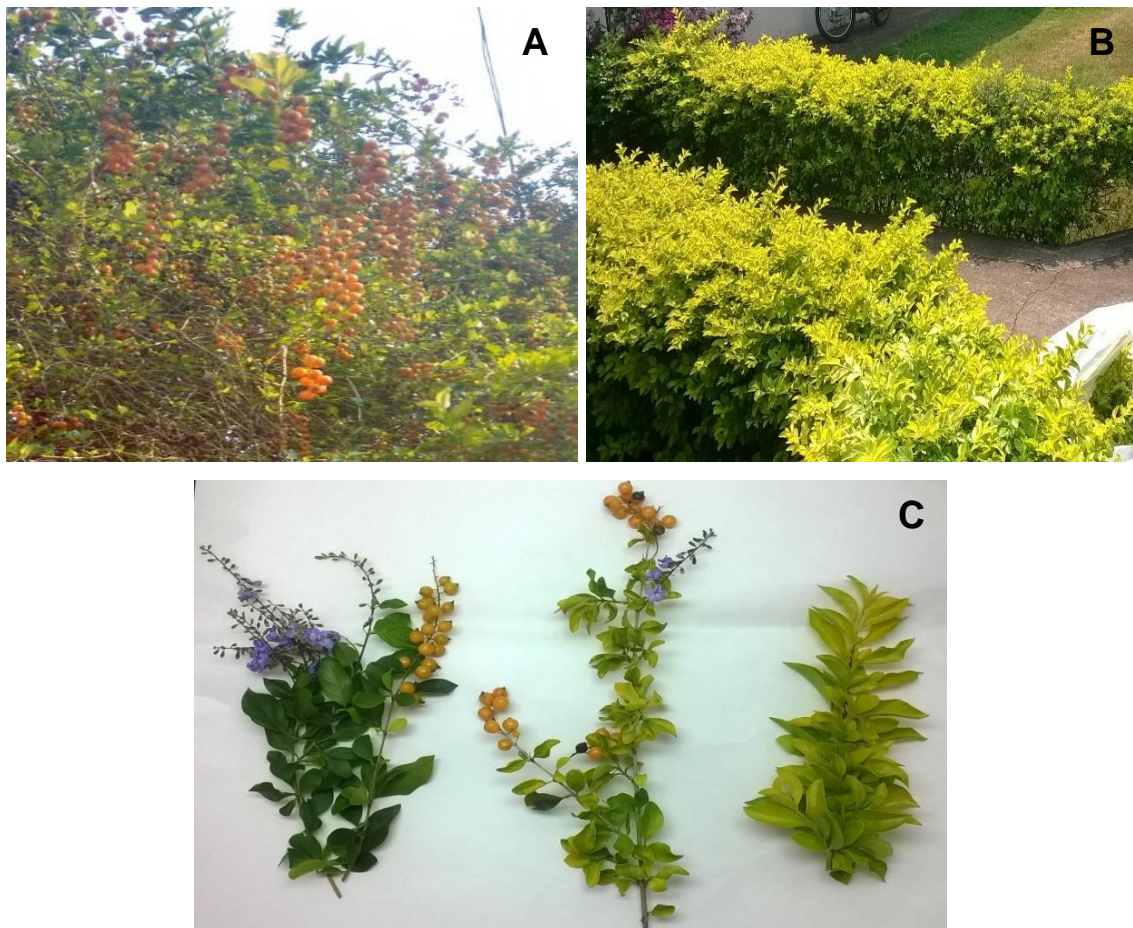


Figura 1 - *Duranta erecta* L. A) Exemplo adulto sem poda; B) Exemplo adulto com poda; C) Exemplos de ramos apresentando inflorescências.

Fonte: Moreira (2017).

## 2.2 Metabólitos secundários da *Duranta erecta* L.

Os metabólitos secundários por muito tempo foram considerados como produtos residuais do metabolismo sem uma função particular nas plantas. Porém, assim como os primários, eles estão intimamente ligados a processos vitais para as plantas (CARDOSO, 2012).

Os metabólitos são classificados quanto à estrutura química em: nitrogenados (alcaloides, aminoácidos não proteicos e glicosídeos cianogênicos), terpenóides (óleos essenciais, triterpenos, saponinas e glicosídeos cardioativos) e fenólicos (ligninas, flavonoides e taninos), conforme descrito por Corrêa et al. (2008).

Esses produtos durante o processo de evolução representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (WALLER, 1999). Funcionam ainda como compostos alelopáticos (conferindo uma vantagem competitiva relativamente a outras plantas), na atração de agentes polinizadores ou de dispersores de sementes, na proteção contra radiações, no armazenamento de nitrogênio e na regulação do balanço hídrico das plantas (WINK, 2010).

Para o gênero *Duranta* spp. encontra-se na literatura inúmeras aplicações e pesquisas voltadas para a utilização dos metabólitos secundários de suas folhas, frutos e flores. O fruto e as folhas têm sido utilizados como vermífugo, diurético, no combate da malária e tratamento de abscessos (KHANAL et al., 2014). O extrato metanólico das folhas possui citotoxicidade frente à *Artemia salina* e células tumorais (AHMED et al., 2009), possui ainda a atividade inseticida sobre o *Aedes aegypti* e o efeito antialimentar em *Piceus attagenus* (ANIS et al., 2001; AHMAD et al., 2009). Também foi relatada a atividade frente aos fungos *Ceratocystis paradoxa* e a *Phytophthora capsici* (HEGDE; KULKARNI; VIJAYA, 2007; STANTON, 2008). Há relatos que a toxicidade dos frutos de *Duranta* spp. possa ter matado crianças, cães e gatos, devido à sua larga utilização em jardinagem (SCANLAN et al., 2006). Entretanto, *Duranta erecta* L. pode ser facilmente comercializada e empregada medicinalmente para grande variedade de doenças.

Os efeitos alelopáticos são mediados por substâncias que pertencem a diferentes categorias de compostos secundários (SAMPAIO ALVES et al., 2004). As pesquisas demonstram ser o gênero *Duranta* spp. uma promissora fonte de fármacos e auxiliares na agroindústria, tendo em vista já terem sido isolados vários compostos, incluindo alcaloides, acetofenona, cumarinas, ácido cinâmico, diterpenos, flavonóides, esteróides, glicosídeos de fenilpropanóides, triterpenos, saponinas e iridóides (ANIS et al., 2001; AHMAD et al., 2009).

De acordo com Iqbal et al. (2004) e Ahmad et al. (2009), este gênero apresenta compostos que possuem substâncias descritas como:

- a) saponinas: Durantanina I; II; III; IV e V; 3,28-bidemosideo de ácido oleanólico; ácido 3-[(O-β-4C1-glucuranopiranosil)-oxy]olean-12-en-28-oico



- éster O- $\beta$ - D-4C1-glucopiranosil; ácido oleanólico; 12-Oleaneno 3 $\beta$ , 21 $\beta$ -diol;  $\beta$ -Amirina;
- b) diterpenoide: ácido 6 $\beta$ -hidróxi-15,16-epoxi-5 $\beta$ ,8 $\beta$ ,9 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -cleroda-3,13(16),14-trien-18-oico; ácido 2 $\beta$ -hidróxi-15,16-epoxi-5 $\beta$ ,8 $\beta$ ,9 $\beta$ ,10 $\alpha$ -cleroda-3,13(16),14-trien-18-oico; ácido (+)-hardwickiico; ácido (+)- 3,13-clerodadien-16,15-olid-18-oico; ácido (+)-6 $\beta$ -hidróxi-5 $\beta$ ,8 $\beta$ ,9 $\beta$ ,10 $\alpha$ -cleroda-3,13- dien-16,15-olid-18-oico;
- c) cumarino-lignoides: cleomiscosina A; durantina A; repeninas A; B; C e D.
- d) feniletanóides: nameli campenosideo I; cistanosideo E; verbascosídeo;
- e) outros: 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol; 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxiergosta; 6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol; 6,7-dimetóxicumarina; 2,4'-dimetoxi-3'-(2-hidróxi-3-metil-3- butenil) acetofenona; rosenonolactona;
- f) alcaloides.

Os alcaloides são relativamente polares e na água tendem a solubilizar, são classificados como tóxicos, pois agem mesmo em pequenas quantidades (CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006; INCA, 2015). As antraquinonas, os compostos fenólicos e flavonóides são compostos usados a partir de plantas tem ação antioxidante e antimicrobiana (INCA, 2015).

Há descrições que o grupo dos glicosídeos, quercetina e micetina apresentam efeito alelopático (INCA, 2015). Os taninos são considerados compostos polifenólicos, presentes em diferentes partes das plantas e possui atividade antiviral. As saponinas representam o principal grupo de terpenóides, são tóxicas e caracterizam por sua solubilidade (CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006). As cumarinas pertencem a classe dos compostos fenólicos e estudos relatam que o efeito alelopático pode ser causado pelos aleloquímicos: ácidos fenólicos, as cumarinas, os polifenóis e os flavonoide (AUMONDE; BORELLA; MARTINAZZO, 2011).

Muitos compostos são citados por apresentarem potencial herbicida. Dentre eles os monoterpenos voláteis, as sesquiterpenos lactonas, as benzoxanonas e as sorgoleona (PIEROBON, 2017). Os monoterpenos são os mais extensivamente explorados em programas de manejo de plantas daninhas, por serem agentes causadores da redução da atividade mitótica e da formação de glóbulos lipídicos nas plantas, estes compostos apresentam atividades fittóxica em diversas espécies, como por exemplo do milho, trigo, soja, alface e pepino (PIEROBON; SPENCER; VAUGHN, 1993; PIEROBON, 2017).

Os monoterpenos derivados de plantas aromáticas como a *Artemisia* sp. e *Eucalyptus* spp. são utilizados atualmente como substâncias no controle de plantas daninhas (DUKE et al., 1988; SINGH et al., 2009). Dentre os compostos de origem vegetal encontram-se os terpenos, as lactonas sesqui e diterpênicas. Entretanto, suas estruturas não atendem às características ideais para o uso comercial: sua síntese é muito cara, são muito reativas e pouco absorvidas pelas plantas. A sorgoleona, é um composto oxidado da hidroquinona encontrado como principal constituinte em exsudados de raízes de sorgo, é altamente fitotóxico (EINHELLING e SOUZA, 1992). Derivados do ácido benzóico são encontrados frequentemente em fenômenos alelopáticos. Dentre as várias espécies que contem estes compostos podem ser citadas a aveia, o sorgo e o pepino. Os derivados dos ácidos cinâmicos como ácido clorogênico, ácido caféico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico são distribuídos em diferentes vegetais e são inibidores de várias espécies (SAMPIETRO, 2006; PIEROBON, 2017).

Alcalóides quinolínicos, indólicos e esteroidais são substâncias alelopáticas com efeito fitotóxico associado a interferências na atividade enzimática, interações 24 com o DNA e influência sobre a glicólise. Compostos como a mesotriona, tembotrione e isoxaflutole tem sua descoberta concedida a pesquisa das propriedades alelopáticas da planta escova-de-garrafa (*Calistemon* spp.) onde causava albinismo em algumas espécies de plantas daninhas. (LEE et al., 1997; PIEROBON, 2017).

De acordo com os resultados obtidos em investigações científicas foram desenvolvidos alguns produtos químicos, sintetizados a partir de compostos naturais de plantas, que atualmente são comercializados como herbicidas. O Bazanim e o Quinclorac, ambos da BASF/Alemanha, são exemplos de herbicidas comerciais realizados a com base em compostos secundários de plantas o primeiro a partir de benzoxazinonas extraídas de gramíneas e o segundo elaborado a partir do ácido quinolínico obtido de *Nicotina tabacum*. (HATZIOS, 1987, PIEROBON, 2017).

### 2.3 Alelopatia e Quimioecologia: interação planta/planta

Durante o processo evolutivo as plantas desenvolveram complexos mecanismos de defesa, seja para competição planta/planta, por meio dos aleloquímicos, ou como meio de prevenção à herbivoria e à colonização por microrganismos patogênicos. Essas defesas podem

ser descritas como: as defesas estruturais (ceras, cutícula, tricomas, parede celular espessa, acúleos, espinhos) que atuam como barreiras físicas; a defesa química a qual é caracterizada por substâncias tóxicas, repelentes e a defesa biótica, que tem como exemplo a atração de inimigos naturais de insetos fitófagos (PASCHOLATI, 2006; STANTON, 2008).

Dentre as interações ecológicas das plantas podemos destacar a competição. As plantas competem por luz, água e nutrientes, revelando a concorrência constante entre as espécies. Essa competição contribui para o equilíbrio das espécies no ecossistema, e algumas desenvolvem os mecanismos de defesa que se baseiam na síntese de determinados metabólitos secundários, que liberados no ambiente irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta e/ou outros organismos da comunidade (LARA-NUÑES et al., 2006; SAMPAIO ALVES et al., 2004; GONÇALVES, 2016).

Salgado (2009) resume o sistema de defesa da planta em resistência constitutiva e resistência induzida. A constitutiva aparece mesmo sem a presença de agentes agressores, ao passo que a induzida é ativada por um agente biótico (ataque de praga ou de patógeno) ou por agente abiótico (radiação, temperatura, déficit hídrico). Gatti (2004) sugeriu que os metabólitos secundários tenham a função defensiva, possuindo a função ecológica de defender a planta contra os herbívoros. Segundo Stanton (2008) a herbivoria é responsável pelo maior impacto negativo no desenvolvimento e na sobrevivência das plantas, e os metabólitos secundários são representantes da defesa induzida contra a ação de herbívoros.

A alelopatia é a influência de um indivíduo sobre o outro, seja prejudicando ou favorecendo, sugerindo assim que o efeito é realizado por biomoléculas denominadas de aleloquímicos produzidos por uma planta e liberadas no ambiente (AQUILA; FERREIRA, 2000). Os metabólitos agem com efeitos negativos ou positivos sobre outras plantas e sementes que estão próximas (SOUTO et al., 2015).

A ação dos aleloquímicos pode ocasionar a diversidade de efeitos em outras plantas que incluem o atraso ou a inibição completa da germinação de sementes, a paralização do crescimento, a injúria no sistema radicular, a necrose da radícula ou até mesmo a ausência de raízes devido à inibição do ciclo celular, a clorose, a murcha e a morte das plantas (ALVES; CENTURION; CORREIA, 2005; BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010; FILHO et al., 2012).

Estas respostas evidenciam as alterações em nível celular, fitormonal, fotossintético, respiratório, síntese proteica, metabolismo lipídico e de ácidos orgânicos, inibição ou estimulação da atividade enzimática específica, efeitos sobre a relação hídrica e sobre a síntese

de DNA ou RNA nas plantas alvo (BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010). Também pode ocorrer os efeitos indiretos que interferem na produtividade da agricultura e na biodiversidade local, por causar as alterações na sucessão vegetal, na estrutura e na composição das comunidades vegetais e na dominância de espécies (BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010).

A realização de estudos sobre as influências alelopáticas entre as espécies é de suma importância, pois possibilita o conhecimento dos efeitos e das interações inter e intraespecíficas de plantas, podendo ser notadas, por exemplo, através das alterações sobre a germinação e o índice de velocidade de emergência das plantas. Com isso o pesquisador pode identificar as possíveis causas do insucesso no estabelecimento, na persistência de espécies vegetais em campo e resultar na adequação do manejo das espécies (OLIVEIRA et al., 2014).

#### 2.4 A poda no pingo-de-ouro

A poda é uma prática cultural que vem sendo utilizada para melhorar as condições do dossel vegetativos, de plantas frutíferas, a favor da qualidade. O uso da poda pode contribuir para a formação da planta com arquitetura adequada, reduzir a incidência de pragas e doenças, incrementar o número de ramos produtivos e uniformizar o número de ramos frutificados (SILVA et al., 2012). A desbrota, a despona e a desfolha são modalidades de que a poda que interferem diretamente no dossel vegetativo e podem contribuir para que se atinja entre as partes vegetativas e reprodutivas (MIELE; ZANUS, 2008).

O conhecimento fenológico das espécies vegetais que sempre vivem sob algum nível de estresse fisiológico pode indicar de fenofases em situação natural à presença ou à ausência de regularidade no mesmo, e assim pode servir como base para o planejamento de ações silviculturais que permitam a melhor adaptação das espécies ao meio urbano (BRUN et al., 2007). No paisagismo, informações fenológicas como os limites e a extensão do período da caducidade foliar e o período de floração ou a frutificação são conhecimentos básicos e minuciosos dos ritmos biológicos das espécies vegetais para que possam ter boas composições estéticas e fiquem bem no local que forem implantadas (BRUN et al., 2007).

A poda é uma agressão a um organismo vivo com as estruturas e as funções definidas e alguns mecanismos de defesa contra seus inimigos naturais (BRUN et al., 2007). Entretanto esta prática não pode ser totalmente abolida, mas se usada de maneira correta evita que grandes erros sejam cometidos e pode ser utilizada como estratégia no processo produtivo, desde o plantio até a colheita, com o intuito de aumentar a produtividade de algumas espécies (ARAUJO et al., 2008).

A poda é considerada um bom método para aumentar a área produtiva das plantas, bem como para retardar o desfolhamento, quebra de dormência natural e proporciona a obtenção de maior número de frutos o que por sua vez facilita a execução dos tratos culturais, melhora a eficiência no controle das doenças (ARAUJO et al., 2008; MUELLER; WAMSER, 2009). Por outro lado, a poda tem como grande consequência com a diminuição do ciclo biológico, a ocorrência de doenças, potencializa o efeito de acelerar a maturação dos frutos, nascendo com defeitos e ocorre a competição por nutrientes entre os órgãos (MUELLER; WAMSER, 2009).

A planta pode apresentar também como mecanismo de defesa os princípios ativos considerados tóxicos por meio de alterações em fatores externos como a poda, o estresse hídrico, a luminosidade e a fertilidade do solo que interferem em sua fisiologia (PEDRINHO et al., 2007).

O pingo-de-ouro é muito utilizado em áreas de jardinagem e canteiros de vias urbanas, em bordaduras a pleno sol, e pode ser podado em variadas formas, moldando o espaço onde se encontra (BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010). Quando ocorre a poda, as folhas e os frutos caem e cobrem o solo ao seu entorno, liberando substâncias químicas que são produzidas em diferentes órgãos das plantas. Esse é um mecanismo de defesa das plantas que foi adquirido no processo de evolução e representa um importante mecanismo ecológico que influencia direta e indiretamente as plantas adjacentes (BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010).

Desta maneira as plantas vivem competindo por luz, água e nutrientes, revelando uma concorrência entre as espécies. A poda no pingo-de-ouro seja ela causada por herbívora ou pelo homem causa uma mudança no metabolismo secundário da planta, ocorrendo uma competição que contribui para a sobrevivência das espécies no ecossistema por meio do desenvolvimento dos mecanismos de defesa que se baseiam na síntese de determinados metabólitos secundários, liberados no ambiente e que irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de uma outra planta (ALVES et al., 2004).

## 2.5 Agricultura orgânica e utilização de aleloquímicos como bioherbicidas

Na América do Sul, o Brasil é o mercado orgânico mais importante em termos de produção e consumo. Dados do último Censo Agropecuário (IBGE, 2006) mostraram que o país possuía uma área orgânica equivalente a 4,9 milhões de hectares, o que representava 1,5 a 3% da área agropecuária que era de 333,7 milhões de hectares. Ainda segundo o Ministério da Agricultura (MAPA, 2016) a produção orgânica caracteriza-se na busca constante de qualidade de vida aliada à proteção do meio ambiente não utilizando, assim, agrotóxicos, adubos químicos ou substâncias sintéticas que agridem o ambiente. Para sustentar o crescimento contínuo da produção de orgânicos praticada por agricultores familiares é fundamental que se encontre alternativas para as práticas da agricultura convencional e de larga escala. Um dos grandes problemas da atualidade é a resistência que algumas plantas daninhas possuem aos herbicidas presentes no mercado e utilizados em larga escala. Tais herbicidas provocam um estresse rápido e extremo, mas há alguns indivíduos raros que possuem genes que permitem sua sobrevivência e reprodução, e dessa forma, a resistência se desenvolve como um processo evolutivo, além dos indivíduos poderem acumular muitos genes de resistência, especialmente em espécies de polinização cruzada (STEPHEN; YU, 2010).

Alguns estudos já mostraram que há uma semelhança entre os sítios e os mecanismos de ação de substâncias químicas isoladas a partir de vegetais e herbicidas sintéticos o que pode ser usado na produção de outras formas de combater as plantas daninhas resistentes aos herbicidas convencionais (REZENDE; SANTOS, 2007). Além disso, é necessário saber a família química dos herbicidas, e entender como eles funcionam nas plantas para utilizá-los corretamente (MARCHI; MARCHI; GUIMARÃES, 2008).

De acordo com Almeida; Zetum; Zucoloto, (2008), vários são os mecanismos de ação dos aleloquímicos, que podem afetar os processos de respiração, fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, abertura de estômatos, nível de fitormônios, disponibilidade mineral, divisão e alongamento celular, estrutura e permeabilidade de membranas e parede celular, sendo que muitos desses processos ocorrem em função do estresse oxidativo.

Os aleloquímicos são uma fonte potencial para modelos e novos tipos estruturais de herbicidas (HERNÁNDEZ-TERRONES et al., 2007). Esses herbicidas naturais são usados com

a finalidade de diminuir o impacto ambiental causado por herbicidas sintéticos nas áreas agrícolas (XUAN et al., 2005). A produção agrícola tradicional com o uso de herbicidas sintéticos tem um custo maior e aumentam os riscos de acúmulo de resíduos tóxicos e distúrbios do meio ambiente (CASTRO; MEDEIROS; LUCCHESI, 1990). Os herbicidas provenientes de aleloquímicos têm como vantagens o tempo de meia vida mais curto e geralmente não são considerados potencialmente tóxicos (DUKE et al., 2000; MATSUMOTO et al., 2010). No entanto, em muitos casos, o composto natural é altamente ativo em um local de alvo molecular, mas as suas propriedades físico-químicas e meia-vida curta ambiental impede-o de ser um herbicida ativo (DUKE et al., 2000).

## 2.6 Bioensaios vegetais e a alelopatia

Os bioensaios constituem um método para a medição da resposta de organismos expostos a diferentes concentrações de uma amostra, realizados em laboratórios sob condições específicas e controladas (RIZZO, 2011). Estudos de fitotoxicidade utilizam diversos parâmetros com a finalidade de averiguar os efeitos tóxicos das substâncias testadas. Dentre alguns podemos citar: taxa de germinação, índice de velocidade de germinação, alongamento de raiz, biomassa fresca, biomassa seca, tempo médio de germinação, taxa de plântulas normais desenvolvidas, alongamento da parte aérea, alongamento do hipocótilo, número de sementes mortas e sementes não germinadas, índice de velocidade de emergência, percentagem de emergência, além de aspectos micromorfológicos de plântulas (BORELLA et al., 2014; NUNES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2013; ROSA et al., 2013; SILVEIRA et al., 2014).

Segundo Rizzo (2011) os parâmetros avaliados nos bioensaios são visualizados nos efeitos sobre a germinação e o crescimento da planta, sendo manifestações secundárias das modificações que ocorrem em nível molecular. Estudos sobre o comportamento das espécies alvo são essenciais, assim como as combinações genotípicas, os aspectos germinativos, o desenvolvimento inicial e o comportamento do complemento cromossômico, possibilitando a identificação de polimorfismo cromossômico e fornecendo as informações sobre possíveis alterações na estrutura e no número dos cromossomos (ANDRADE et al., 2008; REIGOSA et al., 2013).

Algumas plantas apresentam excelentes indicadores de efeitos citogenéticos e mutagênicos, podendo ser usadas tanto em ambientes fechados (indoor) quanto abertos (*in situ*). Os bioensaios que utilizam os vegetais para testar e monitorar o grau de toxicidade de agentes genotóxicos presentes no ambiente são muito eficientes e apresentam alta sensibilidade, podendo detectar os agentes mesmo em baixas concentrações (ALVES et al., 2003).

A literatura descreve que nos estudos sobre os efeitos de aleloquímicos podem ser utilizadas como bioensaios sementes nativas ou de espécies cultivadas, entre elas se destacam a alface e a cebola (FREITAS et al., 2015; SIMÕES et al., 2013).

A principal vantagem do uso de *Lactuca sativa* como alvo nos estudos alelopáticos reside na sensibilidade da espécie, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos e baixo custo de pesquisa. Além disso, a espécie apresenta outras peculiaridades que favorecem sua utilização como: germinação rápida em aproximadamente 24h; crescimento linear em ampla faixa de variação de pH; baixa sensibilidade aos potenciais osmóticos dos extratos; pequeno número de cromossomos e presença de cromossomos grandes sendo as duas últimas características facilitadoras para análises citogenéticas (LEME; MARIN-MORALES, 2009; SOUSA et al., 2009; SIMÕES et al., 2013; MORAES et al., 2015). Além do mais, a Alface é facilmente encontrada no comércio durante o ano todo, a um baixo custo (SIMÕES et al., 2013).

Os bioensaios vegetais envolvem investigações alelopáticas de grande importância, que podem ser controladas através de vários parâmetros que na natureza interagem simultaneamente (BORELLA; PASTORINI; TUR, 2010). Esses ensaios laboratoriais são muito eficientes tanto na constatação do efeito de substâncias químicas derivadas do metabolismo secundário das plantas quanto no monitoramento de poluentes ambientais (SIMÕES et al., 2013).

Na avaliação de uma planta com potencial alelopático devem-se realizar os bioensaios de germinação e de crescimento com as espécies que apresentem a germinação rápida e uniforme, e um grau de sensibilidade que permita expressar os resultados sob baixas concentrações das substâncias alelopáticas (SOUTO et al., 2015). Mais recentemente, análises de citotoxicidade e de genotoxicidade também têm sido bastante empregadas nos estudos de alelopatia e de toxicidade ambiental (PAWLOWSKI et al., 2013; YAN et al., 2015; MECINA et al., 2016).



## 2.7 Extratos vegetais

As plantas e os extrativos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância na indústria farmacêutica, tendo em vista a utilização de compostos químicos como base no desenvolvimento de fármacos, como fonte de matéria prima tanto na obtenção de substâncias ativas isoladas quanto para produtos utilizados na formulação de medicamentos ou ainda de medicamentos elaborados exclusivamente a base de extratos vegetais (SIMÕES et al., 2007).

A obtenção de fármacos a partir de metabólitos secundários de origem vegetal, vem despertando interesse em pesquisadores de produtos naturais e em pequenas e grandes indústrias farmacêuticas. Isto requer uma rápida triagem dos compostos químicos presentes em extratos de plantas através de procedimentos simples, rápidos e de baixo custo para que possam ser executados nos laboratórios (BRIGHENTE; MONTANHER; PIZZOLATTI, 2003).

A aplicação de partes de plantas com atividade inseticida não é uma técnica recente no controle de pragas; antes da chegada dos inseticidas sintéticos era uma prática comumente usada. Os vegetais possuem a liberação de metabólitos secundários, os quais podem levar ao efeito alelopático. São realizados testes para detectar a alelopatia através de ensaios de laboratório com extratos vegetais, coletados adequadamente, para serem testados em sementes e plântulas de alface por esta ser uma das espécies mais sensíveis (MAIRESSE et al., 2007). Diversos trabalhos comprovam o efeito de extratos de plantas com potencial alelopático e através deles é possível distinguir quais compostos químicos possuem e assim extraí-los. Extratos aquosos são bastante usados para testar tal efeito. Borella; Pastorini e Tur, (2010) observaram o efeito alelopático de extratos aquosos de folhas e de frutos frescos de *Duranta* spp. e Faria; Ferreira; e Souza, (2007) também estudaram o potencial alelopático com extratos etanólicos de *Eucalyptus citriodora* Hook. e *Pinus elliottii* L. sobre a germinação e crescimento inicial de picão preto (*Bidens pilosa*) e de alface (*Lactuca sativa*).

O preparo dos extratos consiste na secagem, moagem do material vegetal, contato da amostra com os solventes e liofilização. Também é essencial que se siga um padrão no preparo dos extratos para assegurar que os potenciais dos componentes ativos não sejam perdidos ou destruídos durante a preparação do extrato. Para a seleção do solvente a ser usado depende da natureza específica do composto bioativo que está sendo direcionado. Existem sistemas disponíveis para extrair o composto bioativo de produtos naturais, sendo que para uma extração

de compostos hidrofílicos (polar) usa-se solventes polares tais como metanol, etanol ou acetato de etila (SASIDHAREN et al., 2011).

Existem diferentes métodos de extração, sobretudo com relação aos solventes que podem ser água, etanol, metanol, entre outros, e à temperatura de extração, que pode ser a frio ou a quente, tendo em conta os compostos alvos sendo deste modo necessária a adequação nos métodos de extração (SIMÕES et al., 2007). Os métodos são diversos, dentre eles temos como o de aquecimento sob refluxo, extração de Soxhlet, maceração ou percolação de plantas frescas ou o material de plantas em pó seco em sistemas de solventes orgânicos e/ou água (SASIDHAREN et al., 2011).

A extração aquosa a frio tem como vantagem a preservação dos princípios ativos termolábeis. Na extração a frio usa-se a maceração, em que o extrato é colocado em contato com o solvente, em temperatura ambiente e recipiente fechado por seis horas e, posteriormente, dessecação por 30 min (FARMACOPÉIA, 2010). No caso da extração aquosa a quente há maior extração e obtenção de substâncias menos solúveis da planta, além de auxiliar na redução de contaminações devido à temperatura elevada da água. A extração ocorre por meio da submissão do material vegetal ao solvente permanecendo em aquecimento por 1 h e, depois de atingir temperatura ambiente, deve-se misturar bem e filtrar, rapidamente, por meio de um filtro seco (FARMACOPÉIA, 2010).

A extração também pode ser realizada utilizando etanol, cuja vantagem é a retirada de substâncias ativas como gomas, resinas, alginatos e heterosídeos, além de ser um meio desfavorável à propagação microbiana (SIMÕES et al., 2007). Esse método envolve colocar o extrato em contato com etanol (70%) a 49 °C por 10 dias, com o uso de um percolador, e depois proceder a secagem da droga (FARMACOPÉIA, 2010).

Deve-se lembrar que as formas de extração citadas são métodos que permitem extrair substâncias que em condições normais não seriam liberadas, podendo observar resultados que na natureza não seria possível (OLIVEIRA; PIRES, 2011).

### 3 JUSTIFICATIVA

A pesquisa de metabólitos secundários como fonte de bioherbicidas além das vantagens ambientais tem como principal objetivo diminuir as áreas contaminadas pelos herbicidas sintéticos. Existem relatos que as espécies do gênero *Duranta* possuem o efeito alelopático devido aos compostos secundários que produzem tais como: cumarinas, diterpenos, flavonóides, esteróides, glicosídeos e triterpenos. São compostos encontrados no gênero que possuem as propriedades alelopáticas e fitotóxicas. Assim estudar estas propriedades pode auxiliar na triagem de possíveis efeitos citogenotóxicos, entender o efeito alelopático causado pela espécie e analisar a atividade causada pelos aleloquímicos sobre a planta-alvo.

Para diagnosticar os efeitos causados por aleloquímicos, a planta-alvo escolhida deve apresentar algumas peculiaridades, as quais são atendidas pela espécie *L. sativa*. Além da sensibilidade da Alface a metabólitos secundários, esta espécie possui cromossomos grandes, o que facilita a análise citogenotóxica proposta nesse trabalho. Visto que na literatura não foram encontrados relatos de experimentos com avaliação dos efeitos citogenotóxicos de *Duranta erecta* L., espera-se através destes parâmetros estudar o efeito dos extratos sobre a dinâmica do genoma nuclear em bioteste vegetal para verificar o possível uso da espécie na extração de aleloquímicos para fabricação de bioherbicidas.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito alelopático de extratos foliares e de frutos de *Duranta erecta* L. em bioensaio com *Lactuca sativa* L.

### 4.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito dos extratos foliares de *Duranta erecta* L. sob diferentes formas de manejo (com poda e sem poda) no bioteste Alface.

Avaliar o efeito dos extratos de diferentes órgãos (folhas e frutos) e formas de extração (aquoso e etanólico) de *Duranta erecta* L. no bioteste Alface.

Avaliar o efeito alelopático de extratos de *Duranta erecta* L. em bioensaio com *Lactuca sativa* L. verificando os efeitos sobre a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação, o alongamento de raiz, o comprimento de parte aérea, a biomassa fresca e seca e demonstrar o índice de efeito alelopático.

Avaliar o efeito de *Duranta erecta* L. sobre os parâmetros citogenéticos por meio da quantificação do índice mitótico e da ocorrência de anormalidades cromossômicas no bioteste Alface.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, N. et al. Repenins A–D, four new antioxidative coumarinolignoids from *Duranta repens* Linn. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 13, p. 3521-3524, 2009.
- ALMEIDA, G. D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Faculdade Nacional de Agronomia Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.
- ALVES, E. S. et al. Biomonitoramento indoor do potencial mutagênico do ar em laboratórios e herbário do Instituto de Botânica por meio do bioensaio Trad-MCN. **Hoehnea**, v. 2, n. 30, p.89-93, 2003.
- ALVES, M. C. S. et al. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p.1083-1086, Brasília, 2004.
- ANDRADE, D. A. V. et al. Aspectos morfológicos de frutos e sementes e caracterização citogenética de *Crotalaria lanceolata* E. Mey. (Papilionoideae - Fabaceae). **Acta Botânica**, v. 22, n. 3, p. 621-625, 2008.
- ANIS, I. et al. Thrombin inhibitory constituents from *Duranta repens*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 84, n. 3, p. 649-655, 2001.
- ARAÚJO, J. P. C., et al. influência da poda de renovação e controle da ferrugem nas reservas de carboidratos e produção de pessegueiro precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 8, p. 331-335, 2008.
- BORELLA, J. et al. Desempenho de sementes e plântulas de rabanete sob ação de extrato aquoso de folhas de *Trema Micrantha* (Ulmaceae). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 108-116, 2014.
- BORELLA, J.; MARTINAZZO E. G.; AUMONDE, T. Z. Atividade alelopática de extratos de folhas de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 3, n. 9, p.1-7, 2011.

BORELLA, J.; TUR, C. M.; PASTORINI L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**, v. 2, n. 23, p.13-22, 2010.

BRUN, F. G. K., et al. Comportamento fenológico e efeito da poda em algumas espécies empregadas na arborização do bairro Camobi. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, v. 2, n. 1, 2007.

CARDOSO, C. R. P.; BAUAB, T. M.; VARANDA, E. A. Controle de qualidade e avaliação da atividade farmacológica do extrato de *Byrsonima intermedia* e do amento flavona. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 3, p. 35-42, 2015.

CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p.9-14, 2006.

CORRÊA, P. G. et al. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais brasileiras. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 3, p. 54-57, 2008.

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

DUKE, S. O. Proving allelopathy in crop-weed interactions. **Weed Science**, v. 63, n. sp1, p. 121-132, 2015.

DUKE, S. O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed Research**, v. 40, p. 499-505, 2000.

DUKE, S. O.; PAUL Jr., R. N.; LEE, S. M. **Biologically Active Natural Products - Potential Use in Agriculture**; Cutler, H.G., Ed.; 1988.

EINHELLIG, F. A.; SOUZA, I.F. Allelopathic activity of sorgoleone. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 1, p. 1-11, 1992.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alellopaty : an emerging topic in ecophysiology. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175–204, 2000.

FERREIRA, M C; SOUZA, J. R. P; FARIA, T. J. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. **Ciência Agrotecnica**, v. 31, n. 4, p.1054-1060, 2007.

FILHO, M. et al. Avaliação do potencial alelopático de Capim-Santo (*Cymbopogon Citratus*) Dc. sobre o desenvolvimento inicial de alface (*Lactuca Sativa* L). **Ensaio e Ciência**, v. 16, n. 2, p. 21–30, 2012.

FRANK, B.; **Catalogue of Life**: Catalogue of Life: 28th April 2016. 2016. Disponível em: <<http://www.catalogueoflife.org/col/info/about>>. Acesso em: 28 maio, 2016.

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

GAALICHE, B. et al. Relationship between phytochemical profiles and phytotoxic proprieties of Tunisian fig leaf cultivars. **South African Journal of Botany**, v. 122, p.322-328, 2017.

GATTI, A. B.; PEREZ S. C. J. G. DE A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GONÇALVES, T. S. Interações ecológicas e evolutivas entre: Plantas, herbívoros e seus inimigos naturais. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 11, n. 3, p. 1-9, 2016.

GOVERNMENT, Queensland. **Weeds of Australia for Biosecurity Queensland**. Disponível em: <[www.biosecurity.qld.gov.au](http://www.biosecurity.qld.gov.au)>. Acesso em 08 ago. 2017.

HATZIOS, K.K. Biotechnology applications in weed management: now and in the future, *Advances in Agronomy*, v. 41, p.325-375, 1987.

HEIDEN, G.; BARBIER, R. L.; STUMPF, E. R. T. Considerações sobre o uso de plantas ornamentais nativas. **Artigos Técnicos**, v. 12, n. 1, p.2-7, 2006.

HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G. et al. Ação alelopática de extratos de embaúba (*Cecropia pachystachya*) no crescimento de capim-colônio (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, v. 25, p. 763-769, 2007.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Censo agropecuário; agricultura familiar, primeiros resultados 2006**. Rio de Janeiro. Educa, 2006, ISSN: 01036157.

Disponível em:

<[http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/50/agro\\_2006\\_agricultura\\_familiar.pdf](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/50/agro_2006_agricultura_familiar.pdf).

> Acesso em 08 jun. 2016.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva - INCA, A. Á. L. **Estudio fitoquímico de espino chivo (*Duranta triacantha*)**. p.80. Monografia (Especialização) - Curso de Farmacia, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia, Equador, 2015.

IQBAL, K. et al. Alpha-glucosidase inhibitory constituents from *Duranta erecta*. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 52, n. 7, p. 785–789, 2004.

KHAN, M. A. et al. Antioxidative potential of *Duranta repens* (linn.) fruits against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced cell death in vitro. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines**, v. 3, n. 10, p.1-6, 2013.

KHANAL, D P et al. Phytochemical and biological studies on fruits of *Duranta repens* L. **Pharmanest**, v. 5, n. 2, p.1958-1962, 2014.

LARA-NUÑEZ, et al. Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, n. 11, p. 2009-2016, 2006.

LEE, D. L. The discovery and structural requirements of inhibitors of phydroxy phenylpyruvate dioxygenase. **Weed Science**, v. 45, p. 601-609, 1997.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p.71-81, 2009.

LUIZ, A. et al. Potencialidade alelopática de Oaca (*Eupatorium Laevigatum* Lam.) sobre Alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, p. 29–36, 2013.

MAIRESSE, L. A. S. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista da Fzva**, v. 14, n. 2, p.1-12, 2007.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. Herbicidas: mecanismos de ação e uso. **Documentos Embrapa**, v. 227, p. 1-36, 1 Ed. Planaltina – DF, 2008.



MATSUMOTO, R. S. et al. Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento MAPA - **Ministério da Agricultura; Orgânicos**. 2017, Brasília - DF <<http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/organicos>>. Acessado em 08 Jun. 2017.

MECINA, G. F. et al. Phytotoxicity of *Tridax procumbens* L. **South African Journal of Botany**, v. 2, n. 102, p.130-136, 2016.

MEDEIROS, A. R. M.; CASTRO L. A. S.; LUCCHESI, A. A. Efeitos alelopáticos de algumas leguminosas e gramíneas sobre a flora invasora. **Anais Piracicaba: ESALQ**. v. 47, n.1, p. 1-10, 1990.

MELLO, Dirceu Raposo de et al. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, p. 545, 2010.

MIELE, Alberto; ZANUS, Mauro. Efeito da poda verde na composição físicoquímica do mosto da uva Merlot. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 3, n. 6, p.667-674, 2008.

MONTANHER, A. B. P.; PIZZOLATTI, G. M.; BRIGHENTE, C. M. I. Monitoramento dos extratos brutos de espécies de *Polygala* (Polygalaceae) utilizando *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 3, n. 1, p.66-69, 2003.

MUELLER, S.; WAMSER, A. F. Combinação da altura de desponte e do espaçamento entre plantas de tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 1, p.12-18, 2009.

NAVARRO, L.; MEDEL, R. Relationship between floral tube length and nectar robbing in *Duranta erecta* L. ( Verbenaceae ). **Biological Journal of the Linnean Society**, p. 392–398, 2009.

NUNES, J. V. D. et al. Atividade alelopática de extratos de plantas de cobertura sobre soja, pepino e alface. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p. 122–130, 2014.

OLIVEIRA, J. S. et al. Germinabilidade de *Myracrodruon urundeuva* sob efeito de extratos foliares alelopáticos. **Magistra**, v. 26, n. 2, p. 248-254, 2014.

OLIVEIRA, L. G. et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum cernuum* Vell. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 538-543, 2013.

PASCHOLATI, S.F. Mecanismo de resistência das plantas a fitopatógenos. In: SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL, 2006, Porto Alegre, Os Avanços da Botânica no Início do Século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética. **Sociedade Botânica do Brasil**, 2006, p. 656-659.

PAWLOWSKI, A. et al. Chemical composition of *Schinus lentiscifolius* March. essential oil and its phytotoxic and cytotoxic effects on lettuce and onion. **South African Journal of Botany**, v. 5, n. 88, p.198-203, 2013.

PAWLOWSKI, A.; SOARES, G. L. G. Inibição da germinação e do crescimento radicial de alface (*Lactuca sativa* cv. Grand Rapids) por extratos alcoólicos de espécies de *Schinus L.* **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p.666-668, 2007.

PEDRINHO, D. R. et al. Efeito da adubação nitrogenada na biomassa e no teor de glicosídeos cardioativos da ornamental *Nerium oleander* L. **Ensaio e Ciência**, v. 11, n. 1, p.59-66, 2007.

PIEROBON, F. **Avaliação do potencial bioherbicida de extratos de canjarana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.)**. 2017. 67 f. Dissertação (Mestrado em Curso de Tecnologia de Bioprodutos Agroindustriais), Universidade Federal do Paraná, 2017.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**, v. 30, n. 2, p.95-123, 2011.

REIGOSA, M. et al. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629-646, 2013.

REZENDE, F.P.F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; KOEHLER, H.S.; Aplicação de extratos de folhas e tubérculos de *Cyperus rotundus* L. e de auxinas sintéticas na estaquia caulinar de *Duranta repens* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.4, p.639-645, 2013.

RIZZO, L. Biossays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. **water research**. 45, p. 4311-4340, 2011.

ROSA, J. M et al. Efeito alelopático de *Salix* spp. sobre a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Raphanus sativus* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 12, n. 3, p. 255-263, 2013.

SALGADO, P. R. **Compostos fenólicos relacionados à resistência do cafeeiro ao bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) e a ferrugem (*Hemileia vastatrix*)**. Tese de Doutorado. Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

SAMPAIO, M. D. C. et al. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1083–1086, 2004.

SAMPIETRO, D. A. **Alelopatía: concepto, características, metodología de estudio e importancia**. Argentina: Universidad Nacional de Tucumán Ayacucho, 2007. Disponível em: <<http://www.biologia.edu.ar/plantas/alelopatia.htm>>. Acesso em 14 ago. 2017.

SANTOS, S.; REZENDE, M. O. O. Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens. **Revista Analytica**, n. 32, p. 72-78, 2007.

SASIDHAREN, S. et al. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Med**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2011.

SCANLAN, S. et al. *Duranta erecta* poisoning in nine dogs and a cat, **Australian Veterinary Journal**. v. 84, n. 10, p. 367-370, 2006.

SINGH, H. P. et al. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibit plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. **Journal of Chemical Ecology**, v.35, p.154–162, 2009.

SILVA, V. A. et al. Concentração do ciclo de produção de pinhão-mansão por meio de podas de formação ou de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p.134-137, 2012.

SILVEIRA, B. D. et al. Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze allelopathic activity on germination and initial growth of *Lactuca sativa* L. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, p. 79-85, Santa Maria, 2014.

SIMÕES C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Florianópolis. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104p.

SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 3, n. 26, p.1-4, 2013.

SOUSA, S. M. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of two medicinal species of Verbenaceae. **Caryologia**. v. 62, p. 326-333, 2009.

SOUTO, J. S. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de moringa na germinação e no crescimento inicial da alface. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 11, n. 2, p. 56–60, 2015.

STANTON, M. A. **Respostas a herbivoria em *Asclepias cursassavica* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): defender, crescer ou reproduzir**. Dissertação de Mestrado Universidade Estadual de Campinas, 2008.

STATE, A. A. M. A.; taxonomic revision of the genus *Duranta* (Verbenaceae) in Australia. **Journal Of The Adelaide Botanic Gardens**, v. 1, n. 16, p.1-6, 16, 1995.

STEPHEN, B. P.; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Plant biology**. v. 61, p. 317-347, 2010.

TATAGIBA D. S.; et al. Efeitos do ácido indolbutírico na indução e formação de raízes em estacas de pingo-de-ouro (*Duranta repens* Linn “aurea”). **IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – 9.**, 2004, Paraíba p. 1743–1745, 2004.

THODE, V. A. et al. Development of microsatellites for *verbenoxylum reitzii* (Verbenaceae), a tree endemic to the Brazilian Atlantic forest. **Applications In Plant Sciences**, v. 8, n. 1, p.1-3, 2013.

VAUGHN, S. F.; SPENCER, G. F. Volatile monoterpenes as potential parent structures for new herbicides. **Weed Science**, v. 68, p. 821-831, 1993.

VIJAYA, H. K.; KULKARNI, I S.; HEGDE, Y. R. Evaluation of Plant Extracts Against *Ceratocystis paradoxa* Causing Sett Rot of Sugarcane. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences** v.20, n. 1, p. 168-169, 2007.

WALLER G. R. et al. Saponins produced during the life cycle of mung beans and their role as allelochemicals. In *Studies in plant science*,(6): advances in plant glycosides, chemistry and biology. Edited by C R. Yang, and O. Tanaka. **Elsevier Science**, p. 105–130, 1999.

WINK, M. Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites. In **ANNUAL Plant Reviews**, v. 39, 2 ed. Blackwell Publishing Ltd, 2010.

XUAN, T.D. et al. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: An overview. **Crop Protection**. v. 24, p. 197-206, 2005.

YAN, Z.; Mechanism of artemisinin phytotoxicity action: Induction of reactive oxygen species and cell death in lettuce seedlings. **Plant Physiology And Biochemistry**, v.59, n. 53, p.1-9, 2015.

## SEGUNDA PARTE

**ARTIGO I: ALLELOPATHY OF *Duranta erecta* L. EXTRACTS CULTIVATED UNDER DIFFERENT MANAGEMENT METHODS IN BIOASSAYS WITH *Lactuca sativa* L.**

**AUTORES:** Letícia Leite Moreira, João Vitor Calvelli Barbosa, Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade, Renan Gomes Bastos, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

Artigo submetido a **South African Journal of Botany**

**Qualis** 2013/2016 Ciências Ambientais: Não se aplica

**JCR** 2016: 1.491

**ARTIGO II: AÇÃO ALELOPÁTICA DE DIFERENTES EXTRATOS DE FOLHAS E FRUTOS DE *Duranta erecta* L. (verbenaceae) SOBRE BIOTESTE *Lactuca sativa* L.**

**AUTORES:** Letícia Leite Moreira, João Vitor Calvelli Barbosa, Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

1 **ALLELOPATHY OF *Duranta erecta* L. EXTRACTS CULTIVATED UNDER**  
2 **DIFFERENT MANAGEMENT METHODS IN BIOASSAYS WITH *Lactuca sativa* L.**

3  
4 Leticia Leite Moreira<sup>a</sup>, João Vitor Calvelli Barbosa<sup>a</sup>, Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade<sup>a</sup>,  
5 Renan Gomes Bastos<sup>b</sup>, Geraldo Alves da Silva<sup>b</sup>, Sandro Barbosa<sup>a\*</sup>

6  
7 <sup>a</sup> Departamento de Ciências da Natureza, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, Brasil

8 <sup>b</sup> Departamento de Alimentos e Medicamentos, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas,  
9 Brasil

10 \*Corresponding author: sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br - +55 35 37019696 (S. Barbosa)

11  
12  
13 **ABSTRACT**

14  
15 The genus *Duranta* spp. (Verbenaceae) comprises species that have allelopathic effects due to  
16 their allelochemicals. *Duranta erecta* L., popularly known as Golden Dewdrop, stands out for  
17 its use in landscaping and, therefore, suffers successive prunings for the maintenance of its  
18 ornamental structure. The objective of this study was to evaluate the allelopathic potential of  
19 *Duranta erecta* L., with and without pruning, on the germination and initial growth of  
20 *Lactuca sativa* L. *D. erecta* L. leaf extracts were obtained (hot and cold), at concentrations 20,  
21 40, 60, 80 and 100%; distilled water was used as a negative control. The parameters analyzed  
22 were germination percentage, germination speed index, root length, shoot length, number of  
23 normal and abnormal seedlings, fresh biomass and allelopathic effect index. Data were  
24 submitted to analysis of variance and means were compared by the Scott-Knott test (p<0.05).  
25 A significant difference was observed between extraction methods and management methods,  
26 and the hot aqueous extract of *D. erecta* L. leaves submitted to pruning significantly reduced  
27 germination and initial growth of *L. sativa*. Lettuce germination was inhibited at the highest  
28 extract concentrations, germination speed was reduced in all treatments and seedling initial  
29 growth was drastically impaired, showing several morphological abnormalities.

30  
31 **Keywords:** Lettuce. Golden Dewdrop. Pruning. Toxicity.

32  
33  
(**BOD**) Biochemical Oxygen Demand (%**G**) Germination percentage; (**GSI**) Germination speed index; (**RL**)  
Root length; (**SL**) Shoot length; (**NNS**) Number of normal seedlings; (**NAS**) Number of abnormal seedlings;  
(**FB**) Fresh biomass; (**DB**) Dry biomass; (**RI**) allelopathic effect index.

34

35

36 **1 INTRODUCTION**

37

38 Plants produce chemicals which, when released into the environment, may have a  
39 favorable or unfavorable influence on the development of other organisms. This phenomenon  
40 involves a complex communication between plant species called allelopathic effect, which is  
41 mediated by compounds of different categories such as phenols, terpenes, alkaloids,  
42 polyethylenes, fatty acids, peptides, among others (Pereira et al., 2017). Most of these  
43 substances are derived from the secondary metabolism and are present in different organs,  
44 including leaves, flowers, fruits and buds of many plant species (Periotto et al., 2004).

45 The genus *Duranta* spp. comprises about 35 species belonging to the family  
46 Verbenaceae (Ahmed et al., 2009; Subsongsang and Jiraungkoorskul, 2016), among which it  
47 is possible to mention *Duranta erecta*, *Duranta domberyana*, *Duranta multisi*, *Duranta*  
48 *peruviana*, *Duranta vestita*, among others, with different synonyms and varieties (Govaerts,  
49 2018). The species *Duranta erecta* L., also known as Golden Dewdrop, is native to South  
50 America, widely distributed in Brazil, mainly as an ornamental plant (Ahmed et al., 2009;  
51 Takeda et al., 1995; Tur et al., 2010). Golden Dewdrop is a woody shrub, with yellow-golden  
52 leaves, in an alternating or opposite arrangement; the fruits are orange, drupe or dry (Pereira  
53 et al., 2006; Tur et al., 2010).

54 Studies with *Duranta erecta* L. leaf extracts showed antiplasmodial activity and  
55 abscess, and its fruits are widely used in the treatment of malaria and intestinal worms  
56 (Nikkon et al., 2008). These authors reported the presence of chemical compounds such as  
57 durantina I, II, III and durantina A, which are derived from the secondary metabolism and are  
58 known as allelochemicals, due to the effects on other organisms. The activity of  
59 allelochemicals has been used as an alternative in weed control, without causing damage to



60 the environment, allowing to obtain products of high quality without the presence of  
61 contaminating agents through the so-called bioherbicides (Ferreira and Aquila, 2000; Xie et  
62 al., 2010).

63 Pruning is used to adapt the plant to the human interest, and it constitutes an  
64 aggression to the living organism that has defined structures and functions, besides defense  
65 mechanisms against natural enemies (Brun et al., 2007). The plant develops mechanisms to  
66 defend itself against pruning stress, due to the competition for nutrients between reproductive  
67 and vegetative organs, and a certain stimulus can induce flowering or the production of  
68 chemical compounds (Barni et al., 2003; Brun et al., 2007). Thus, if the practice is not used  
69 correctly, it may favor mechanisms of nutrient diversion between organs, frequently against  
70 the concentration gradient (Barni et al., 2003). It is known that genotypic conditions, along  
71 with edaphoclimatic and cultural management conditions, influence the biosynthesis and  
72 accumulation of bioactive molecules in the plants (Gobbo-Neto and Lopes, 2007). Studies by  
73 Rocha et al. (2014) showed that pruning negatively influenced the total polyphenol content of  
74 *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek.

75 Therefore, the objective of this study was to analyze the allelopathic effect of *Duranta*  
76 *erecta* L. leaf extracts submitted to different management practices in bioassay with *Lactuca*  
77 *sativa* L., considering two extraction processes.

## 78 **2 MATERIAL AND METHODS**

### 79 ***2.1 Sample collection and preparation***

80 *Duranta erecta* L. leaves were collected in populations located in the municipality of  
81 Alfenas-MG, Southern Minas Gerais, Brazil, with specimens in the respective coordinates:  
82 specimen 1 (with pruning) S21° 25' 09.7" HO 45° 56' 55.8"; and specimen 2 (without  
83 pruning) S 21° 30' 22" HO 46° 11' 45.2". The exsicates were prepared for botanical

84 identification, and are stored in the Herbarium of Universidade Federal de Alfenas, under  
85 registration number 12392. The material was collected in September 2016.

## 86 ***2.2 Extract preparation***

87           The leaves were dried in an air circulation oven at 45°C to constant weight. The leaves  
88 were pulverized in a mill and granulometry was determined as described in the Brasilia  
89 Pharmacopeia (Brasil, 2010); the obtained powder was classified as coarse. The hot aqueous  
90 extract was obtained by the decoction method, using 20 g of leaves sprayed in 100 mL of  
91 distilled water. The material was heated at 100°C for 15 minutes and, after standing for 30  
92 minutes, the solution was filtered and completed to 100 mL with distilled water, yielding the  
93 stock solution (20%). The cold aqueous extract was obtained by turbolysis, using 20g of  
94 leaves sprayed in 100 mL of distilled water and shaking for 5 minutes 3 times, respecting a  
95 10-minute interval at room temperature (25°C). Subsequently, the extracts were filtered on  
96 filter paper and distilled water was added to complete 100 mL, to obtain the stock solution  
97 (20%). (Brasil, 2010)

98           From the stock solutions (hot and cold), solutions diluted at concentrations of 20, 40,  
99 60, 80 and 100% were obtained for the conduction of phytotoxicity bioassays. The pH and  
100 osmotic potential of all extracts were evaluated (Pinto and Kolb, 2015) in order to eliminate  
101 interference in the bioassay.

## 102 ***2.3 Phytochemical screening***

103           Phytochemical screening of the extracts was carried out through qualitative chemical  
104 reactions in triplicate, according to the methodologies described by Cardoso (2009). The  
105 following compounds were evaluated: phenolic compounds, anthraquinones, flavonoids,  
106 anthocyanidins, tannins, polysaccharides, cardioactive heterosides, saponins, alkaloids,  
107 coumarins and terpenes.

## 108 **2.4 Phytotoxicity assays**

109           The bioassays were conducted in 70-mm Petri dishes, containing two sheets of  
110 Germitest<sup>®</sup> paper moistened with 3 mL of solution, at the different extract concentrations (20,  
111 40, 60, 80 and 100%); distilled water was used as a negative control. For each replication, 30  
112 lettuce samples (*Lactuca sativa* L.) cv. Babá de Verão, purchased in the local commerce, were  
113 evenly distributed. The dishes were kept in a B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand)  
114 germination chamber at 25°C, with a 12-hour photoperiod.

115           Germination percentage (%G) was evaluated at 24 and 48 hours, on the 7th day after the  
116 plot of the experiment, and germination speed index (GSI) was calculated from analyses  
117 performed every 6 hours until 48 hours, with 24-hour intervals until the 7th day. On the  
118 seventh day of evaluation, the number of normal seedlings (NNS) was determined when root,  
119 stem and leaves were developed; it was considered abnormal (NAS) for seedlings that had  
120 some root and/or shoot deformity. All material in the dishes was weighed, comprising the  
121 fresh biomass (FB). Root length (RL) and shoot length (SL) were measured from 10  
122 randomly selected seedlings on the seventh day of germination, with the aid of a digital  
123 caliper (DIGIMESS<sup>®</sup> 150mm). From the germination data, the allelopathic effect index (RI)  
124 was calculated (Aumonde et al., 2015)

## 125 **2.5 Statistical analysis**

126           The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (2x2x6),  
127 with two management methods (with and without pruning), two types of extraction (hot and  
128 cold) and six concentrations (0, 20, 40, 60, 80 and 100%), with three replicates of 30 seeds  
129 each. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared  
130 by the Scott-Knott test at 5% significance, using the Sisvar program (version 5.4).

131 **3 RESULTS AND DISCUSSION**

132 The average pH of *Duranta erecta* L. extracts was 5.58 and the osmolarity of extracts  
 133 at the lowest and highest concentrations (20 and 100%) ranged from -0.05 to -0.21Mpa,  
 134 respectively. The pH levels, as well as the osmotic potentials of *D. erecta* L. extracts, are  
 135 within the ideal limits described in the literature for this type of bioassay (Pinto and Kolb,  
 136 2015). According to these authors, pH values similar to those found in this study do not  
 137 interfere with germination processes and initial growth of *L. sativa* L. In addition, solutions  
 138 with an osmotic potential of up to -0.2 MPa have no effect on lettuce growth (Gatti et al.,  
 139 2004).

140 In the qualitative analysis of extracts, it was possible to detect the main groups of  
 141 metabolites that are present in samples of hot *Duranta erecta* L. leaf extracts submitted or not  
 142 to pruning (Table 1).

143

**Table 1.**  
 Phytochemical analysis of *Duranta erecta* L. extracts, where the results show the presence  
 (+) or absence (-) of metabolites.

<b>Phytochemical tests</b>	<b>With pruning</b>	<b>Without pruning</b>
Phenolic Compounds	+	+
Anthraquinones	+	-
Flavonoids	+	+
Anthocyanidins	+	+
Tannins	+	+
Polysaccharides	+	+
Cardioactive Heterosides	-	-
Saponins	+	+
Alkaloids	+	+
Coumarins	-	+
Terpenes	+	+

144

145 In the literature, research shows that compounds such as alkaloids, acetophenones,  
146 coumarins, cinnamic acid, diterpenes, flavonoids, steroids, phenylpropanoid glycosides,  
147 triterpenes, saponins and iridoids were isolated in the genus *Duranta* spp. (Ahmad et al.,  
148 2009). Anis et al. (2001) Phytochemical tests indicated the presence of most of the  
149 compounds analyzed in *D. erecta* leaf extracts, with or without pruning, with the exception of  
150 cardioactive heterosides (absent in both), coumarins (absent in plants with pruning) and  
151 anthraquinones (absent in plants without pruning).

152 Under different management methods (with and without pruning), *Duranta erecta* L.  
153 leaf extracts caused a significant reduction in the germination and initial growth of *L. sativa*  
154 L., when compared to the control (Table 2). Plant extracts with pruning yielded the lowest  
155 values for the majority of germination and initial growth parameters, standing out with the  
156 greatest allelopathic effect.

157 Pruning in plants can trigger defense mechanisms similar to those caused by  
158 herbivory, in which the types and amounts of secondary metabolites produced are altered  
159 (Pedrinho et al., 2007). According to Gobbo-Neto and Lopes (2007), mechanical factors to  
160 which plants are susceptible may influence the expression of secondary metabolism.  
161 Genotypic conditions, along with edaphoclimatic and cultural management conditions,  
162 influence the biosynthesis and accumulation of bioactive molecules in plants, as evidenced in  
163 studies of Rocha et al. (2014), in which pruning influenced the total polyphenol content of  
164 *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek.

165 The different extraction protocols (hot and cold) yielded significantly different  
166 responses, and hot extracts had a more intense allelopathic effect, especially the pruned plant  
167 extract (Table 2).

168

169

**Table 2**

Comparison between treatments with hot and cold extraction in the different management methods (with and without pruning) of *Duranta erecta* L. for the bioassay with *L. sativa* L.

	<b>G24h</b> (%)	<b>G48h</b> (%)	<b>G7<sup>th</sup>D</b> (%)	<b>GSI</b>	<b>RL</b> (mm)	<b>SL</b> (mm)	<b>NNS</b> (%)	<b>NAS</b> (%)	<b>FB (g)</b>	<b>DB (g)</b>	<b>RI</b>
<b>Control</b>	83.30 <sup>a</sup>	90.83 <sup>a</sup>	94.58 <sup>a</sup>	11.30 <sup>a</sup>	36.05 <sup>a</sup>	21.45 <sup>a</sup>	89.16 <sup>a</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.4643 <sup>a</sup>	0.0231 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>
<b>Without pruning, hot</b>	20.83 <sup>d</sup>	59.77 <sup>c</sup>	67.99 <sup>c</sup>	3.84 <sup>d</sup>	1.89 <sup>b</sup>	4.49 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	40.55 <sup>c</sup>	0.1318 <sup>c</sup>	0.0215 <sup>b</sup>	-0.48 <sup>d</sup>
<b>Without pruning, cold</b>	64.40 <sup>b</sup>	76.66 <sup>b</sup>	89.72 <sup>b</sup>	6.85 <sup>b</sup>	2.46 <sup>b</sup>	5.71 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	82.49 <sup>a</sup>	0.2139 <sup>b</sup>	0.0222 <sup>b</sup>	-0.11 <sup>b</sup>
<b>With pruning, hot</b>	0.00 <sup>e</sup>	19.33 <sup>d</sup>	29.66 <sup>d</sup>	1.26 <sup>e</sup>	0.91 <sup>c</sup>	2.19 <sup>c</sup>	0.00 <sup>b</sup>	22.66 <sup>d</sup>	0.1055 <sup>c</sup>	0.0216 <sup>b</sup>	-0.83 <sup>e</sup>
<b>With pruning, cold</b>	52.20 <sup>c</sup>	73.44 <sup>b</sup>	92.44 <sup>a</sup>	6.32 <sup>c</sup>	2.82 <sup>b</sup>	5.21 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	77.16 <sup>b</sup>	0.2203 <sup>b</sup>	0.0231 <sup>a</sup>	-0.15 <sup>c</sup>

(%G) Germination percentage for 24, 48 hours and 7<sup>th</sup> day, respectively; (GSI) Germination speed index; (RL) Root length; (SL) Shoot length; (NNS) Number of normal seedlings; (NAS) Number of abnormal seedlings; (FB) Fresh biomass; (DB) Dry biomass; (RI) allelopathic effect index. Same letters between concentrations did not differ statistically by the Scott-Knott test ( $p > 0.05$ ).

170

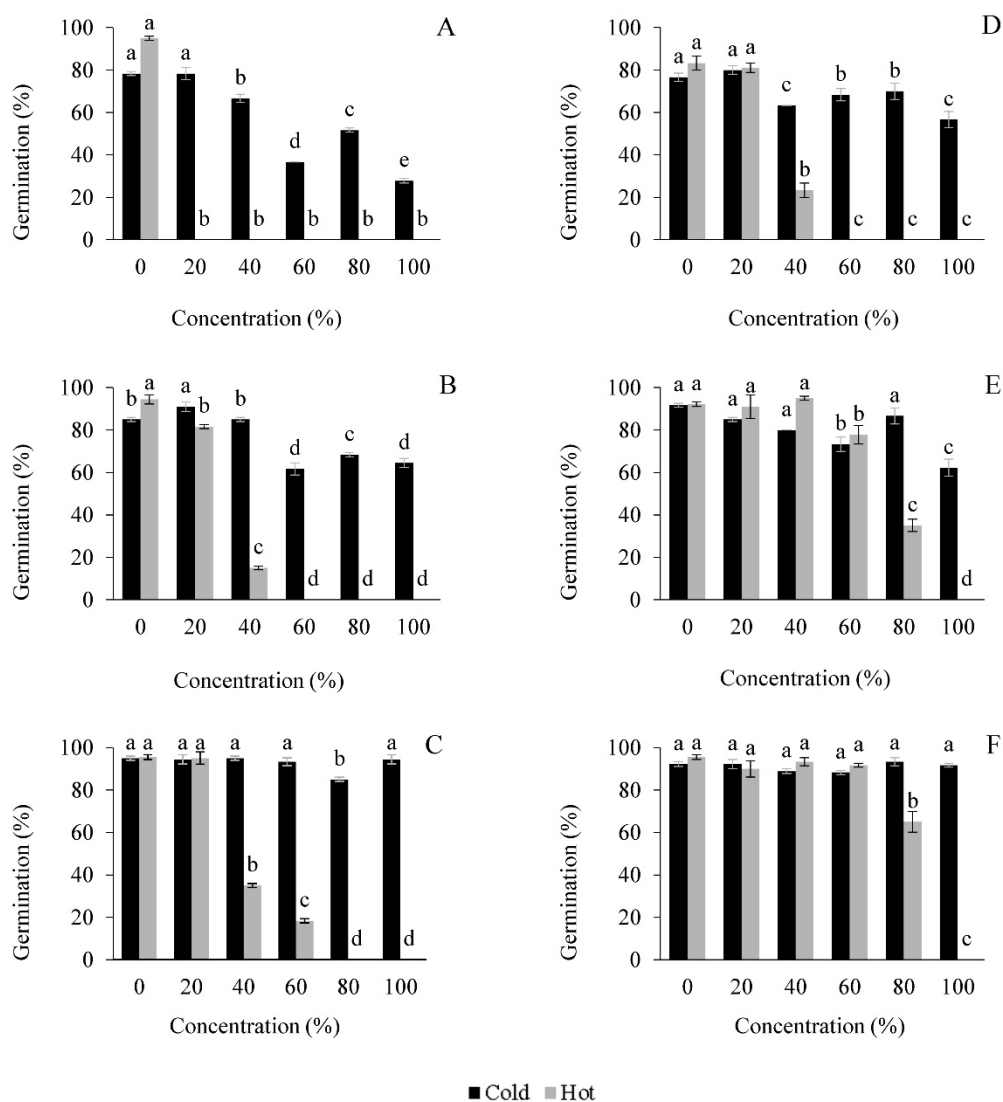
171 Hot *D. erecta* extracts with pruning yielded the lowest values for most germination  
 172 and initial growth parameters, standing out with the highest allelopathic effect index, when  
 173 compared to the cold extract, and this difference between extracts is probably due to the  
 174 greater amount of secondary metabolites or inhibitory substances that the hot extract allows to  
 175 extract from the plants (Brasil, 2010). In studies with different native species (*Erythroxylum*  
 176 *argentinum*, *Luehea divaricata*, *Myrsine guianensis* and *Ocotea puberula*) using hot and cold  
 177 extraction, Maraschin-Silva and Aquila (2006) corroborate this study when they report a  
 178 superiority in the allelopathic effect of the hot extract.

179 The results showed that the hot *D. erecta* L. extract, especially at the highest  
 180 concentrations, caused total inhibition of lettuce seed germination in the first 24 and 48 hours,  
 181 and pruned plants (Figure 1A and 1B) presented higher allelopathic potential, when compared  
 182 to plants without pruning (Figure 1D and 1E). For the cold extract, there was a statistical  
 183 difference between treatments, except for the lowest concentration (20%), which was  
 184 statistically equal to the control, in both management methods (with and without pruning),  
 185 both in the 24- (Figure 1A and 1D) and 48(Figure 1B and 1E)-hour germination. The

186 germination percentage of *L. sativa* L. at day 7 was completely inhibited with hot *D. erecta* L.  
187 extracts under pruning at concentrations of 80 and 100% (Figure 1C and 1F). However, for  
188 the plant without pruning, only the hot extract differed from the control at concentrations of  
189 80 and 100%, and the latter completely inhibited germination.

190         Studies report that plants subjected to pruning have their chemical constitution altered.  
191 Rocha et al. (2014) evidenced the chemical composition of *M. ilicifolia* leaves as a chemical  
192 content comprised by triterpenes, flavonoids and tannins, and the content of the components  
193 ranged in leaves collected from different environments, a fact associated to morphological  
194 characteristics, pruning conditions and sunshine. The results of this study showed a greater  
195 germination inhibition of lettuce seeds in the first 24 and 48 hours in plant leaf extracts under  
196 pruning management, suggesting the effect of allelochemicals present at higher concentrations  
197 in these extracts.

198         Similar results were obtained by Tur et al. (2010), in which extracts of fresh and dry  
199 leaves, besides fruits of *D. repens* (sin. *D. erecta*) with cold extraction, did not affect lettuce  
200 germination. However, these authors verified a reduction in % G of tomato seeds as the  
201 concentration of *D. repens* extracts of dry and fresh leaves increased. In many studies, what is  
202 observed is a more pronounced allelopathic effect on the initial growth of the target plant  
203 when compared to germination, since the latter process uses reserves of the seed itself  
204 (Ferreira and Aquila, 2000). However, the results obtained in this study showed effects on  
205 both plant growth and germination.



**Figure 1.** Germination percentage of *L. sativa* L. at 24 and 48 hours and 7 days after exposure to hot and cold *Duranta erecta* L. extracts with pruning (A, B and C) and without pruning (D, E and F). A) Germination at 24 hours after exposure to *D. erecta* L. extracts with pruning; B) Germination at 48 hours after exposure to *D. erecta* L. extracts with pruning; C) Germination on the 7th day after exposure to *D. erecta* L. extracts with pruning; D) Germination at 24 hours after exposure to *D. erecta* L. extracts without pruning; E) Germination at 48 hours after exposure to *D. erecta* L. extracts without pruning; F) Germination on the 7th day after exposure to *D. erecta* L. extracts without pruning. Same letters between concentrations do not differ by the Scott-Knott test ( $p > 0.05$ ).

206

207

Changes in germination patterns indicate, according to Labouriau (1983), interference

208

in the metabolic reactions that culminate in germination. According to Iqbal et al. (2004) and

209

Ahmad et al. (2009), among the compounds found in the genus *Duranta* spp., it is possible to

210

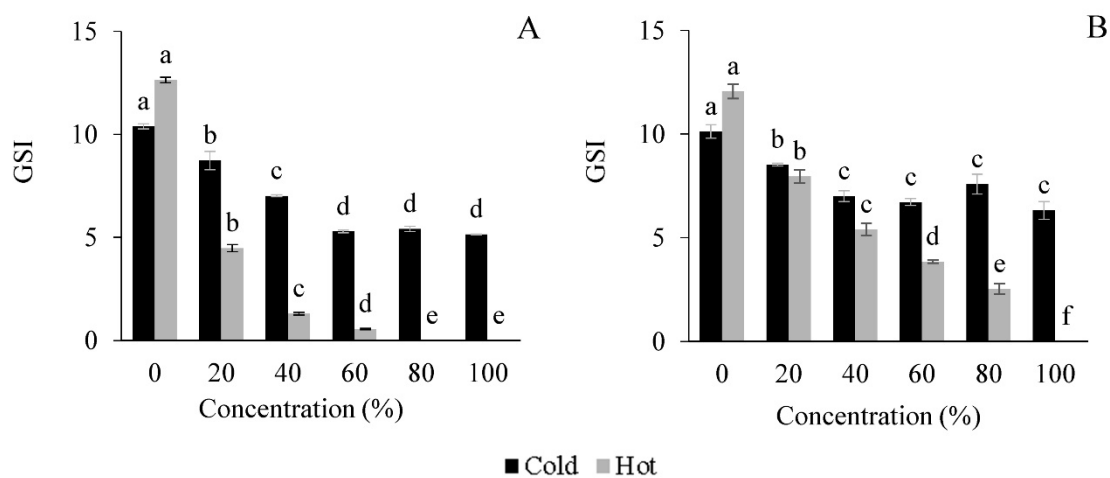
highlight saponins, which have allelopathic activity widely reported in the literature (Gatti et



211 al., 2004; Novaes et al., 2013). The results of this research corroborate studies of species that  
 212 contain saponins, which show activity on lettuce germination (Barbosa et al., 2008;  
 213 Capobiango et al., 2009). Saponins have a recognized biological activity, affecting mainly  
 214 germination and initial growth, since they reduce the respiratory rate of seeds due to the  
 215 reduced availability of oxygen diffusion through the integument (Marchaim et al., 1974). In  
 216 addition, saponins may alter cytological characteristics, phytohormone levels, membranes,  
 217 mineral absorption, enzymatic activity, among others (Maraschin-silva et al., 2005).

218 When evaluating germination speed index (GSI), there was no concentration that  
 219 presented a result statistically equal to the control (Figure 2).

220



**Figure 2.** Germination speed index of *L. sativa* L. after exposure to hot and cold aqueous *Duranta erecta* L. leaf extracts, with and without pruning. A) *D. erecta* L. extract with pruning; B) *D. erecta* L. extract without pruning. Same letters between concentrations do not differ by the Scott-Knott test ( $p > 0.05$ ).

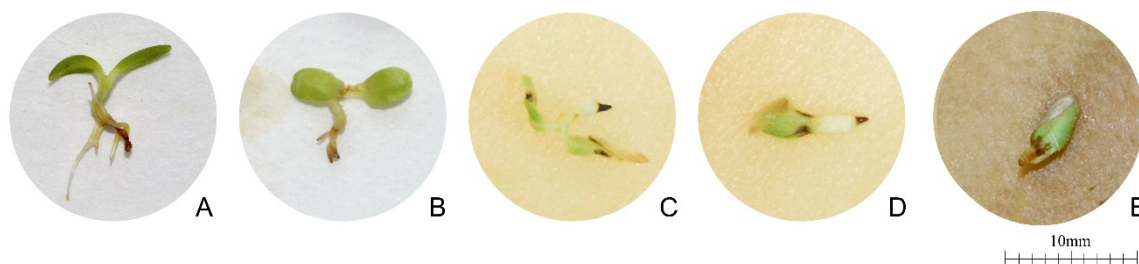
221

222 In this study, it can be observed that *D. erecta* extracts at all concentrations, extraction  
 223 methods, as well as management methods, delayed the germination of *L. sativa* L.. Similarly,  
 224 Tur et al. (2010) found that, as the concentration of *D. repens* leaf extracts increases, there is  
 225 a decrease in the GSI of lettuce seeds and more intensely of tomato, with no difference for

226 fruit extracts. In addition, the delay or reduction in germination by phytotoxicity can be  
 227 explained by the effects on reserve mobilization, which occurs in the early stages of seed  
 228 germination by secondary metabolites (Pinto and Kolb, 2015).

229 All concentrations were harmful in the initial growth of germinated seeds, and only  
 230 the control showed normal plants. The remaining treatments were harmful to lettuce  
 231 seedlings. The extracts caused the appearance of secondary roots, as well as morphological  
 232 alterations that impaired seedling development, such as leaves darkened at the edges and  
 233 medial portions, besides atrophied and defective primary roots, which were oxidized,  
 234 hardened and thicker (Figure 3).

235



236

237 **Figure 3.** Abnormalities observed in *L. sativa* L. seedlings exposed to *D. erecta* L. extracts on the 7th  
 238 day. A and B) Secondary root emission; C and D) Darkening at edges and medial portions; E)  
 239 Absence of root.

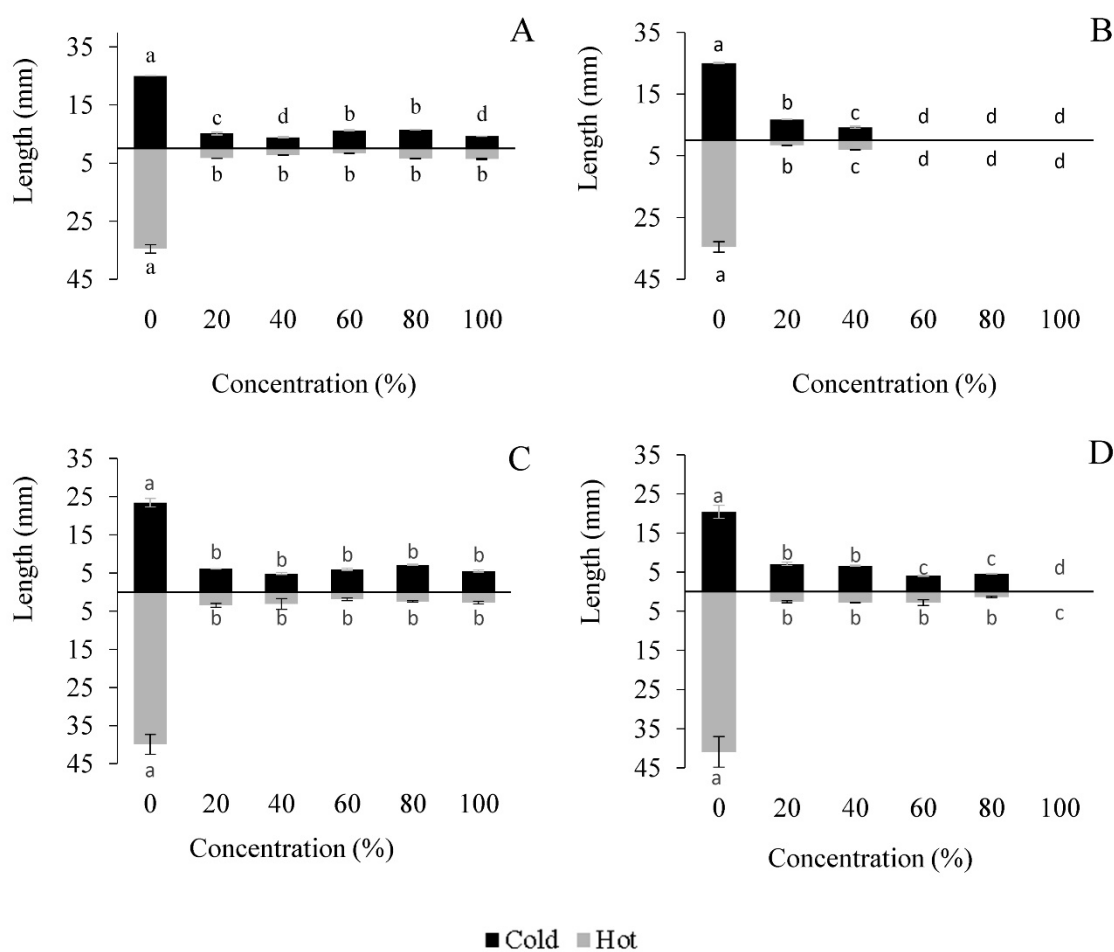
240

241 These results corroborate data reported by Tur et al. (2010) and other allelopathy  
 242 studies, in which darkening and brittleness or hardening of root apices are the evidence of  
 243 morphological and ultrastructural changes caused by phytotoxins (Capobiango et al., 2009).  
 244 According to Maraschin-Silva and Aquila (2006b), size reductions and necroses in lettuce  
 245 roots treated with aqueous extracts of species of the Gleicheniaceae family are similar to the  
 246 damage caused by natural detergents, such as saponins. Gatti et al. (2004) describes  
 247 abnormalities in lettuce seedlings as a result of allelopathic action, mainly in the root system,

248 after exposure to leaf extracts of *Asistolochia esperanzae* O. Kuntze, recording 100%  
 249 abnormal seedlings at the highest concentrations.

250 Although damaged, after 120 hours of experiment, some seedlings emitted secondary  
 251 roots as a form of compensation for the oxidation suffered by the main root that was first  
 252 exposed to the extracts.

253 *D. erecta* L. extracts significantly affected the initial growth of lettuce seedlings,  
 254 reducing root length (RL) and shoot length (SL) at all concentrations tested (Figure 4). The  
 255 highest concentrations of the hot extract of plants with (60, 80 and 100%) and without  
 256 pruning (100%) totally inhibited the growth of the bioassay (Figure 4B and 4D, respectively).



**Figure 4.** Root length (mm) and shoot length (mm) of *L. sativa* L. after exposure to hot and cold aqueous *Duranta erecta* L. leaf extracts with and without pruning. A) Cold *D. erecta* L. extract with

pruning; B) Hot *D. erecta* L. extract with pruning; C) Cold *D. erecta* L. extract without pruning; D) Hot *D. erecta* L. extract without pruning. Same letters between concentrations do not differ by the Scott-Knott test ( $p>0.05$ ).

257

258

Fujii et al. (2004) describes the allelopathic action of *D. repens* L. leachates on *L.*

259

*sativa* L. seeds as moderate, decreasing the length of the radicle and hypocotyl. Hiradate et al.

260

(1999) verified the inhibition in root growth of *B. juncea* seedlings exposed to durantina I, II

261

and III. Tur et al. (2010) found the same reduction in RL but, for SL, they found that some

262

concentrations of *D. repens* leaf extracts were similar to the control, and the fruit is a

263

stimulator of RL and SL.

264

The initial growth of seedlings (Figure 5) is more sensitive than germination, since the

265

phenomenon is discrete for each seed, germinating or not (Ferreira and Aquila, 2000). In

266

general, roots are more sensitive to the substances present in the extracts, when compared to

267

other seedling structures (Chon et al., 2000). This is due to the fact that roots are in direct and

268

prolonged contact with the extract (allelochemicals) in relation to the other seedling structures

269

(Chung et al., 2001) and/or a reflection of the distinct physiology between the structures

270

(Aquila et al., 1999). Maraschin-Silva and Aquila, (2006a) verified that not always an extract

271

prepared under high temperatures, which leads to greater extraction, has a more pronounced

272

effect in relation to a cold extract in the case of RL and SL of bioassays exposed to *Ocotea*

273

*puberula* extracts.

274



**Figure 5.** *L. Sativa* L. seedlings exposed to *D. erecta* L. extracts on the 7<sup>th</sup> day. A) Cold extract without pruning; B) Hot extract without pruning; C) Cold extract with pruning; D) Hot extract with pruning. Bar represents 10mm.

275

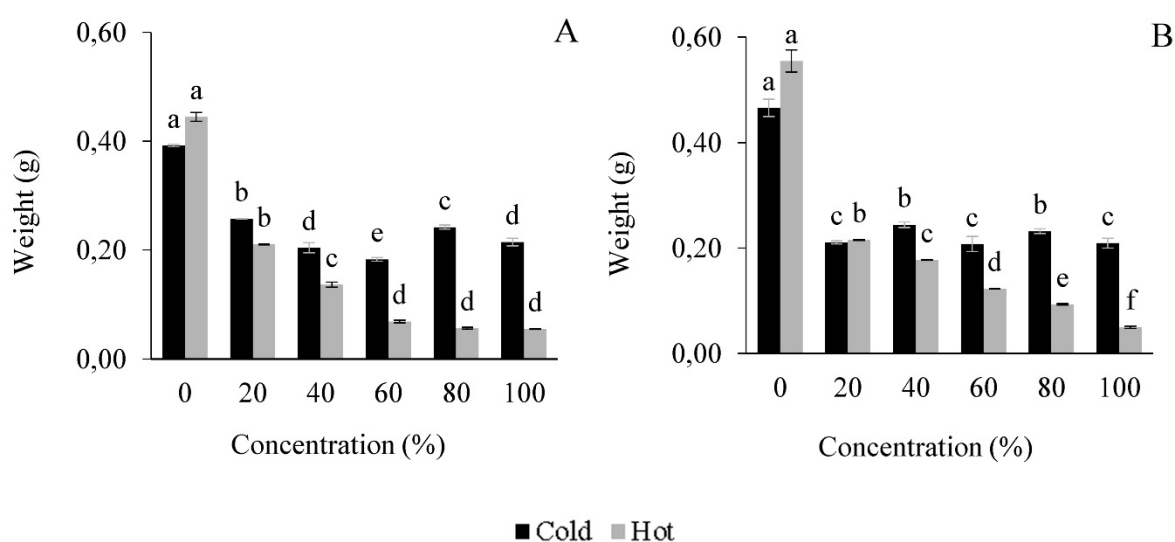
276 As for the fresh biomass (FB) of lettuce seedlings, a great reduction was observed

277 when compared to the control, and hot extracts with (60, 80, 100%) and without pruning

278 (100%) had lower FB values (Figure 6A and 6B), which corroborates the values of RL and

279 SL.

280



**Figure 6.** Fresh biomass (g) and dry biomass (g) of *L. sativa* L. after exposure to hot and cold aqueous *Duranta erecta* L. leaf extracts with and without pruning. A) Fresh biomass of *L. sativa* L. exposed to hot and cold *D. erecta* L. extract with pruning; B) Fresh biomass of *L. sativa* L. exposed to hot and cold *D. erecta* L. extract without pruning; Same letters between concentrations do not differ by the Scott-Knott test ( $p > 0.05$ ).

281

282

283 Tur et al. (2010) report that there were significant reductions in FB of lettuce

284 seedlings exposed to leaf extracts (dry and fresh), which was not observed for tomato

285 seedlings, except for fresh leaf extracts at low concentrations, causing the increase in FB.

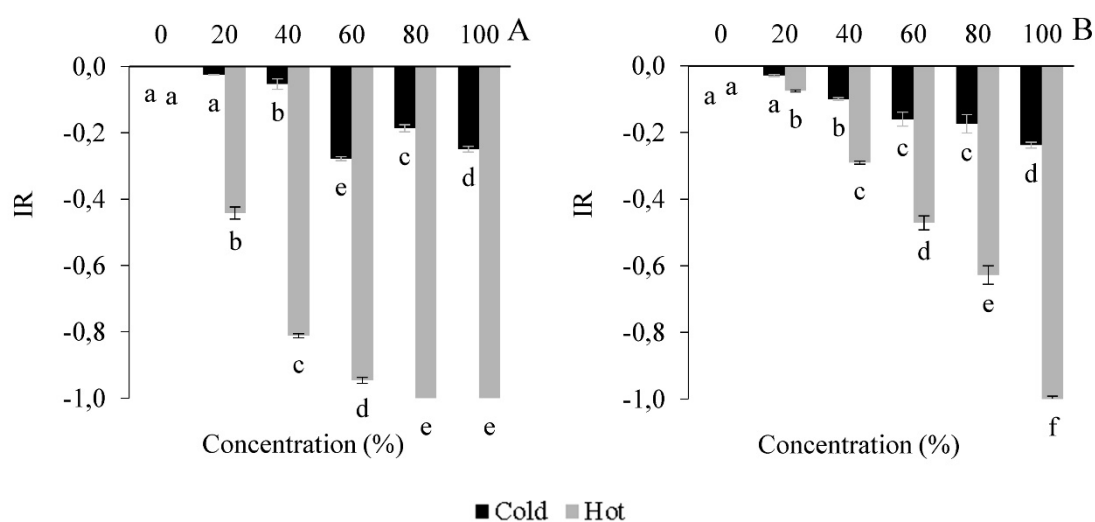
286 Also for these authors, in DB analyses, all extracts reduced the dry biomass of lettuce

287 seedlings whereas, for tomato seedlings, no significant changes were observed between the

288 concentrations used. Carmo et al. (2007) observed that leaf and bark extracts of Brazilian  
 289 sassafras trunk (*Ocotea odorifera*) affected both FB and DB of sorghum seedlings.

290 For the allelopathic effect index (RI), which indicates stimulus or inhibition when it  
 291 presents, respectively, positive or negative values in relation to the control, it can be observed  
 292 that there was an inhibitory allelopathic effect with concentration-dependent behavior,  
 293 especially more evident in pruned *D. erecta* L. extracts (Figure 7).

294



**Figure 7.** Allelopathic effect index in *L. sativa* L. after exposure to hot and cold aqueous *Duranta erecta* L. leaf extracts with and without pruning. A) Hot and cold *D. erecta* L. extract with pruning; B) Hot and cold *D. erecta* L. extract without pruning. Same letters between concentrations do not differ by the Scott-Knott test ( $p > 0.05$ ).

295

296 Several authors have used the allelopathic effect index to demonstrate the effects of  
 297 extracts on their bioassays ( Kong et al., 2002; Abdelgaleil and Hashinaga, 2007; Borella et  
 298 al., 2014) . According to Gao et al. (2009), the aqueous extracts of *Hemisepta lyrata* Bunge  
 299 caused inhibitory effects on germination of radish seeds at all concentrations tested. (Borella  
 300 et al., 2011) also reported the negative effects caused by *Schinus molle* extracts on radish.

301 **4 CONCLUSION**

302 *Duranta erecta* L. leaf extracts present allelopathic activity on the germination and  
303 initial growth of *Lactuca sativa* L. seedlings (cv. Babá de Verão).

304 Aqueous extracts with hot extraction had an allelopathic effect for the different  
305 management methods (with and without pruning), totally inhibiting germination at the highest  
306 concentrations.

307 The highest allelopathic effect indexes were observed for germination for the plant  
308 leaf aqueous extract under pruning at concentrations 80 and 100%.

309 Root and shoot length were equally affected in all treatments, with morphological  
310 abnormalities.

311 The hot aqueous extract of *D. erecta* L. leaves submitted to pruning significantly  
312 reduced germination and initial growth, indicating to be the most deleterious, which suggests  
313 the continuity of this study through cytogenotoxicity tests and chemical characterization of  
314 these extracts.

315

## 316 5 REFERENCES

317

318 Abdelgaleil, S.A.M., Hashinaga, F., 2007. Allelopathic potential of two sesquiterpene  
319 lactones from *Magnolia grandiflora* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 35, 737–742.  
320 <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.06.009>

321 Ahmad, N., Zeb, F., Ahmad, I., Wang, F., 2009. Repenins A-D, four new antioxidative  
322 coumarinlignoids from *Duranta repens* Linn. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 19,  
323 3521–3524. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.05.006>

324 Ahmed, W.S., Mohamed, M.A., El-Dib, R.A., Hamed, M.M., 2009. New triterpene  
325 saponins from *duranta repens* linn, and their cytotoxic activity. *Molecules* 14,  
326 1952–1965. <https://doi.org/10.3390/molecules14051952>

327 Anis, I., Anis, E., Ahmed, S., Mustafa, G., Malik, A., Amtul, Z., Rahman, A.U., 2001.  
328 Thrombin inhibitory constituents from *Duranta repens*. *Helv. Chim. Acta* 84, 649–  
329 655. [https://doi.org/10.1002/1522-2675\(20010321\)84:3<649::AID-  
330 HLCA649>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1522-2675(20010321)84:3<649::AID-HLCA649>3.0.CO;2-5)

331 Aqüila, M.E.A., Ungaretti, J.A.C., Michelin, A., 1999. Preliminary observation on  
332 allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Acta Hortic.*  
333 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.502.63>

- 334 Aumonde, T.Z., Martinazzo, E.G., Borella, J., Villela, F.A., Moraes, D.M. De, 2015.  
335 Desempenho fisiológico e metabolismo antioxidativo de plântulas de arroz-  
336 vermelho sob ação do extrato de *Philodendron bipinnatifidum*. *Iheringia, Série*  
337 *Botânica* 70, 47–56.
- 338 Barbosa, E.G., Pivello, V.R., Meirelles, S.T., 2008. Allelopathic evidence in *Brachiaria*  
339 *decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. *Brazilian Arch. Biol.*  
340 *Technol.* 51, 825–831. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000400021>
- 341 Barni, V., Barni, N.A., Silveira, J.R.P., 2003. Meloeiro em estufa: duas hastes é o  
342 melhor sistema de condução. *Ciência Rural. St. Maria* 33 (6), 1039–1043.  
343 <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000600007>
- 344 Borella, J., Martinazzo, E.G., Aumonde, T.Z., 2011. Atividade alelopática de extratos  
345 de folhas de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do  
346 rabanete. *Rev. Bras. Biociências* 9, 521–525.
- 347 Borella, J., Martinazzo, E.G., Aumonde, T.Z., do Amarante, L., de Moraes, D.M.,  
348 Villela, F.A., 2014. Desempenho de sementes e plântulas de rabanete sob ação  
349 de extrato aquoso de folhas de *Trema micrantha* (Ulmaceae). *Biosci. J.* 30, 108–  
350 116.
- 351 Brasil, A.N.D.V.S., 2010. Farmacopeia Brasileira, Volume 2, 5ª. ed, Agência Nacional  
352 de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa.
- 353 Brun, F.G.K., Longh, S.J., Brun, E.J., Freitag, Â.S., Schumacher, M.V., Longhi, S.J.,  
354 Brun, E.J., Freitag, Â.S., Schumacher, M.V., 2007. Comportamento Fenológico E  
355 Efeito Da Poda Em Algumas Espécies Empregadas Na Arborização Do Bairro  
356 Camobi – Santa Maria, Rs. *Rev. da Soc. Bras. Arborização Urbana* 2, 44–63.
- 357 Capobiango, R.A., Vestena, S., Bittencourt, A.H.C., 2009. Alelopatia de *Joanesia*  
358 *princeps* Vell. e *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. *Brazilian J.*  
359 *Pharmacogn.* 19, 924–930. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600023>
- 360 Carmo, F.M.D.S., Borges, E.E.D.L.E., Takaki, M., 2007. Alelopatia de extratos  
361 aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). *Acta Bot.*  
362 *Brasilica* 21, 697–705. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062007000300016>
- 363 Chung, I.M., Ahn, J.K., Yun, S.J., 2001. Assessment of allelopathic potential of  
364 barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Crop*  
365 *Prot.* 20, 921–928. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00046-1)
- 366 Ferreira, A.G., Aquila, M.E.A., 2000. Allelopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology.  
367 *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 12, 175–204.
- 368 Fujii, Y., Shibuya, T., Nakatani, K., Itani, T., Hiradate, S., Parvez, M.M., 2004.  
369 Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. *Weed Biol.*  
370 *Manag.* 4, 19–23. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2003.00113.x>
- 371 Gao, X., Li, M., Gao, Z., Li, C., Sun, Z., 2009. Allelopathic effects of *Hemistepta lyrata*  
372 on the germination and growth of wheat, sorghum, cucumber, rape, and radish  
373 seeds. *Weed Biol. Manag.* 9, 243–249. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2009.00345.x>
- 374
- 375 Gatti, A.B., Perez, S.C.J.G. De, Lima, M.I.S., 2004. Atividade alelopática de extratos  
376 aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento  
377 de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Bot. Brasilica* 18, 425–430.  
378 <https://doi.org/10.1590/S0102-33062004000300003>



- 379 Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P., 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no  
380 conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova* 30, 374–381.  
381 <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>
- 382 Govaerts, R., 2018. World Checklist of Selected Plant Families (*Duranta erecta* L.)  
383 [WWW Document]. WCSP World Checkl. Sel. Plant Fam. 2017.  
384 [https://doi.org/http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/b75a0b11e8a](https://doi.org/http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/b75a0b11e8a78e966f41ace97cd28993)  
385 [78e966f41ace97cd28993](https://doi.org/http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/b75a0b11e8a78e966f41ace97cd28993)
- 386 Hiradate, S., Yada, H., Ishii, T., Nakajima, N., Ohnishi-Kameyama, M., Sugie, H.,  
387 Zungsontiporn, S., Fujii, Y., 1999. Three plant growth inhibiting saponins from  
388 *Duranta repens*. *Phytochemistry* 52, 1223–1228. [https://doi.org/10.1016/S0031-](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00408-2)  
389 [9422\(99\)00408-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00408-2)
- 390 Iqbal, K., Malik, A., Mukhtar, N., Anis, I., Khan, S.N., Choudhary, M.I., 2004. Alpha-  
391 glucosidase inhibitory constituents from *Duranta repens*. *Chem. Pharm. Bull.*  
392 (Tokyo). 52, 785–789. <https://doi.org/10.1248/cpb.52.785>
- 393 Kong, C., Hu, F.E.I., Xu, X., 2002. ALLELOPATHIC POTENTIAL AND CHEMICAL  
394 CONSTITUENTS OF VOLATILES FROM *Ageratum conyzoides* UNDER  
395 STRESS. *J. Chem. Ecol.* 28, 1173–1182.
- 396 Maraschin-Silva, F., Aqüila, M.E.A., 2006a. Contribuição ao estudo do potencial  
397 alelopático de espécies nativas. *Rev. Árvore* 30, 547–555.  
398 <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000400007>
- 399 Maraschin-Silva, F., Aqüila, M.E.A., 2006b. Potencial alelopático de espécies nativas  
400 na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Bot.*  
401 *Brasilica* 20, 61–69. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062006000100007>
- 402 Maraschin-silva, F., Estefânia, M., Aqüila, A., 2005. Potencial alelopático de *Dodonaea*  
403 *viscosa* (L). *Jacq. Iheringia, Série Botânica* 60, 91–98.
- 404 Marchaim, U., Werker, E., Thomas, W.D.E., 1974. Changes in the Anatomy of Cotton  
405 Seed Coats Caused by Lucerne Saponins. *Bot. Gaz.* 135, 139–146.
- 406 Nikkon, F., Habib, M.R., Karim, M.R., Hossain, M.S., Mosaddik, M.A., Haque, M.E.,  
407 2008. Antishigellosis and Citotoxic Potency of Crude Extracts and Isolated  
408 Constituents from *Duranta repens*. *Korean Soc. Mycol.* 36, 173–177.  
409 <https://doi.org/10.4489/MYCO.2008.36.3.173>
- 410 Novaes, P., Molinillo, J.M.G., Varela, R.M., Macías, F.A., 2013. Ecological  
411 phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. *Phytochem. Rev.* 12, 839–  
412 855. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9315-3>
- 413 Pedrinho, R., Pivetta, F.L., Yasunaka, S., Da, C., Nerium, O., 2007. EFEITO DA  
414 ADUBAÇÃO NITROGENADA NA BIOMASSA E NO TEOR DE GLICOSÍDEOS  
415 CARDIOATIVOS DA ORNAMENTAL *Nerium oleander* L. *Ensaio e Ciência*  
416 *Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde* 11, 59–66.
- 417 Pereira, D.S., Holanda-Neto, J.P. de, Oliveira, M.S. de, Pereira, N.S., Maracajá, P.B.,  
418 Souza Filho, A.P. da S., 2017. Phytotoxic potential of the geopropolis extracts of  
419 the *Jadaira* stingless bee (*Melipona subnitida*) in weeds. *Rev. Caatinga* 30, 876–  
420 884. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n407rc>
- 421 Pereira, O.L., Soares, D.J., Barreto, R.W., 2006. First report of *Asteridiella pittieri* on  
422 golden dewdrop (*Duranta repens* var. *aurea*) in Brazil. *Australas. Plant Dis. Notes*  
423 1, 17–18.

- 424 Periotto, F., Perez, S.C.J.G. De, Lima, M.I.S., 2004. Efeito alelopático de *Andira*  
425 *humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e  
426 *Raphanus sativus* L. *Acta Bot. Brasilica* 18, 425–430.  
427 <https://doi.org/10.1590/S0102-33062004000300003>
- 428 Pinto, G., Kolb, R., 2015. Seasonality affects phytotoxic potential of five native species  
429 of Neotropical savanna *Journal: Botany* 94 (2), 81–89.  
430 <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/cjb-2015-0124>
- 431 Rocha, J.N., Johansson, L.A.P.S., Miranda, L. V., Lopes, G.C., Diniz, A., Mello, J.C.P.,  
432 Souza, J.R.P., 2014. Desenvolvimento de *maytenus ilicifolia* e de seus polifenóis  
433 totais sob condição de sombreamento e poda. *Rev. Bras. Plantas Med.* 16, 663–  
434 669. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/11\\_112](https://doi.org/10.1590/1983-084X/11_112)
- 435 Subsongsang, R., Jiraungkoorskul, W., 2016. An updated review on phytochemical  
436 properties of “Golden Dewdrop” *Duranta erecta*. *Pharmacogn. Rev.* 10, 2016–  
437 2018. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194042>
- 438 Takeda, Y., Morimoto, Y., Matsumoto, T., Ogimi, C., Hirata, E., Takushi, A., Otsuka,  
439 H., 1995. Iridoid glucosides from the leaves and stems of *Duranta erecta*.  
440 *Phytochemistry* 39, 829–833. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00024-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00024-2)
- 441 Tur, C.M., Borella, J., Pastorini, L.H., 2010. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta*  
442 *repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e  
443 *Lycopersicum esculentum*. *Biotemas*, 27, 23–32. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2010v23n2p13>
- 445 Xie, L.J., Zeng, R.S., Bi, H.H., Song, Y.Y., Wang, R.L., Su, Y.J., Chen, M., Chen, S.,  
446 Liu, Y.H., 2010. Allelochemical mediated invasion of exotic plants in China.  
447 *Allelopath. J.* 25, 31–50.
- 448

**AÇÃO ALELOPÁTICA DE DIFERENTES EXTRATOS DE FOLHAS E FRUTOS DE  
*Duranta erecta* L. (Verbenaceae) SOBRE O BIOTESTE *Lactuca sativa* L.**

**AUTORES:** Letícia Leite Moreira, João Vitor Calvelli Barbosa, Vitor Betelli, Luciene de Oliveira Ribeiro Trindade, Geraldo Alves da Silva, Sandro Barbosa.

**RESUMO**

O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito alelopático de extratos aquosos e etanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. em bioensaio com alface (*Lactuca sativa* L.). Foram obtidos os extratos nas concentrações de 8, 16, 24, 32 e 40 mg mL<sup>-1</sup>, sendo a água destilada utilizada como controle negativo. A fitotoxicidade foi analisada por meio de parâmetros como a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação, o comprimento de raiz, o comprimento da parte aérea, a biomassa fresca, a biomassa seca e o índice de efeito alelopático. A citogenotoxicidade foi analisada por meio do índice mitótico e da frequência de anormalidades cromossômicas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de Scott-Knott a 5% de significância. Os extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. apresentaram efeito fitotóxico sobre *L. sativa* L., uma vez que houve redução nos parâmetros de germinação, crescimento inicial e proliferação celular quando comparados ao controle. Dentre os tratamentos analisados, extrato etanólico de folhas de *D. erecta* L. apresentaram maior fitotoxicidade, visto que houve maior inibição de todos os parâmetros, inclusive demonstrando maior índice de efeito alelopático.

**Palavras chave:** Citotoxicidade, extrato aquoso, extrato etanólico, fitotoxicidade.

## 1 Introdução

A *Duranta erecta* L. (Syn. *Duranta repens* L.), pertencente à família Verbenaceae, é nativa da América Central e do Sul, bastante utilizada como planta ornamental em muitos países tropicais (SHAHAT et al., 2005). São cerca de 35 espécies do gênero *Duranta* distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (SHAHAT et al., 2005). A *Duranta erecta* L., conhecida como pingo-de-ouro, é um arbusto lenhoso que pode atingir até 1,5 m de altura, apresenta rápido crescimento e sua propagação pode ser através de estaquia no outono e inverno (REZENDE; ZUFFELLA-RIBAS; KOEHLER, 2013). Possui folhas amarelo-dourado, os frutos são alaranjados, drupáceos ou secos (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010).

Frequentemente, o pingo-de-ouro atinge um porte maior em relação às outras plantas, o que sugere possível interferência no estabelecimento e desenvolvimento de plantas que estão próximas, principalmente quando há a poda, cujas folhas e frutos caem e cobrem o solo ao seu entorno (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Além disso, esta espécie tem características como baixa exigência em relação ao tipo de solo, rápido crescimento e não requer frequentes irrigações, necessitando de nenhum ou pouco cuidado para o seu estabelecimento, o que pode ser considerado vantajoso comparado às demais espécies (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Há relatos do gênero *Duranta* spp. como uma promissora fonte de fármacos e auxiliares na agroindústria, tendo em vista já terem sido isolados vários compostos, incluindo alcaloides, acetofenona, cumarinas, ácido cinâmico, diterpenos, flavonóides, esteróides, glicosídeos de fenilpropanóides, triterpenes, saponinas e iridóides (AHMAD et al., 2009; ANIS et al., 2001).

Várias plantas exibem potencial alelopático em que sintetizam uma grande variedade de substâncias chamadas aleloquímicos, os quais incluem alcalóides, terpenoides, flavonóides, esteroides, taninos e compostos fenólicos (ALVES et al., 2004). Estas moléculas afetam o crescimento e o desenvolvimento de outras plantas e podem ser usadas com sucesso para reduzir ervas daninhas, contribuindo na busca por defensivos agrícolas e diminuindo o uso de herbicidas sintéticos (SILVEIRA; MAIA; COELHO, 2012). Deste modo, a alelopatia é definida como um fenômeno quimioecológico podendo influenciar no crescimento e no desenvolvimento da produção agrícola dos sistemas biológicos, sendo que os efeitos podem ser ocasionados por substâncias pertencentes a diferentes categorias de compostos secundários (MELHORANÇA FILHO et al., 2014; SOARES et al., 2002).

Existem diferentes métodos de extração, sobretudo com relação aos solventes que podem ser água, etanol, metanol, entre outros, e à temperatura de extração, que pode ser a frio ou a quente, tendo em conta os compostos alvos sendo deste modo necessária a adequação nos métodos de extração (SIMÕES et al., 2007). O avanço da química de produtos naturais, métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação têm contribuído bastante para um maior conhecimento dos compostos secundários que podem ser apresentados em diversas formas (ALVES et al., 2004; FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Neste cenário, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito alelopático de diferentes formas de extração com folhas e frutos de *Duranta erecta* L. verificando os efeitos sobre os parâmetros de germinação e crescimento inicial em biotestes com *Lactuca sativa* L.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### *Coleta*

Foram coletadas as folhas e frutos de *Duranta erecta* L. em populações localizadas no município de Alfenas-MG, sul de Minas Gerais, Brasil (S 21° 30' 22" HO 46° 11' 45.2"). Foram preparadas exsiccatas do material para identificação botânica, as quais estão armazenadas no Herbário da Universidade Federal de Alfenas, sob o registro 12392. O material foi coletado em setembro de 2016.

### *Obtenção dos extratos liofilizados*

**Extrato Aquoso** - Após a coleta, as folhas e frutos foram levadas para secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 45°C até apresentarem peso constante. As folhas e frutos secos foram pulverizados em moinho e a granulometria foi determinada acordo com a Farmacopeia (2010). A solução extrativa foi obtida através do método de decocção, utilizando 20g das amostras 100 mL de água destilada aquecida na temperatura de 90°C, permanecendo em ebulição durante 15 min e em repouso por 30 min até atingir a temperatura ambiente a solução foi filtrada e completada com 100ml de água destilada obtendo-se a solução estoque (20%) (FARMACOPÉIA, 2010).

**Extrato hidroetanólico** – A solução extrativa foi obtida pelo método de percolação simples, em que o processo teve início com o intumescimento prévio de 50g do pó com solução hidroetanólica (v/v). Ajustou-se o fluxo de percolação a uma velocidade que não excedesse a 3mL/min de percolado (FARMACOPÉIA, 2010).

**Secagem dos extratos** - Após a extração, os percolados foram rotaevaporados, sob pressão reduzida, em temperatura de 60°C. Os extratos hidroetanólicos concentrados foram transferidos para vidros e armazenados no freezer para posterior secagem em liofilizador. Na secagem por liofilização, os extratos estavam congelados para serem submetidos ao processo nas condições ideais de pressão, temperatura e tempo de liofilização. Deste modo obteve-se o extrato seco dos diferentes processos de extração, e o produto foi acondicionado em frascos âmbar, hermeticamente fechados, mantidos em dessecador provido de sílica, até o momento de uso.

**Preparo das amostras** - O rendimento dos extratos foi feito utilizando 4g da droga vegetal para 100mL do solvente para extração aquosa (água) e para extração hidroetanólica (álcool etílico) armazenados em cápsulas de porcelana para secagem em banho de água a 105°C até atingirem o peso constante (FARMACOPEIA, 2010). O melhor rendimento entre os tipos de extração foi o aquoso com 0,1405 g de extrato seco ou seja 14%. Deste modo, efetuou-se uma solução estoque a 10%, valor mínimo desejado para testar o efeito da droga na germinação das sementes de alface. Desta maneira usou-se o total da massa dos extratos aquoso e hidroetanólico x 10g, em que resultou na utilização de 40mg mL<sup>-1</sup> de extratos liofilizados para as diluições em água destilada nas respectivas concentrações 8, 16, 24, 32 e 40 mg mL<sup>-1</sup>. Foram aferidos o pH e o potencial osmótico de todos os extratos (PINTO & KOLB 2015) com o objetivo de eliminar as interferências no bioensaio.

### **Triagem fitoquímica**

A pesquisa fitoquímica teve por objetivos conhecer os constituintes químicos da *Duranta erecta L.* ou avaliar sua presença nos mesmos. Os extratos de cada tratamento foram submetidos a testes fitoquímicos qualitativos realizados por cromatografia em camada delgada, utilizando para fins comparativos de marcadores químicos aplicados em amostras com 10 µL, em placas cromatográficas de sílica gel F254 (MACHEREY-NAGEL®) usando os reveladores: NP-PEG, cloreto félico, dragendorff, KOH – 5%, NAOH – 8% e luz ultravioleta. Nas análises

de ácidos fixos foram usados os seguintes ácidos: rutina, quercetina, ácido gálico, pilocarpina, extrecnina, octeína, quinino, atropina, cascara sagrada e cumarinas.

### ***Ensaio de fitotoxicidade***

Os bioensaios foram conduzidos em placas de Petri 70mm de diâmetro contendo duas folhas de papel Germitest® umedecidas com 3mL de solução, nas diferentes concentrações dos extratos (8, 16, 24, 32 e 40 mg mL<sup>-1</sup>) e água destilada como controle negativo (0). Para cada repetição foram distribuídas uniformemente 30 cipselas de Alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Babá de Verão, adquiridas no comércio local. As placas foram mantidas em câmara de germinação do tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. A porcentagem de germinação (%G) foi avaliada com 24 e 48 horas após a plotagem do experimento (RIBEIRO et al., 2012). Com relação ao índice de velocidade de germinação (IVG), a germinação foi analisada a cada 6 horas, até completar 48h e até o 7º dia com intervalos de 24 horas.

No sétimo dia de avaliação, todo material contido nas placas foi pesado, compondo a biomassa fresca (BF). O alongamento de raiz (AR) e comprimento de parte aérea (CPA) foram mensurados a partir de 10 plântulas selecionadas aleatoriamente sendo as medidas realizadas com o auxílio de um paquímetro digital (DIGIMESS® 150mm). O material foi armazenado em sacos de papel e levados para estufa a 40°C com circulação de ar por 7 dias para secagem. Após secas foi obtida a biomassa seca (BS).

A partir dos dados de germinação foi calculado o índice de efeito alelopático (RI) (BORELLA; MARTINAZZO; AUMONDE, 2011), conforme as seguintes fórmulas:

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

Onde:

RI = índice de efeito alelopático;

C = velocidade de germinação do controle;

T = velocidade de germinação do tratamento;

Sendo que a velocidade de germinação (VG) foi obtida:

$$VG (\%) = \Sigma (Gt/D) / \Sigma (Gc/Dx100)$$

Onde:

Gt = número de sementes germinadas diariamente do tratamento.

Gc = número de sementes germinadas diariamente do controle.

D = número de dias correspondente

### ***Ensaio de citotoxicidade***

Nas avaliações de citogenotoxicidade, as sementes de *L. sativa* L. colocadas nas condições descritas anteriormente, após a protrusão radicular foram coletadas as pontas de raiz, fixadas em Carnoy e armazenadas a -18°C (RODRIGUES; BARBOSA; PAZIN, 2013). Após 24 horas o Carnoy foi trocado e então confeccionadas as lâminas citológicas pelo método de esmagamento (RIBEIRO et al., 2012). Para determinação do índice mitótico (IM) foram analisadas 6000 células por tratamento. As anormalidades cromossômicas foram quantificadas em micronúcleo, ponte em anáfase, ponte em telófase, c-metáfase, *stickiness*, cromossomo perdido.

### ***Análise estatística***

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (2x2x6), sendo dois órgãos (folhas e fruto), duas formas de extração (aquoso e hidroetanólico), e seis concentrações (0, 8, 16, 24, 32 e 40 mg mL<sup>-1</sup>), com três repetições com 30 sementes cada.

Os dados obtidos de germinabilidade (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), alongamento de raiz (AR), comprimento de parte aérea (CPA) biomassa fresca (BF), biomassa seca (BS), índice de efeito alelopático (RI) e índice mitótico foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por meio do teste Scott-Knott a 5% de significância utilizando o programa Sisvar versão 5.4.



### 3 RESULTADOS

O valor médio de pH nos extratos aquosos e hidroetanólicos de *Duranta erecta* L. foi 5,58 e a osmolaridade dos extratos na menor e maior concentração (8 e 32 mg mL<sup>-1</sup>) variou de 22 a 130 Mpa, respectivamente.

**Triagem fitoquímica** – Na análise qualitativa dos extratos foi possível detectar os principais grupos de metabólitos que se encontram presentes nas amostras (Tabela 1), sendo esse conhecimento utilizado como base para o posterior isolamento de substâncias.

**Tabela 1.** Análise dos compostos presentes nos extratos de *Duranta erecta* L, em que os resultados mostram a presença (+) ou ausência (-) das frações.

TESTES FITOQUÍMICOS	RESULTADO
FLAVONÓIDES	+
COMPOSTOS FENÓLICOS	+
ALCALÓIDES	-
ANTRAQUINONAS	-
CUMARINAS	-

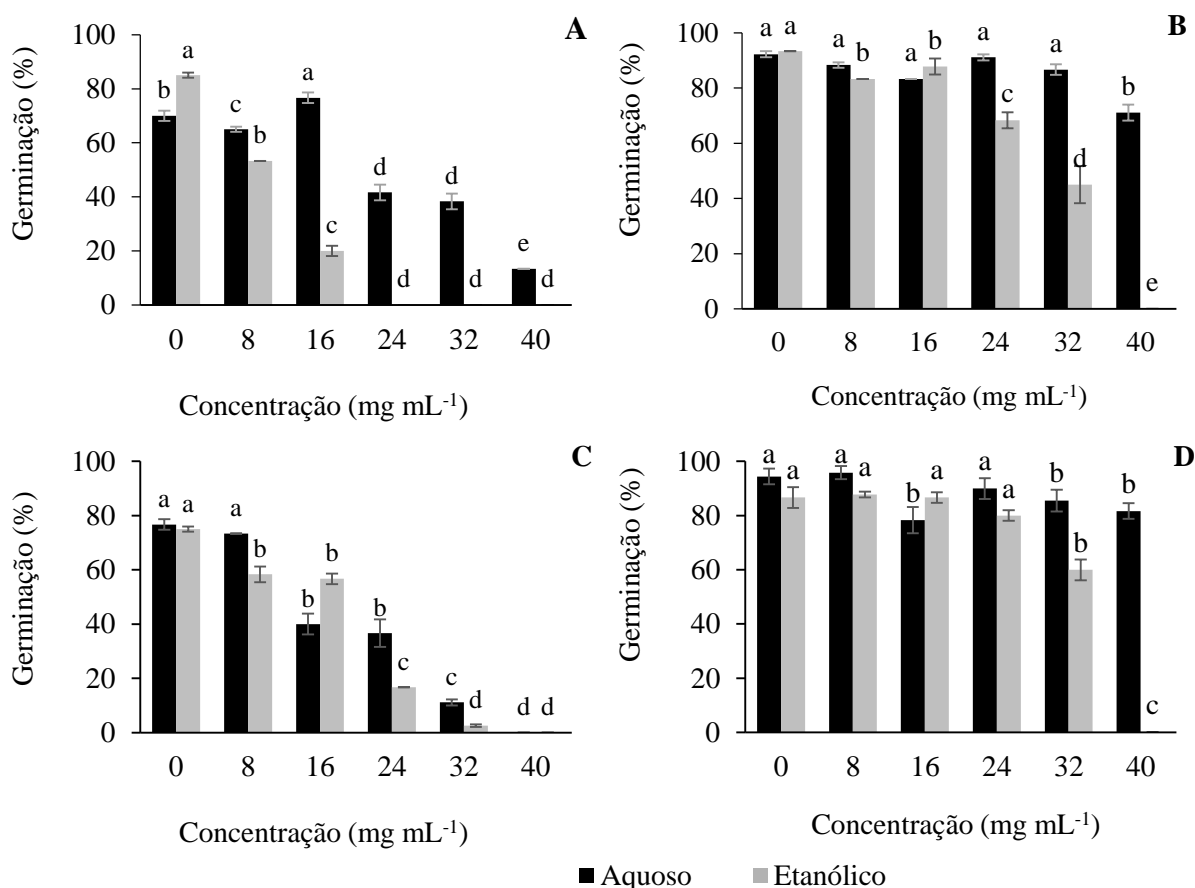
**Ensaio de fitotoxicidade** – Os extratos hidroetanólicos, sobretudo de folhas de *Duranta erecta* L. mostraram-se mais fitotóxicos uma vez que ocasionaram os menores valores em todos os parâmetros, inclusive exibindo o maior índice de efeito alelopático (Tabela 2).

**Tabela 2.** Comparação entre órgãos e extratos de *Duranta erecta* L. sobre bioensaio com *L. sativa* L.

	%G (24h)	%G (48h)	%G (7°d)	IVG	AR (mm)	CPA (mm)	BF (g)	IM	RI
<b>Controle</b>	76,66 <sup>a</sup>	91,67 <sup>a</sup>	97,22 <sup>a</sup>	8,63 <sup>a</sup>	26,28 <sup>a</sup>	21,27 <sup>a</sup>	0,56 <sup>a</sup>	19,41 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
<b>Folha Hidroetanólico</b>	14,66 <sup>e</sup>	56,89 <sup>d</sup>	88,67 <sup>b</sup>	4,48 <sup>e</sup>	5,28 <sup>d</sup>	2,34 <sup>c</sup>	0,13 <sup>c</sup>	0,47 <sup>c</sup>	-0,43 <sup>e</sup>
<b>Folha Aquoso</b>	47,00 <sup>b</sup>	84,11 <sup>b</sup>	92,56 <sup>b</sup>	6,03 <sup>b</sup>	5,41 <sup>d</sup>	1,63 <sup>d</sup>	0,14 <sup>c</sup>	2,72 <sup>b</sup>	-0,17 <sup>b</sup>
<b>Fruto Hidroetanólico</b>	26,83 <sup>d</sup>	62,89 <sup>c</sup>	91,11 <sup>b</sup>	4,93 <sup>d</sup>	7,99 <sup>c</sup>	3,23 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	3,90 <sup>b</sup>	-0,31 <sup>d</sup>
<b>Fruto Aquoso</b>	32,22 <sup>c</sup>	86,27 <sup>b</sup>	90,00 <sup>b</sup>	5,43 <sup>c</sup>	11,06 <sup>b</sup>	2,84 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	3,43 <sup>b</sup>	-0,25 <sup>c</sup>

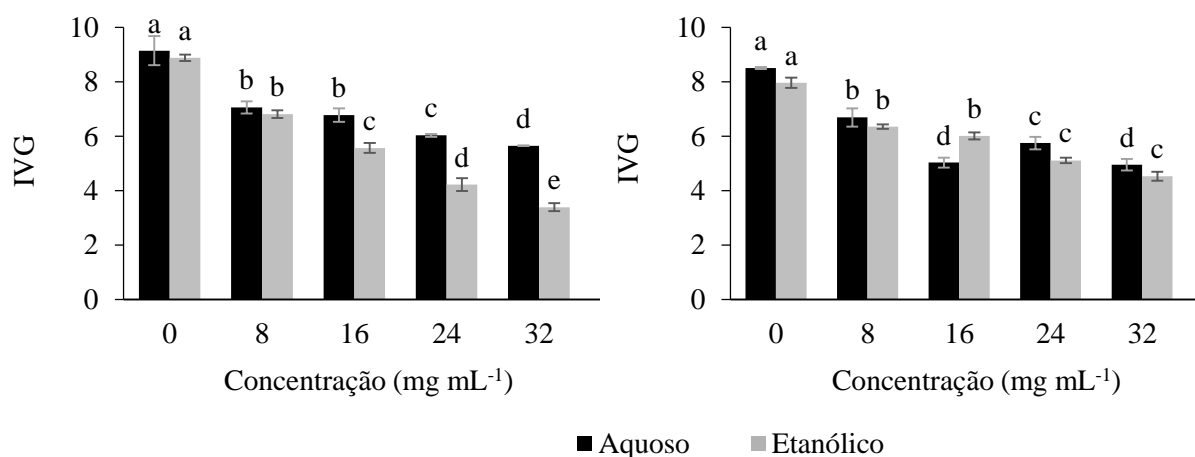
**%G** = Porcentagem de germinação para 24h, 48h e 7º dia, respectivamente; **IVG** = Índice de velocidade de germinação; **AR** = Alongamento de raiz; **CPA** = Comprimento de parte aérea; **BF** = Biomassa fresca; **RI** = Índice de efeito alelopático. Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

Para a porcentagem de germinação (%G) com 24h e 48h, os extratos de folhas aquoso e hidroetanólico de *D. erecta* L. apresentaram diferença estatística entre si e entre as concentrações e o controle, em que com o aumento das concentrações a taxa de germinação diminuiu. Este efeito foi maior nas sementes expostas ao extrato hidroetanólico, principalmente na %G com 24h (Figura 3).



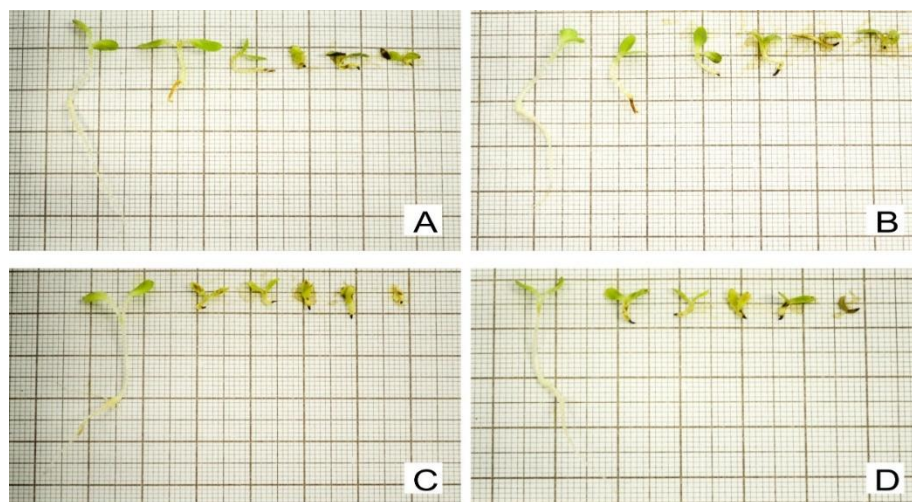
**Figura 3.** Porcentagem de germinação de *L. sativa* L. com 24 e 48h após exposição aos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas (A e B) e frutos (C e D) de *Duranta erecta* L. A) Germinação com 24hs após exposição aos extratos de folhas; B) Germinação com 48hs após exposição aos extratos de folhas; C) Germinação com 24hs após exposição aos extratos de frutos; D) Germinação com 48hs após exposição aos extratos de folhas. Letras iguais entre as concentrações não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p>0,05$ ).

Os extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *D. erecta* L. afetaram negativamente o IVG em relação ao controle. Os maiores atrasos na germinação foram observados sobretudo nas maiores concentrações do extrato hidroetanólico de folhas dessa espécie (Figura 4).

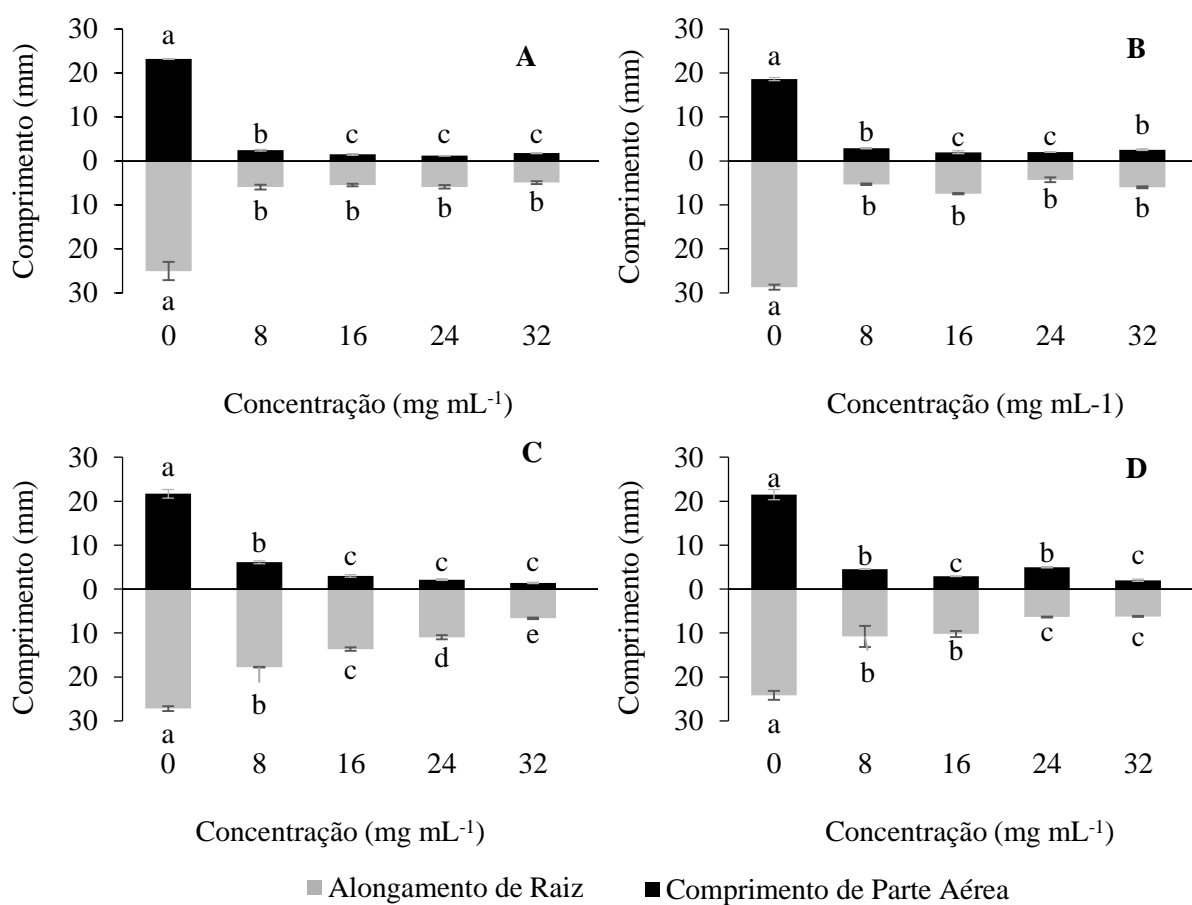


**Figura 4.** Índice de velocidade de germinação de *L. sativa* L. após exposição aos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. A) Extrato de folhas; B) Extrato de frutos. Letras iguais entre as concentrações não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

Todos os extratos e concentrações testadas de *D. erecta* L. reduziram significativamente o alongamento de raiz (AR) e o comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas de alface em relação ao controle (Figuras 5 e 6). Além disso, cabe ressaltar que, na maioria dos tratamentos, as concentrações não diferiram entre si, exceto para as plântulas expostas ao extrato aquoso de frutos de *D. erecta* L. em que houve um comportamento concentração-dependente, ou seja, à medida que se aumenta a concentração, há uma redução no AR e CPA (Figura 6C).

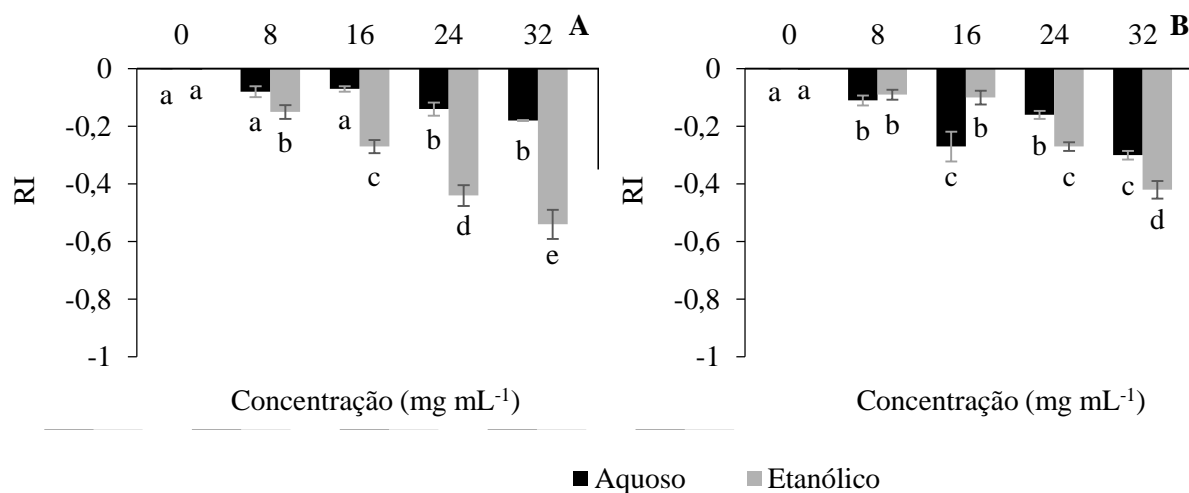


**Figura 5.** Plântulas de *L. sativa* L. expostas aos extratos de *D. erecta* L. ao 7º dia. A) Extrato aquoso de frutos; B) Extrato hidroetanólico de frutos; C) Extrato aquoso de folhas; D) Extrato hidroetanólico de folhas.



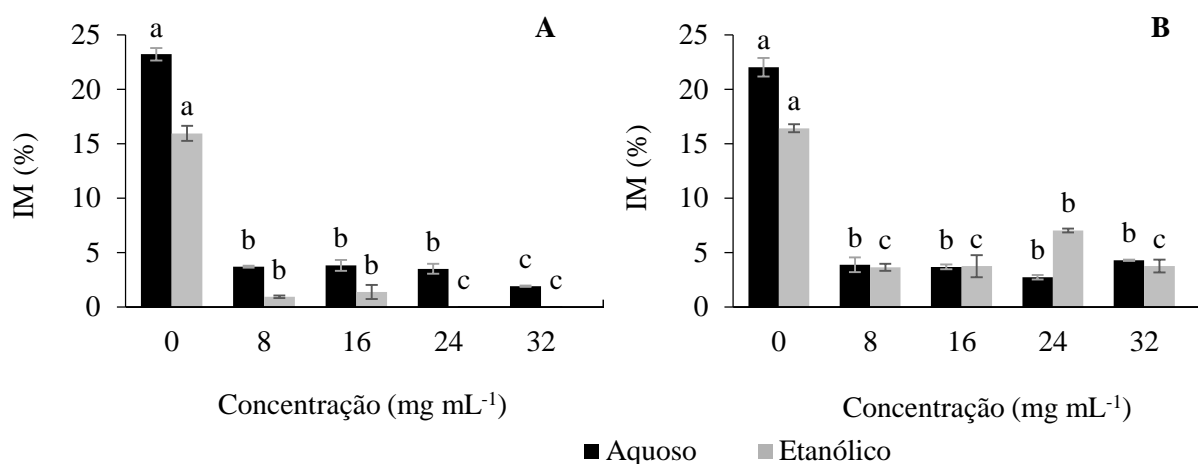
**Figura 6.** Alongamento de raiz (mm) e comprimento de parte aérea (mm) de *L. sativa* L. após exposição aos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. A) Extrato aquoso de folhas; B) A) Extrato hidroetanólico de folhas; C) Extrato aquoso de frutos; D) Extrato hidroetanólico de frutos. Letras iguais entre as concentrações não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

**Índice de efeito alelopático (RI)** – Sendo este índice um indicador de efeito alelopático inibitório quando os valores são negativos, pode-se observar que com o aumento da concentração dos extratos, sobretudo dos extratos hidroetanólicos de folhas, houve maior RI inibitório (Figura 7).



**Figura 7.** Índice de efeito alelopático em *L. sativa* L. após exposição aos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. A) Extrato de folhas; B) Extrato de frutos. Letras iguais entre as concentrações não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

**Ensaio de citotoxicidade** – Para as análises de citotoxicidade da *D. erecta* L. verificou-se redução no índice mitótico (IM) em relação ao controle nas duas formas de extração (aquoso e hidroetanólico) para os dois órgãos (folhas e frutos). Tal efeito é mais evidente nas maiores concentrações, sendo as concentrações de 24 e 32 mg mL<sup>-1</sup> do extrato hidroetanólico de folhas responsável pela inibição total da divisão celular (Figura 8).



**Figura 8.** Índice mitótico em *L. sativa* L. após exposição aos extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. A) Extrato de folhas; B) Extrato de frutos. Letras iguais entre as concentrações não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

A maior frequência de anormalidades cromossômicas foi observada no controle, e isso, provavelmente, deve-se ao fato da elevada taxa de divisão celular (IM) quando comparada aos demais tratamentos (Tabela 3). Por esse motivo, acredita-se que a baixa frequência de anormalidades cromossômicas (FAC) nas raízes expostas aos extratos hidroetanólicos foliares de *D. erecta* L., inclusive com ausência das anormalidades ponte em telófase (PT), c-metáfase (CM) e cromossomo perdido (CP) esteja associada ao reduzido IM.

**Tabela 3.** Anormalidades cromossômicas causadas por diferentes extratos de *Duranta erecta* L. em *L. sativa* L.

Tratamento	Alterações cromossômicas em 6000 células por tratamento						IM (%)	FAC (%)
	MN	PA	PT	CM	ST	CP		
<b>Controle</b>	14±1,50	24±0,91	55±2,93	4±0,41	17±2,02	86±5,72	19,41	3,33±0,04
<b>Folha Aquoso</b>	31±3,69	3±0,24	3±0,40	12±1,12	10±1,26	20±2,59	2,72	1,32±0,03
<b>Fruto Aquoso</b>	47±4,50	12±1,03	12±1,29	28±3,36	19±1,77	18±0,60	3,43	2,27±0,03
<b>Folha Hidroetanólico</b>	1±0,20	1±0,20	0±0,00	0±0,00	1±0,20	0±0,00	0,47	0,05±0,00
<b>Fruto Hidroetanólico</b>	8±1,60	1±0,20	8±1,03	5±0,63	13±1,60	4±0,49	3,9	0,65±0,02

MN = micronúcleo; PA = Ponte em anáfase; PT = Ponte em telófase; CM = C-metáfase; ST = Stickiness; CP = Cromossomo perdido; IM = Índice mitótico; FAC = Frequência de anormalidades cromossômicas.

#### 4 DISCUSSÃO

Os níveis de pH bem como os potenciais osmóticos dos extratos de *D. erecta* L. estão dentro dos limites ideais descritos na literatura para esse tipo de bioensaio (PINTO & KOLB, 2015). De acordo com esses mesmos autores, valores de pH semelhantes aos encontrados nesse trabalho não interferem nos processos de germinação e o crescimento inicial de *L. sativa*. Além disso, soluções com um potencial osmótico de até -0,2 MPa não têm nenhum efeito no crescimento da alface (Gatti et al., 2014).

Na literatura pesquisas demonstram que foram isolados no gênero *Duranta* spp. compostos como alcaloides, acetofenonas, cumarinas, ácido cinâmico, diterpenos, flavonóides, esteroides, glicosídeos de fenilpropanóides, triterpenes, saponinas e iridóides (AHMAD et al., 2009; ANIS et al., 2001). Os testes fitoquímicos apontaram a presença de flavonoides nos extratos aquoso e hidroetanólico em folhas e frutos de *D. erecta* L. De acordo com Pelol et al. (2016) esse metabólito também foi detectado em análises fitoquímicas com outras espécies da família Verbenaceae como nas cascas dos caules, folhas e raízes de *Vitex gardneriana*; em partes aéreas, caules e folhas de *Priva lappulacea* (L.) e nos frutos de *Duranta repens* L. Nas análises de ácidos fixos foi detectada a presença de compostos fenólicos nos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas e frutos de *Duranta erecta* L., sendo amplamente citados em outros estudos com espécies da família Verbenaceae (SOUZA et al., 2005; PELOL et al., 2016). De modo geral, sabe-se que os flavonoides e compostos fenólicos apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir o crescimento de plantas e fungos (SOUZA et al., 2005).

Extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. apresentaram efeito fitotóxico sobre *L. sativa* L., uma vez que houve redução nos parâmetros de germinação, crescimento inicial e proliferação celular quando comparados ao controle. Dentre os tratamentos analisados, extrato hidroetanólico de folhas de *D. erecta* L. apresentaram maior fitotoxicidade, visto que houve maior inibição de todos os parâmetros, inclusive demonstrando maior índice de efeito alelopático. Os dados obtidos corroboram com os resultados encontrados no estudo de Tur; Borella e Pastorini (2010), em que sementes de alface expostas aos extratos aquosos de folhas frescas e secas de pingo-de-ouro sofreram atrasos na germinação. Os extratos aquosos de frutos não afetaram a germinação inicial da Alface, fato que também foi observado no estudo de Tur; Borella e Bastorini (2010). Em Silva et al. (2010), na análise do IVG foi possível observar uma interferência direta dos componentes dos extratos hidroetanólicos de folhas das duas espécies avaliadas independente da concentração utilizada, porém tanto para *A.*

*graveolens* e *A. macrocarpa* o efeito sobre a germinação das sementes testadas foi dose dependente. Os extratos hidroetanólicos de *A. graveolens* e *A. macrocarpa* apresentaram atividade alelopática em todas as concentrações analisadas em relação ao grupo controle, visto que foram observadas alterações na germinabilidade, tempo médio de germinação e velocidade média de germinação (SILVA et al., 2010).

O RI (índice de efeito alelopático) foi maior para o extrato hidroetanólico de folha de *Duranta erecta* L. Dados apresentados por Borella; Martinazzo e Aumonde (2011) mostram que todas as concentrações testadas de *S. molle* inibiram a germinação das sementes de rabanete, sendo os efeitos inibitórios proporcionais ao aumento da concentração dos extratos, evidenciando altos índices de efeito alelopático. Estudos com extratos de folhas de *R. typhina* mostram o efeito dos aleloquímicos liberados no ecossistema causando visivelmente um efeito alelopático na *Lactuca sativa* L. (WANG et al., 2017).

Os parâmetros de crescimento inicial, sobretudo alongamento de raiz (AR), comprimento de parte aérea (CPA) e biomassa fresca (BF) foram prejudicados com o efeito dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *D. erecta* L. em todas concentrações. Tur, Borella e Bastorini (2010) obtiveram resultados semelhantes com extratos aquosos de folhas de pingo-de-ouro, os quais reduziram significativamente o comprimento radicular e a biomassa fresca das plântulas de alface. Extratos aquosos de linhaça (*Linum usitatissimum* L.), na concentração de 100%, afetaram negativamente as plântulas de alface, demonstrado pelos menores valores de AR, CPA e BF (NUNES et al., 2014).

O IM foi reduzido em todos os extratos em relação ao controle, sendo o extrato de folha hidroetanólico responsável pelo menor IM, o que comprova o efeito alelopático de *D. erecta* L. Ribeiro et al (2012) relataram a redução no índice de divisão celular de plântulas de alface com o aumento da concentração dos extratos de barbatimão. Conforme Leme & Marin-Morales (2009), o IM é um parâmetro caracterizado pelo número total de células em divisão no ciclo celular, assim é possível detectar a citotoxicidade de vários agentes. Os níveis de citotoxicidade de um agente podem ser determinados pelo aumento ou diminuição do IM; deste modo, índices mitóticos inferiores ao controle podem indicar alterações decorrentes da ação química nos organismos expostos (LEME & MARIN-MORALES, 2009). Efeitos fisiológicos ocasionados por interações alelopáticas são bastante observados pela inibição da porcentagem e velocidade da germinação e na redução do crescimento inicial, sendo respostas secundárias de efeitos primários que ocorrem no processo metabólico das plantas afetadas (BORELLA;



MARTINAZZO; AUMONDE 2011). É visível que os aleloquímicos agem sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta, o que caracteriza manifestações secundárias de efeitos ocorridos inicialmente a nível molecular e celular (FERREIRA & AQUILA 2000; RIBEIRO et al., 2012).

As anormalidades cromossômicas mostraram-se menos frequentes nas células expostas aos extratos que no controle, uma vez que o IM reduziu significativamente em todos os tratamentos e concentrações. Souza et al. (2005) corroboram com esses resultados, em que além do efeito citotóxico, uma análise qualitativa sugeriu um possível efeito genotóxico do extrato de espinheira-santa, uma vez que o extrato provocou alterações cromossômicas como pontes em anáfase. Cuchiara et al. (2007) constataram redução da divisão celular conforme aumento da concentração do extrato de mamona (*Ricinus communis* L.), sendo que na concentração mais elevada não foram observadas células em divisão. Além disso, foram observadas anormalidades cromossômicas em todas as concentrações testadas com valores mais altos nas menores concentrações (5 e 10 mg/mL) explicadas pelo maior índice mitótico nessas concentrações.

## 5 CONCLUSÃO

Extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e frutos de *Duranta erecta* L. apresentaram efeito fitotóxico sobre *L. sativa* L., uma vez que houve redução nos parâmetros de germinação, crescimento inicial e proliferação celular quando comparados ao controle.

Dentre os tratamentos analisados, extrato hidroetanólico de folhas de *D. erecta* L. apresentaram maior fitotoxicidade, visto que houve maior inibição de todos os parâmetros, inclusive demonstrando maior índice de efeito alelopático.

## REFERÊNCIAS

AHMAD, N. et al. Repenins A–D, four new antioxidative coumarinolignoids from *Duranta repens* Linn.. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 13, p. 3521–3524, 2009.

ALVES, M. C. S. et al. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface Maria. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p.1083-1086, set. 2004.

ANIS, I. et al. Thrombin inhibitory constituents from *Duranta repens*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 84, n. 3, p. 649–655, 2001.

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

BORELLA, J.; TUR, C. M.; PASTORINI L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**, v. 2, n. 23, p.13-22, jun. 2010.

CUCHIARA, Cristina Copstein et al. Efeito Antiproliferativo dos Extratos Aquosos de Mamona (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p.639-641, 2007.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Allelopathy : an emerging topic in ecophysiology. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 12, p. 175–204, 2000.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasileira**, v. 18, n. 3, p.459-472, 2004.

LEME, D. M.; MARRIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its applications. **Mutation Research**, v. 682, p. 71-78, 2009.

MELLO D. R. M. (Org.). **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, p. 523, 2010.

MELHORANÇA FILHO, A. L. et al. Potencialidade alelopática de oaca (*Eupatorium laevigatum* Lam.) sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 2, p.29-36, 2014.

NUNES, Joseli Viviane Ditzel et al. ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE EXTRATOS DE PLANTAS DE COBERTURA SOBRE SOJA, PEPINO E ALFACE. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p.122-130, 2014.

PELOL, K. E. et al. Utilização de planejamento fatorial para a determinação da capacidade antioxidante e doseamento de flavonoides totais em *Verbena*, v. 18, n. 1, p.1-8, 2016.

PINTO, G.; KOLB, R. Seasonality affects phytotoxic potential of five native species of Neotropical savanna. **South African Journal of Botany**, v. 3, n. 23, p.1-6, 2015.

REZENDE, F.P.F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; KOEHLER, H.S.; Aplicação de extratos de folhas e tubérculos de *Cyperus rotundus* L. e de auxinas sintéticas na estaquia caulinar de *Duranta repens* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 15, n. 4, p. 639-645, 2013.

RIBEIRO, L. O. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 2, n. 1, p.1-6, 2012.

ROCHA, Naklsdh Josadgh et al. Desenvolvimento de *Maytenus ilicifolia* e de seus polifenóis totais sob condição de sombreamento e poda. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p.663-669, 2014.

RODRIGUES, L. C. de A. et al. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p.1099-1108, jul. 2013.

SHAHAT, A. A. et al. Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of *Duranta repens*. **Phytotherapy Research**. v. 19, n. 2, p.1071-1078, 2005.

SIMÕES C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Florianópolis. Porto Alegre: UFRGS/UFSC. 2007.

SILVA, R. M. G. et al. Potencial alelopático de extrato etanólico de *Anadenanthera macrocarpa* e *Astronium graveolens*. **Bioscience Journal**, v. 22, n. 4, p.632-636, 2010.

SILVEIRA, P. F.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de *Mimosa tenuiflora* (willd.) Poir. na germinação de *Lactuca sativa* L. **Original Article**, v. 28, n. 3, p. 472-477, 2012.

SOARES, G. L. G. et al. potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, v. 19, n. 1, p.119-126, 2002.

SOUZA, S.A.M. et al. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 1, p. 3-9, 2005.

SOUZA, S. A. M. et al. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex reiss.). **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 11, n. 4, p.7-14, 2005.

TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 13-22, 2010.

WANG, Cidnf et al. Differences in leaf functional traits and allelopathic effects on seed germination and growth of *Lactuca sativa* between red and green leaves of *Rhus typhina*. **South African Journal of Botany**, v. 111, n. 2, p.17-22, 2017.