



**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA – DQB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR –**  
**PPBM**

**NATÁLIA CAVALCANTE DA COSTA**

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers SOBRE A  
GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DE *Lactuca sativa* L. e *Cenchrus  
echinatus* L.**

**CRATO – CEARÁ**  
**2016**

**NATÁLIA CAVALCANTE DA COSTA**

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers SOBRE A GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DE *Lactuca sativa* L. e *Cenchrus echinatus* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Arlene Pessoa da Silva

**CRATO – CEARÁ  
2016**

**NATÁLIA CAVALCANTE DA COSTA**

**ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers SOBRE A  
GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DE *Lactuca sativa* L. e *Cenchrus  
echinatus* L.**

Dissertação apresentada e aprovada pela Banca Examinadora em 22/02/2016.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Arlene Pessoa da Silva  
Universidade Regional do Cariri – URCA  
(Orientadora)

---

Prof. Dr. João Tavares Calixto Júnior  
Faculdade de Juazeiro do Norte - FJN  
(Membro Externo)

---

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho  
Universidade Regional do Cariri – URCA  
(Membro Interno)

---

Prof. Dr. George Pimentel Fernandes  
Universidade Regional do Cariri – URCA  
(Membro Suplente)

*Dedico este trabalho, com toda a gratidão,  
à minha mãe Luzinete Cavalcante da Costa,  
por todo amor, dedicação e apoio,  
desde o início da minha vida.*

*Mãe, só posso lhe dizer, obrigada!*

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade de viver e realizar;

À minha família, minha mãe Luzinete Cavalcante da Costa que foi e é meu alicerce e minha inspiração, a pessoa que me faz continuar caminhando sempre; ao meu namorado, Thiago Soares Beserra, que durante os últimos anos me apoiou e incentivou em todos os momentos;

À minha orientadora Arlene Pessoa, que me deu a oportunidade de vivenciar a pesquisa científica de perto, de fazer ciência e por ser sempre acolhedora e humilde para com todos. Grande exemplo a ser seguido, muito obrigado professora.

À Banca de qualificação, na pessoa dos professores Allysson Pontes Pinheiro e George Pimentel Fernandes, pela boa vontade, atenção e sugestões que ajudaram a melhorar este trabalho;

À Banca de defesa, na pessoa dos professores João Tavares Calixto Júnior, Henrique Douglas Melo Coutinho e George Pimentel Fernandes, agradeço pela disponibilidade, atenção e presença nesta banca;

Aos meus queridos companheiros do Laboratório de Botânica Aplicada (LBA) e Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) Naiana, Allana, Wesline, Marcio, Kyhara, Natália, Arycele, Fábio, Michele, Danúbio, Vicente, Tiago por toda a ajuda ao longo desse trabalho, pelos carrapichos descascados e momentos de alegria compartilhados;

À minha companheira de turma, laboratório e pesquisa Isabella Hevily Silva Torquato pela ajuda de sempre nos ensaios e pelas dicas compartilhadas;

Aos professores (e amigos) Sarah, Ana Cleide, Marcos Aurélio, Carlito e Karina pelas contribuições no desenvolvimento do trabalho e pela atenção em todos os momentos solicitados;

À minha amiga Tassia Thays de Alencar Martins Guedes, por toda a amizade, apoio, palavras de carinho e incentivo que muitas vezes me fizeram nascer de novo;

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) na pessoa do Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa e da Profa. Fabíola Galvão, pelo espaço cedido para concentração dos extratos e realização da prospecção fitoquímica;

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em especial ao Laboratório de Pesquisa Fitoquímica, nas pessoas de Aline Augusti Boligon e Margareth Linde Athayde, pela quantificação por HPLC dos extratos;

À Syllvanna e Seu Luís pela ajuda direta na realização da pesquisa e a todos os funcionários da universidade pelo apoio;

Aos professores Luiz Marivando Barros e Francisco de Assis Bezerra da Cunha pela ajuda inestimável para que a análise por HPLC se concretizasse;

Ao Programa de Pós-Graduação em Biprospecção Molecular;

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Biprospecção Molecular, Manuela Fernandes, Lenira e Andecielly pela atenção, carinho e disponibilidade durante todo o curso;

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biprospecção Molecular, Dr. Irwin Rose;

À todos os funcionários da URCA que me trataram com respeito e carinho durante essa jornada, pois muitas vezes um sorriso ajuda muito;

À Universidade Regional do Cariri (URCA) pelo espaço e pelo curso;

À CAPES pelo apoio financeiro durante a pesquisa;

*Muito obrigado!*

*“A mais bela coragem é a confiança que devemos ter na capacidade do nosso esforço”.*

*(Coelho Neto)*

## RESUMO

A alelopatia refere-se à influência benéfica ou maléfica, de um indivíduo sobre o outro, devido à produção de biomoléculas vegetais, lançadas no ambiente. No presente estudo objetivou-se verificar um possível efeito alelopático do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (cipó-de-são-jão), espécie nativa do Brasil, sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de sementes e plântulas de *Lactuca sativa* L. (alface) e *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho), bem como detectar a presença de compostos fenólicos como possíveis aleloquímicos presentes nos referidos extratos. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Botânica Aplicada (LBA) da Universidade Regional do Cariri (URCA) e em casa de vegetação. Os ensaios conduzidos em laboratório foram acondicionados em placas de Petri tendo como substrato duas folhas de papel filtro umedecidas com 3 mL dos respectivos EEBs em diferentes concentrações para as sementes de alface e carrapicho. Para os experimentos em casa de vegetação foram utilizadas bandejas de plástico específicas para germinação com 200 células cada, foi utilizado como substrato areia lavada de rio, posteriormente, foram semeadas duas sementes por célula e umedecida com extrato em quantidade equivalente a 70% da capacidade de campo. Os tratamentos constaram do extrato etanólico dos caules e folhas de *P. venusta* diluídos nas concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100% e, dois controles, sendo um composto apenas de água destilada e o outro de etanol e água destilada, com cinco repetições de 20 sementes cada, totalizando 100 sementes por tratamento para cada espécie receptora testada. As variáveis analisadas foram: Porcentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento do caulículo e da radícula. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey. As classes de metabólitos secundários foram determinadas através da mudança de cor e/ou formação de precipitado por meio de cascatas de reações químicas. Detectada a presença de compostos fenólicos, prosseguiu-se com a avaliação qualitativa por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD). Na análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foram detectados os compostos: catequinas, ácido caféico, ácido elágico, verbascosídeo, rutina, quercetina e luteolina, destacando a presença do ácido elágico apenas no extrato das folhas e o flavonoide luteolina apenas no extrato dos caules. Os experimentos em laboratório mostraram que o EEB dos caules e das folhas da espécie doadora atuaram inibindo a germinação e o desenvolvimento de alface e carrapicho. Nos experimentos em casa de vegetação os resultados também evidenciaram, em sua maioria, efeitos negativos sobre as espécies-alvo, provavelmente ocasionados pela presença de aleloquímicos do grupo dos ácidos fenólicos, identificados nos extratos da planta doadora.

**Palavras-chave:** Alelopatia. Aleloquímicos. Biomoléculas.

## ABSTRACT

Allelopathy refers to beneficial or evil influence of an individual on the other, due to the production of plant biomolecules discharged into the environment. The present study aimed to verify a possible allelopathic effect of ethanol extract (EE) of aerial parts of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (cipó-de-são-joão), native specie of Brazil, on the germination and early development of seeds and seedlings of *Lactuca sativa* L. (lettuce) and *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho), as well as to detect the presence of phenolic compounds as potential allelochemicals present in the extracts. Bioassays were conducted in Applied Botany Laboratory (LBA) in the Universidade Regional do Cariri (URCA) and inside a greenhouse. The tests conducted in the laboratory were placed in petri dishes as the substrate two having moistened pieces of filter paper with 3 mL of the respective EEs using different concentrations to the lettuce and carrapicho seeds. For the experiments in a greenhouse specific plastic trays were used for germination containing 200 cells each, washed river sand was used as substrate then two seeds was sown per cell and moistened with extract in an amount equal to 70% of the field capacity. The treatments consisted of the ethanolic extract of the stems and leaves of *P. venusta* diluted in concentrations of 6.25; 12.5; 25; 50 and 100% and two samples control, one consisted only of distilled water and the other of ethanol and distilled water with five replications of 20 seeds each, totaling 100 seeds per treatment for each species tested. The variables analyzed were: Germination Percentage (%G), Speed Germination Index (SGI), length of hypocotyl and radicle. The data were submitted to ANOVA and Tukey test. The classes of secondary metabolites were determined by color change and / or precipitate formation through chemical reactions waterfalls. After detecting the presence of phenolic compounds, the qualitative evaluation was continued by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC-DAD). In the analysis by High Performance Liquid Chromatography Efficiency the compounds detected were: catechin, caffeic acid, ellagic acid, verbascoside, rutin, quercetin and luteolin, highlighting the presence of ellagic acid only in the extract from the leaves and the flavonoid luteolin only in the extract from the stems. The laboratory experiments showed that the EE from the stem and leaves of the donor species acted by inhibiting the germination and development of lettuce and carrapicho. In the experiments in the greenhouse results also showed mostly negative effects on the target species, probably caused by the presence of allelochemicals group of phenolic acids identified in the

**Key words:** Allelopathy. Alelochemicals. Biomolecules.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Distribuição de espécies de Bignoniaceae pelo mundo, com destaque para a representatividade em cada país.....	20
<b>Figura 2:</b>	<i>Pyrostegia venusta</i> (A) aspecto geral; (B) ramo com flor e fruto <i>in situ</i> ; (C) ramo mostrando a filotaxia oposta; (D) botão floral; (E) gavinhas; (F) ramo com estruturas reprodutivas.....	22
<b>Figura 3:</b>	Exsicatas de <i>Pyrostegia venusta</i> coletadas na Estrada Crato-Exu, área de Cerrado da Chapada do Araripe – Ceará – Brasil (2014) (A) ramo com flores; (B) ramo com frutos.....	26
<b>Figura 4:</b>	Perfis cromatográficos por HPLC-DAD para ácidos fenólicos padrões (A) e presentes nos extratos etanólicos (EEBs) das folhas (B) e dos caules (C) de <i>Pyrostegia venusta</i> . Catequinas (pico 1), ácido caféico (pico 2), ácido elágico (pico 3), verbascosídeo (pico 4), rutina (pico 5), quercetina (pico 6) e luteolina (pico 7).....	34
<b>Figura 5:</b>	Porcentagem de Germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	37
<b>Figura 6:</b>	Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	38
<b>Figura 7:</b>	Comprimento do caulículo de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	40
<b>Figura 8:</b>	Comprimento da radícula de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	42
<b>Figura 9:</b>	Porcentagem de Germinação de sementes de <i>Cenchrus echinatus</i>	

	L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	44
<b>Figura 10:</b>	Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de <i>Cenchrus echinatus</i> L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	46
<b>Figura 11:</b>	Comprimento do caulículo de plântulas de <i>Cenchrus echinatus</i> L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	47
<b>Figura 12:</b>	Comprimento da radícula de plântulas de <i>Cenchrus echinatus</i> L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	49

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b>	Classes de metabólitos secundários encontrados nos EEBs dos caules e folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	32
<b>Tabela 2:</b>	Ácidos fenólicos quantificados por CLAE-DAD nos extratos etanólicos das folhas e caules de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	35
<b>Tabela 3:</b>	Valores de pH inicial e ajustado para os EEBs dos caules e folhas de <i>Pyrostegia venusta</i> sobre <i>Lactuca sativa</i> e <i>Cenchrus echinatus</i> nos experimentos em laboratório e casa de vegetação .....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS

DIC – Experimento inteiramente casualizado

EEB – Extrato Etanólico Bruto

FLONA – Floresta Nacional do Araripe

HCDAL – Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima

HPLC-DAD – High Performance Liquid Chromatography

IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

IVG – Índice de Velocidade de Germinação

MMA – Ministério do Meio Ambiente

SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
	2.1 Alelopatia: histórico e definição.....	17
	2.2 Aleloquímicos e vias de liberação.....	18
	2.3 Família Bignoniaceae Juss.....	19
	2.4 Gênero <i>Pyrostegia</i> .....	21
	2.5 <i>Pyrostegia venusta</i> (Ker-Gawl.) Miers (cipó-de-são-joão) - espécie doadora.....	21
	2.6 Cerrado da Chapada do Araripe - Área de estudo.....	23
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
	3.1 Coleta do material botânico.....	25
	3.2 Preparo dos extratos etanólicos.....	26
	3.3 Estudo químico dos extratos etanólicos das folhas e caules de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	27
	3.3.1 Prospecção fitoquímica .....	27
	3.3.2 Determinação dos constituintes químicos por CLAE-DAD.....	27
	3.4 Testes para avaliação de atividade alelopática.....	28
	3.4.1. Teste realizado em estufa do tipo BOD.....	29
	3.4.2. Teste realizado em casa de vegetação.....	29
	3.5 Variáveis analisadas.....	29
	3.5.1 Teste de germinação.....	29
	3.5.2 Teste de desenvolvimento/crescimento.....	30
	3.6 Análise estatística.....	31
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
	4.1 Classes químicas detectadas na prospecção fitoquímica.....	32
	4.2 Identificação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE-DAD nos EEBs dos caules e folhas de <i>P. venusta</i> .....	33
	4.3 Testes alelopáticos com <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) em laboratório e	

casa de vegetação.....	36
4.3.1 Porcentagem de Germinação (%G).....	36
4.3.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG).....	38
4.3.3 Desenvolvimento do caulículo.....	39
4.3.4 Desenvolvimento da radícula.....	41
4.4 Testes alelopáticos com <i>Cenchrus echinatus</i> L. (carrapicho) em laboratório e casa de vegetação.....	43
4.4.1 Porcentagem de Germinação (%G).....	43
4.4.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG).....	45
4.4.3 Desenvolvimento do caulículo.....	46
4.4.4 Desenvolvimento da radícula.....	48
4.7 Valores de pH do EEBs de <i>Pyrostegia venusta</i> .....	50
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>61</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O termo alelopatia refere-se à influência positiva ou negativa, de um indivíduo sobre o outro, devido à produção de biomoléculas (aleloquímicos) por um vegetal, lançados no ambiente quer seja na fase aquosa do solo ou substrato, quer seja por substâncias gasosas volatilizadas no ar (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Este termo está mais frequentemente associado ao processo onde metabólitos secundários advindos de uma espécie vegetal inibem a germinação e o desenvolvimento de espécies circunvizinhas (SOARES; VIEIRA, 2000).

No ambiente natural as plantas estão sujeitas, a todo o momento, à influência de fatores bióticos e abióticos, sob essas condições, os vegetais desenvolveram estratégias fisiológicas durante o processo evolutivo, entre as quais está o desenvolvimento de rotas bioquímicas de síntese e acúmulo de metabólitos secundários em seus órgãos (SAMPIETRO, 2015). A concentração desses metabólitos varia de acordo com o órgão da planta onde ocorrem e de acordo com seu ciclo de vida, podendo ser responsáveis pelos efeitos alelopáticos constatados através de alterações positivas ou negativas no processo germinativo e/ou no desenvolvimento e estabelecimento de plântulas de outras espécies (REZENDE et al., 2003).

Dentro desse contexto, para todo fenômeno alelopático existe uma planta doadora e outra receptora. A doadora libera para o meio ambiente os aleloquímicos através de uma determinada via como: lixiviação a partir dos tecidos, exsudação pelas raízes, volatilização e decomposição de resíduos da própria planta. Em contrapartida, a planta receptora absorve os compostos químicos liberados sofrendo o efeito destes aleloquímicos sobre a germinação de suas sementes, crescimento e/ou desenvolvimento de suas plântulas (RICE, 1984).

A expressão do potencial alelopático é marcada pela especificidade da composição bioquímica e das características biológicas das espécies doadoras e receptoras, envolvidas nessa interação (SANTOS et al., 2001). Os efeitos dos aleloquímicos sobre o desenvolvimento dos vegetais são apenas mudanças aparentes que refletem importantes alterações fisiológicas. Nesse sentido, os estudos acerca desses efeitos sobre a germinação e/ou desenvolvimento do vegetal são manifestações de alterações ocorridas inicialmente a nível molecular e celular (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

A alelopatia pode causar mudanças na dinâmica de comunidades vegetais, ao influenciar a sucessão vegetacional e a estrutura e composição das comunidades nativas ou cultivadas, por esta razão o fenômeno da alelopatia é tido como um processo ecológico ocorrente nos ecossistemas naturais (RIVZI et al., 1992), a exemplo de ambientes de Cerrado

tidos como importantes centros de concentração de espécies vegetais com potencial atividade alelopática.

A vegetação de Cerrado compreende uma junção de fitofisionomias bastante diversificada: campo sujo, campo cerrado, cerrado e cerradão (DURIGAN et al., 2002) e compõe um dos ambientes da chapada do Araripe com grande diversidade de espécies vegetais e animais ainda não estudados, o que justifica a importância da realização de pesquisas relativas à fauna e flora desse ambiente.

As espécies pertencentes à Bignoniaceae são comumente utilizadas como ornamentais (LORENZI; SOUZA, 2008). Alguns gêneros dessa família apresentam também potencial farmacológico, a exemplo de *Pyrostegia* (MOSTAFA; EL-DAHSHAN; SINGAB, 2013). O Brasil é considerado por Gentry e Tomb (1979) como o centro de dispersão da referida família sendo identificadas cinco principais regiões de dispersão de suas espécies, com destaque para cerrados e caatingas.

Estudos demonstraram o potencial fitotóxico dos extratos das flores de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (cipó-de-são-joão) sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. (alface) (DANELUZZI et al., 2014) e o potencial alelopático de extratos orgânicos das folhas dessa espécie sobre sementes de *Cucumis sativus* L. (SILVA et al., 2011). A partir desses relatos algumas questões foram levantadas: *Pyrostegia venusta* possui atividade alelopática conhecida sobre plantas bioindicadoras, será essa atividade observada também sobre espécies invasoras? A ação dessa espécie na Chapada do Araripe ainda é pouco conhecida, como os compostos químicos liberados pela espécie, atuam sobre os processos germinativos e de desenvolvimento vegetal? A alelopatia, nesse caso, pode estar atuando como um fator limitante sobre o desenvolvimento de espécies nativas da Chapada do Araripe?

Diante desses questionamentos objetivou-se verificar um possível efeito alelopático do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Pyrostegia venusta* sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de sementes e plântulas de *Lactuca sativa* e *Cenchrus echinatus*, bem como detectar a presença de compostos fenólicos nesses extratos e potenciais aleloquímicos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Alelopatia: histórico e definição

O primeiro registro da interferência de uma planta sobre o desenvolvimento de outra, foi relatado por Theophrastus (300 a.C.), discípulo de Aristóteles, ao observar que plantas de *Cicer arietinum* L. (grão-de-bico) exauria o solo onde era plantada provocando a destruição das plantas invasoras presentes no mesmo (RICE, 1984).

O termo alelopatia foi idealizado em 1937 por Hans Molish, referindo-se aos efeitos danosos de certas espécies vegetais sobre a germinação, crescimento e/ou desenvolvimento de outras (MEDEIROS; CASTRO; LUCCHESI, 1990). Com o avanço das pesquisas foi observado que os efeitos dessas substâncias, oriundas do metabolismo secundário das plantas, podem inibir ou estimular o crescimento de espécies circunvizinhas (WALLER, 1999).

A competição por luz, água e nutrientes é comum entre as plantas que vivem em comunidade. Essa concorrência faz parte do ciclo de vida natural dessas espécies no ecossistema e, algumas desenvolvem mecanismos de defesa que tem como determinante principal a síntese de metabólitos secundários, que quando liberados no ambiente causam interferência no desenvolvimento de outras plantas (SAMPIETRO, 2015).

No ambiente natural, a alelopatia se confunde com a competição por água, nutrientes e luz (PIÑA-RODRIGUES; LOPES, 2001), contudo, alelopatia e competição são fenômenos distintos, o primeiro implica em liberação de um composto químico no ambiente o qual será absorvido por outra planta, enquanto que o segundo ocorre pela remoção ou redução de um recurso próprio do ambiente, como água, minerais, luz, entre outros (RICE, 1979).

Com a “Revolução Verde” surgida em meados das décadas de 60 e 70, surgiu o modelo de desenvolvimento agrícola baseado na aplicação de inseticidas, fungicidas, herbicidas e fertilizantes, que trazem prejuízo ao ambiente e a saúde do homem (CRUZ; NOZAKI; BATISTA, 2000). Dentro desse contexto, muitos autores apontam para o emprego dos efeitos da alelopatia nas lavouras, como uma alternativa ao uso de substâncias químicas controladoras de pragas, pois a ação alelopática por ser específica e direcionada ocasionaria uma melhoria e aumento da produção, através do controle das plantas daninhas, pragas e doenças (SARTOR et al., 2009). Assim, os efeitos negativos sobre o ambiente seriam reduzidos, preservando os recursos naturais e possibilitando uma produção agrícola de qualidade, sem agentes tóxicos nocivos à saúde (SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

Esse fenômeno apresenta grande importância em ambientes naturais e manejados, com as pesquisas realizadas enfocando, principalmente, as espécies de interesse econômico (MARASCHIN-SILVA; ÁQUILA, 2006), pois a diminuição da produtividade causada por plantas invasoras ou por resíduos da cultura anterior pode ser consequência da alelopatia (TAIZ; ZEIGER, 2009).

## **2.2 Aleloquímicos e vias de liberação**

Os químicos orgânicos começaram a estudar os metabólitos secundários no século XIX, visando à utilização dessas substâncias como medicamentos, venenos, aromatizantes e matéria-prima industrial. Os produtos do metabolismo secundário das plantas têm diferentes e importantes funções ecológicas no reino vegetal, como a proteção contra a herbivoria, atração dos polinizadores e também atuam como agentes mediadores nas relações de competição entre as espécies. Sendo assim, os metabólitos secundários vegetais influenciam nas relações ecológicas e na sobrevivência das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A química de produtos naturais tem passado por avanços, através da incorporação de modernos métodos de extração, isolamento, purificação e identificação. Esta nova realidade tem ajudado a diminuir as lacunas existentes acerca dos inúmeros grupos de compostos secundários produzidos pelas plantas. Muitos destes são aleloquímicos, que variam em concentração, localização e composição dependendo do vegetal no qual se encontram (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

Compostos químicos tais como herbicidas, inseticidas e nematicidas são utilizadas em grande quantidade no controle de pragas e espécies vegetais indesejáveis nas lavouras, tornando caro o processo de produção agrícola e, simultaneamente aumentam os riscos de contaminação do solo por resíduos tóxicos e distúrbios ambientais (MEDEIROS; CASTRO; LUCCHESI, 1990). Considerando tais aspectos os aleloquímicos podem ser uma alternativa ecologicamente correta, em relação ao uso dos referidos compostos.

Os aleloquímicos podem ser liberados no ambiente de diversas formas (volatilização, exsudação radicular, lixiviação e decomposição de resíduos), entretanto para que a liberação desses compostos químicos seja eficaz é necessário que ocorra de forma contínua (RODRIGUES; PASSINI; FERREIRA, 1999).

Os metabólitos secundários podem atuar na inibição ou estimulação dos processos fisiológicos das plantas, todavia, essas ações dependem da concentração, atividade fisiológica, bem como de outros fatores próprios de cada ambiente (RICE, 1979). Conhecendo-se a

existência dessas substâncias nos vegetais, é importante identificar quais delas possuem ação alelopática, investigando-se sua forma de liberação, quantidades presentes na planta e extensão da interferência (MEDEIROS; CASTRO; LUCCHESI, 1990).

Os aleloquímicos podem causar alterações citológicas, hormonais, na permeabilidade das membranas, absorção de minerais, movimentação dos estômatos, síntese de pigmentos e o processo de fotossíntese; respiração, síntese de proteínas, na atuação das enzimas específicas, relações hídricas e, finalmente, nos ácidos nucleicos, dessa forma podem induzir alterações genéticas (RIVZI et al., 1992).

Nos bioensaios realizados em laboratório é possível observar que os efeitos dos aleloquímicos sobre o desenvolvimento da plântula, são potencializados (FERREIRA; ÁQUILA, 2000) visto que neste ambiente artificial não há influências ambientais como num ecossistema natural.

Os aleloquímicos podem atuar de forma direta, quando os compostos químicos penetram na planta receptora a nível celular, interferindo diretamente no metabolismo da mesma; ou de forma indireta, quando causam alterações nas propriedades do solo, quantidade de nutrientes e atividade de populações de microrganismos (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

Segundo Taiz e Zeiger (2009) os metabólitos secundários podem ser classificados em três grupos distintos: os terpenos, que são a maior classe de produtos oriundos do metabolismo secundário, atuam na defesa vegetal, pois são toxinas que inibem o forrageio de herbívoros, estando representados na natureza pelas giberelinas, esteróis e carotenóides; os compostos fenólicos agem na defesa da planta contra herbivoria e patógenos, são atrativos de polinizadores e dispersores, protegem da radiação ultravioleta e auxiliam no suporte mecânico do vegetal. São exemplos de compostos fenólicos, os flavonóides e os taninos; No grupo dos compostos nitrogenados, estão inclusos os alcaloides e glicosídeos cianogênicos. Os alcaloides apresentam toxicidade, o que justifica uma possível atuação na defesa dos vegetais.

### **2.3 Família Bignoniaceae Juss.**

Bignoniaceae possui distribuição pantropical e inclui cerca de 120 gêneros e 800 espécies (Fig. 1), no Brasil ocorrem 32 gêneros e cerca de 350 espécies (LORENZI; SOUZA, 2012). A família Bignoniaceae (Dicotyledonae), ordem Scrophulariales, subclasse Asteridae, é composta por plantas predominantemente espontâneas de ambientes tropicais da América do Sul (JOLY, 1998; MABBERLEY, 1997). *Tabebuia* e *Jacaranda* destacam-se como os gêneros mais importantes da família por sua ampla distribuição. *Tabebuia*, *Pyrostegia*,

*Bignonia* e *Zeyhera*, são os gêneros que se destacam no Brasil. Em levantamento realizado na região da Amazônia *Pyrostegia venusta* e *Adenocalyma alliaceum* se mostraram muito utilizadas para finalidades terapêuticas. Na região da mata Atlântica o gênero *Jacaranda* teve duas espécies citadas como importantes na medicina popular (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

**Figura 1:** Distribuição de espécies de Bignoniaceae pelo mundo, com destaque para a representatividade em cada país.



Obs. A representatividade de espécies aumenta de acordo com a intensidade da cor, variando entre 1 e 16.423.  
Fonte: Trópicos (2015)

A família compõe-se por árvores, arbustos ou lianas, geralmente com gavinhas; folhas opostas, raramente verticiladas ou alternas, em geral compostas, sem estípulas. Inflorescência cimosas ou racemosas, mais frequentemente paniculadas; flores vistosas, bissexuadas, zigomorfas, diclamídeas; cálice pentâmero, gamossépalo, prefloração imbrincada, com exceção das de *Pyrostegia* e *Glaziovina*, que são valvares; corola pentâmera, gamopétala, bilabiada; estames 4, didínamos, com estaminódio, epipétalos, anteras rimosas; disco nectarífero geralmente presente; ovário súpero, bicarpelar, bilocular ou raramente unilocular, com placentação axial ou raramente parietal, placenta bipartida, geralmente pluriovulado. Fruto cápsula septícida ou loculícida, raramente baya, sementes em geral aladas, é uma família com grande potencial ornamental (LORENZI; SOUZA, 2012; BARROSO, 1991).

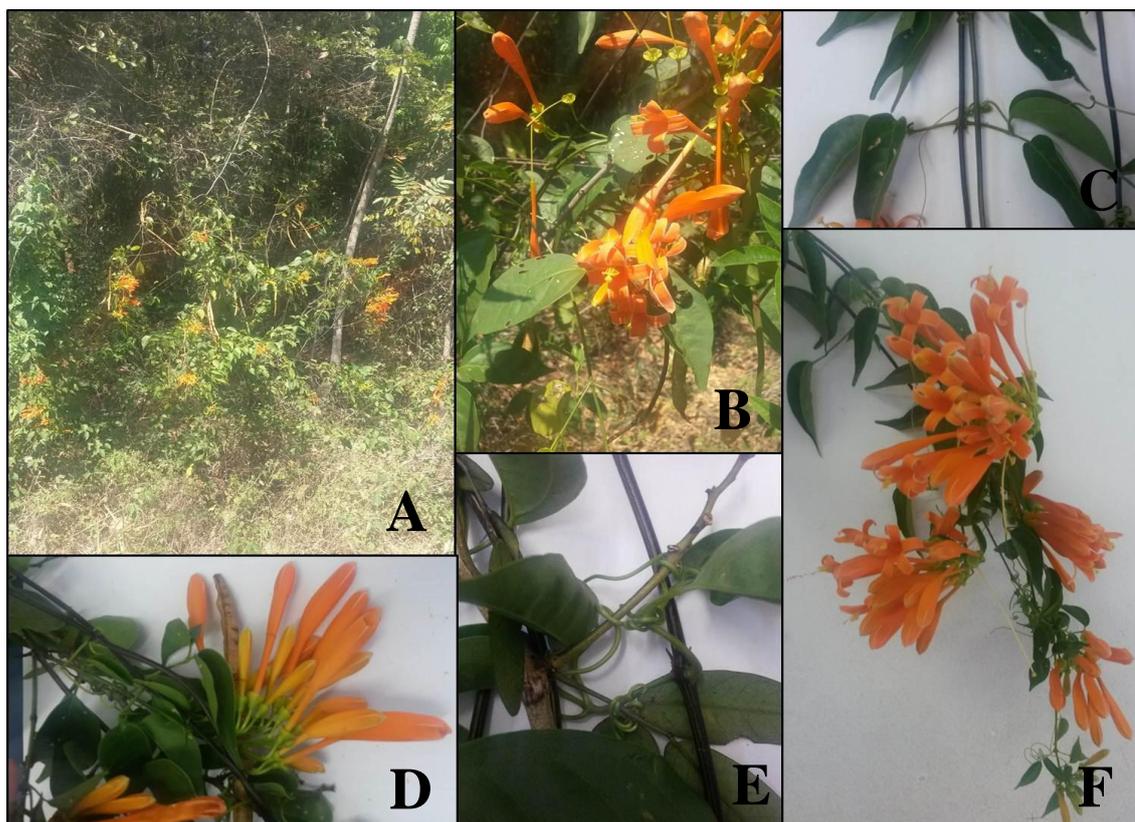
## 2.4 Gênero *Pyrostegia*

*Pyrostegia* C. Presl é um pequeno gênero nativo da América do Sul formado por quatro espécies da tribo Bignonieae (Bignoniaceae) entre as quais *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers frequentemente cultivada nos trópicos. Como a maioria dos membros da tribo Bignonieae, as espécies de *Pyrostegia* são lianas com o folheto terminal de suas folhas geralmente modificado como uma mecha e frutos deiscentes com hastes em múltiplos de quatro, em formato de cunhas, floema com dois folhetos e uma mecha terminal, cálices campanulados com cinco dentículos, corolas estreitíssimas, moderadamente grossas e texturizadas com os lóbulos valvares estreitos em suas bases no botão, quatro estames com abertura voltada para o lado de fora da flor, comprimidos, cápsulas lineares e sementes bialadas (duas alas) finas. Três das espécies são, provavelmente, polinizadas por beija-flor e têm flores muito parecidas de coloração vermelho-alaranjado, raramente amarelo, corolas tubulares e estreitas com os estames inseridos abaixo do meio do tubo da corola. No entanto, duas dessas espécies, *P. dichotoma* Miers K. Schum ex. e *P. venusta*, tem nós com campos glandulares ausentes, gavinhas apicais trífidas, e os tubos da corola externamente glabros, enquanto a terceira espécie, *P. cinerea* Bureau ex K. Schum. apresenta nós com campos glandulares, pelos simples, e tubos púberos (SEIBERT, 1948; GENTRY, 1993; SANTOS, 1995; POOL, 2008).

## 2.5 *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl.) Miers (cipó-de-são-joão) - espécie doadora

Popularmente conhecida como cipó ou flor-de-são-joão, *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl.) Miers (Bignoniaceae) é uma liana semilenhosa, amplamente dispersa em campos e margens de estradas (LORENZI; SOUZA, 2008), bastante encontrada nas savanas e florestas do cerrado brasileiro, sendo comum sua presença em limites de cerradão (ROSSATTO; KOLB, 2010). É nativa do Brasil e bastante referida na literatura como uma das principais espécies invasoras de pastagens nos cerrados (NUNES, 2001; POTT; POTT, 2000) e de ambientes perturbados (LORENZI; SOUZA, 2008). Possui gavinhas, com ramos jovens delgados e folhagem densa; folhas com folíolos ovados oblongos, com até 11 cm de comprimento e 5 cm de largura; inflorescências numerosas, como corimbos multiflorais, repletos de flores tubulares, longas, de cor laranja, podendo ocorrer com flores amarelas; fruto do tipo capsular com cerca de 25-30 cm de comprimento e 1,5 cm de largura, contendo sementes de 1 cm de comprimento e 3,5 cm de largura (Fig. 2A-F).

**Figura 2:** *Pyrostegia venusta* (A) aspecto geral; (B) ramo com flor e fruto *in situ*; (C) ramo mostrando a filotaxia oposta; (D) botão floral; (E) gavinhas; (F) ramo com estruturas reprodutivas.



Fonte: Da autora

Amplamente usada como ornamental em fazendas, sítios e quintais de residências no Brasil. Trata-se de uma espécie heliófita, com ampla frequência em formações secundárias de regiões litorâneas e matas pluviais. Raramente encontrada no interior de matas densas. O nome popular decorre de seu emprego nos mastros usados nas festas juninas, especialmente no dia de São João. O nome do gênero *Pyrostegia*, descrito por Carel Borinov Presl, deriva do grego *pyro* = "fogo" e *stege* = "coberta"; ou seja, "coberta de fogo", referindo-se à planta florida com flores de corola alaranjada (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Na Amazônia, o macerado em água fria das folhas da referida espécie é bastante utilizado no tratamento de disenterias e diarreias, especialmente em crianças. Quanto à composição química, foi relatada a presença de aminoácidos, carotenóides e flavonóides na flor de *P. venusta* (GUSMAN; GOTTSBERGER, 1996). Já alantóina, esteroides e hesperidina foram isolados do extrato etanólico de suas raízes (FERREIRA et al., 2000).

O extrato alcoólico de folhas e flores é utilizado na medicina tradicional para o tratamento de vitiligo (manchas brancas na pele) e o caule tem aplicação como tônico antidiarreico (FERREIRA et al., 2000; MARONI; DI STASI; MACHADO, 2006). Possui

também importância econômica, sendo utilizada como planta ornamental no Brasil e em outros países, tendo como característica marcante a cor laranja intenso de suas flores (LORENZI; SOUZA, 2008).

Diversas pesquisas foram realizadas nos últimos anos enfocando diferentes aspectos da atividade biológica dessa espécie a exemplo de Daneluzzi et al. (2014); Silva et al. (2011); Fernandes et al. (2011); Rosatto e Kolb (2010); Silva et al. (2008); Polatto; Dutra e Junior (2007); Ferreira et al. (2000); Santos e Blatt (1998).

## **2.6 Cerrado da Chapada do Araripe - Área de estudo**

O cerrado é um dos biomas brasileiros que teve sua ocorrência restrita, pelas atividades antrópicas. Nesse contexto, esforços vêm sendo envidados, nos últimos anos, no intuito de manter e conservar esse ecossistema tendo em vista a grande biodiversidade vegetal e animal nele existentes (SILVA et al., 2006).

O cerrado brasileiro é reconhecido como a savana mais rica do mundo, do ponto de vista da diversidade biológica. Existe uma grande diversidade de habitats, que determinam uma notável alternância de espécies entre diferentes fitofisionomias. Este domínio tem grande importância ecológica, mas também, social. Muitas populações sobrevivem de seus recursos naturais, utilizados como meio de subsistência, bem como utilizam diversas plantas ou animais na medicina popular (MMA, 2014).

A região de cerrado ocupa uma vasta área do Brasil (cerca de um quarto do território), fazendo limite ao norte com a Amazônia, a nordeste com a caatinga, a leste e sudeste com a mata Atlântica, a oeste com o pantanal e ao sul com os pampas sulinos (CARVALHO; FERREIRA; BAYER, 2008), esse bioma não está restrito às áreas centrais do país, sendo encontrado em manchas sobre solos profundos e relevos de tabuleiro, onde pode ser observada a penetração de espécies vegetais da caatinga, a exemplo da Chapada do Araripe, localizada ao sul do estado do Ceará (FIGUEIREDO; FERNANDES, 1987).

Depois da mata Atlântica, o cerrado é o bioma brasileiro que mais sofreu alterações com a ocupação humana. Nas três últimas décadas, vem sendo degradado pela expansão da fronteira agrícola brasileira (MMA, 2014). A diminuição das extensões desse domínio faz necessário um maior conhecimento acerca da dinâmica ecológica ocorrente nestes locais, sendo a competição e a alelopatia, interações merecedoras de destaque (GATTI; PEREZ; FERREIRA, 2007).

A Chapada do Araripe abriga três tipos vegetacionais: Savana (Cerrado), Savana estépica (Carrasco) e Floresta Estacional Sempre-Verde (Floresta Úmida). O Cerrado ocorre na área leste do topo da formação, recobrando solos lixiviados aluminizados (LOIOLA et al., 2015). O Complexo do Araripe abrange uma unidade de conservação: a APA da Chapada do Araripe, dentro da qual está localizada a Floresta Nacional do Araripe (FLONA) (ICMBio, 2016). Esta última abriga a única faixa de cerrado preservada de todo o estado do Ceará. Estando situada dentro do domínio semi-árido da caatinga, em uma altitude que varia de 800 a 900 m, o que contribui para a ocorrência de maior precipitação e temperatura inferior ao ambiente que o circunda (COSTA; ARAÚJO; LIMA-VERDE, 2004).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

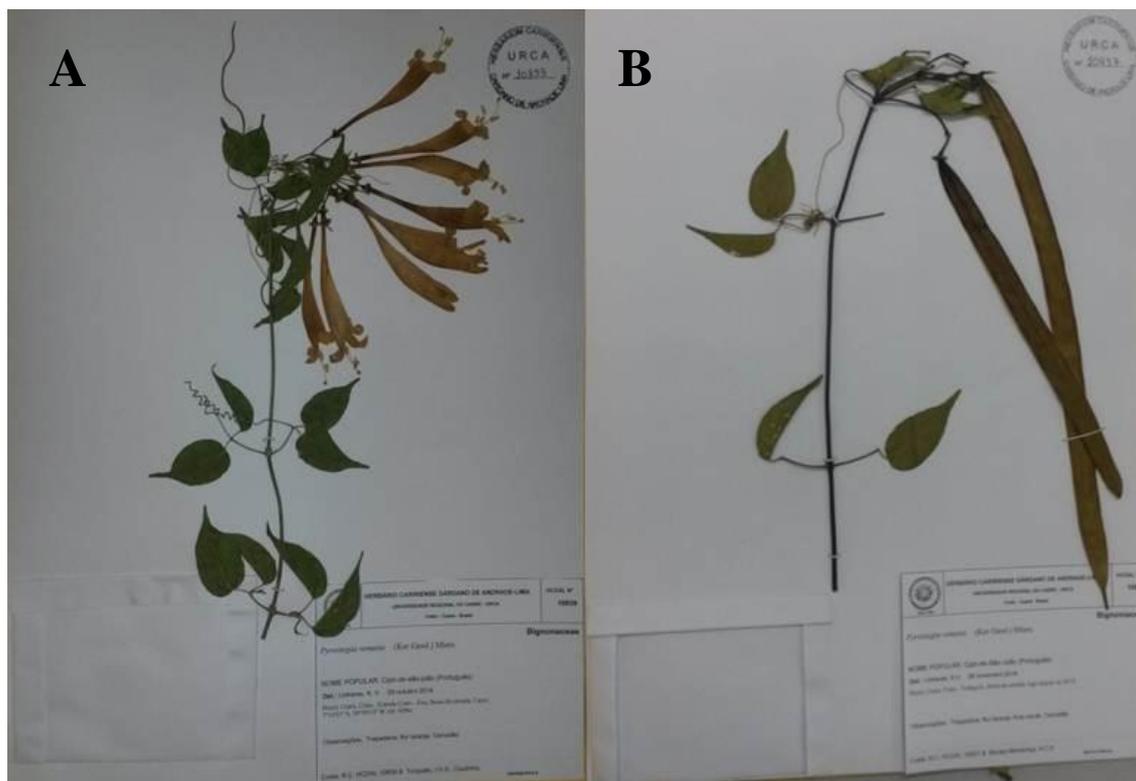
#### 3.1 Coleta do material botânico

O material botânico foi coletado de três indivíduos adultos de *Pyrostegia venusta* em uma área de Cerrado, na Chapada do Araripe, estrada Crato/Exu, nas coordenadas geográficas 07°15'21,3''S e 39°29'12,6''W a 929 m de altitude, no período da manhã, em setembro de 2014 (período do ano referente à estação seca). O material obtido foi acondicionado em sacos plásticos imediatamente vedados para evitar a perda de umidade, as amostras foram devidamente etiquetadas e fichadas e em seguida conduzidas ao Laboratório de Botânica Aplicada (LBA) da Universidade Regional do Cariri (URCA), para processamento do material botânico coletado e montagem dos bioensaios.

Foram obtidas amostras na fase vegetativa para produção do extrato etanólico bruto (EEB) e material na fase reprodutiva, para identificação botânica. A identificação foi realizada com base em literatura especializada e por comparação com espécime previamente identificado, parte integrante do acervo do Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL). Os números de herbário obtidos para as amostras doadas ao HCDAL são 10839 (material florado) (Fig. 3A) e 10937 (material frutificado) (Fig. 3B). Para comprovação da referida doação foi emitido comprovante de depósito pelo HCDAL (Anexo A).

As coletas foram autorizadas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Ministério do Meio Ambiente (MMA), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) sob o número de registro: 46415-1, emitido em 22 de outubro de 2014 (Anexo B).

**Figura 3:** Exsicatas de *Pyrostegia venusta* coletadas na Estrada Crato-Exu, área de cerrado da Chapada do Araripe – Ceará – Brasil (2014) (A) ramo com flores; (B) ramo com frutos.



Fonte: Da autora

Para os bioensaios foram utilizadas como plantas receptoras, *Lactuca sativa* L. (alface) cv. Grand Rapids TBR (Feltrin) por apresentar sementes de germinação rápida e uniforme, além de serem facilmente encontradas no comércio local e *Cenchrus echinatus* (carrapicho), por ser uma espécie invasora de pastagens e culturas, onde o efeito do extrato pode ser avaliado dentro da necessidade ecológica e agrícola por um bioherbicida.

### 3.2 Preparo dos extratos etanólicos

Foram coletadas e picadas manualmente 250 g de folhas frescas e 250 g de caules frescos em seguida o referido material foi submetido à maceração com etanol P.A. (99,3%) e agitações periódicas no período de quinze dias. Foi utilizado aproximadamente 3 L de etanol para cada parte da planta, para que todas as folhas e caules ficassem em contato direto com o solvente. Após quinze dias, procedeu-se a filtragem e os materiais sólidos colocados para secar em estufa a 100 °C, para posterior pesagem da massa seca, sendo o solvente evaporado em evaporador rotativo (Marca Fisatom, modelo 801, série 121547-6), para a obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB). Todos os processos de extração e concentração dos extratos

foram realizados no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Regional do Cariri (URCA).

### **3.3 Estudo químico dos extratos etanólicos das folhas e caules de *Pyrostegia venusta***

#### **3.3.1 Prospecção fitoquímica**

A caracterização fitoquímica foi conduzida segundo o protocolo proposto por Matos (2009), onde foi utilizado 30 mg de extrato etanólico bruto diluído em etanol 70%, posteriormente transferido para seis frascos devidamente numerados com porções de 3 ml deste preparo, incluindo um frasco contendo um teste em branco composto de água e cloreto férrico. A estes frascos foram adicionados compostos específicos que promoveram as reações químicas sendo observada a mudança de cor e formação de precipitado como indicativo da presença de classes químicas (ANEXO C).

#### **3.3.2 Determinação dos constituintes químicos por CLAE-DAD**

A análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Arranjo de Diodos (CLAE-DAD) foi realizada pelo Laboratório de Pesquisa Fitoquímica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Todos os produtos químicos utilizados são de grau analítico adquiridos da Merck Darmstadt (Alemanha); da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA) e da ChromaDex. O procedimento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC-DAD) foi realizado com um amostrador automático Shimadzu proeminência (SIL-20A), sistema de HPLC (Shimadzu, Quioto, Japão), equipado com bombas alternativas Shimadzu LC-20AT, ligados a um DGU 20A5 degaseificador com um CBM 20A integrador, SPD-M20A diodo detector de arranjo e LC solução 1,22 software SPI.

Os extratos etanólicos (folhas e caules) de *Pyrostegia venusta* foram injetados numa coluna de fase reversa Phenomenex C18 (4,6 mm x 250 mm), com enchimento de 5 µm partículas de diâmetro. As fases móveis A e B eram de água Milli-Q, que foram acidificadas a pH 2,0 com 1% de ácido fosfórico e metanol, correspondentemente, o gradiente de solvente foi utilizado como segue: 0-10 min, 5% de B; 10-25 min, 15% de B; 25-40 min, 30%; 40-55 min 50% de B; 50-65 min 70% de B; 65-80 min, 100% de B, seguindo o método descrito por Sousa et al. (2015) com ligeiras modificações.

A amostra e a fase móvel foram filtradas através de filtro de membrana de 0,45 µm (Millipore) e, em seguida, degaseificou-se por banho de ultra-sons antes da utilização, o extrato foi analisado para uma concentração de 15 mg/mL. A taxa de fluxo foi de 0,6 mL/min e o volume de injeção foi de 40 µL. As soluções estoque de referências de normalização foram preparadas em fase móvel de HPLC numa gama de concentrações de 0,050-0,500 mg/mL. Quantificações foram realizadas por integração dos picos utilizando o método do padrão externo, a 254 nm para o ácido elágico; 280 nm para catequina; 327 nm para o ácido cafeico; 330 nm para verbascoside; 356 para luteolina, quercetina e rutina.

Os picos foram confirmados por cromatografia de comparação do seu tempo de retenção com os de padrões de referência e por espectros de DAD (200 a 600 nm).

O limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foi calculado com base no desvio padrão das respostas e a inclinação por meio de três curvas de análise independentes. LOD e LOQ foram calculados como  $3,3$  e  $10 \sigma / S$ , respectivamente, onde  $\sigma$  é o desvio padrão da resposta e  $S$  é o declive da curva de calibração (BOLIGON et al., 2015). As diferenças entre os grupos de HPLC foram avaliadas por uma análise de modelo de variância e teste de Tukey. O nível de significância para as análises foi definido como  $p < 0,05$ . Estas análises foram realizadas usando o software livre R versão 3.1.1. (R Core Team, 2014).

### 3.4 Testes para avaliação de atividade alelopática

Os bioensaios foram realizados no período de fevereiro a julho de 2015, no Laboratório de Botânica Aplicada URCA. Foi testada a influência dos Extratos Etanólicos Brutos (EEBs) de folhas e caules frescos de *Pyrostegia venusta*, sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa L.* (alface) e *Cenchrus echinatus* (carrapicho), nas concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100% (Tratamentos).

O EEB foi dissolvido em etanol 66% na proporção de 1:1, ou seja, 100 mg do EEB para 100 mL de etanol, obtendo-se assim a solução estoque de 100%, as concentrações de 6,25, 12,5, 25, 50% foram obtidas por diluição (MAZZAFERA, 2003; TAVEIRA; SILVA; LOIOLA, 2013). Essas soluções foram caracterizadas quanto ao parâmetro físico-químico pH, onde foi registrado pH inicial, sendo essa variável ajustada para valores mais próximos de 6,0, logo após os extratos foram transferidos para as placas (MACIAS; CASTELLANO; MOLINILLO, 2000). O ajuste do pH foi feito com solução de KOH 0,1N e HCl a 5% e as medições foram realizadas com auxílio de um pHmetro (Marca Tecnal, modelo Tec-2).

#### 3.4.1. Teste realizado em estufa do tipo BOD

Para os bioensaios em laboratório, 3 mL das soluções testes foram colocadas em placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) previamente autoclavadas contendo dois discos de papel filtro (MACIAS; CASTELLANO; MOLINILLO, 2000). As placas foram deixadas abertas durante 48 horas para completa evaporação do álcool (MAZZAFERA, 2003). Após esse período foram semeadas 20 diásporos das espécies alvo, distribuídas aleatoriamente, em cinco repetições e, em seguida, aplicou-se 3 mL de água destilada. As placas de Petri contendo os diásporos foram seladas com plástico filme para garantir modelos de sistema fechados e levadas a uma estufa de fotoperíodo da marca Quimis (modelo 0315F25), com temperatura constante (25°C) e fotoperíodo de 12 horas, adequadas as espécies receptoras conforme assinalado em Brasil (2009).

#### 3.4.2. Teste realizado em casa de vegetação

Para o experimento em casa de vegetação foram utilizadas caixas de acrílico específicas pra testes de germinação, preenchidas com substrato formado apenas por areia lavada de rio, esterilizada em autoclave a 120 °C e 1 atm por 15 minutos. O volume de extrato adicionado correspondeu a 70% da capacidade de campo do substrato, conforme indicado pela Regra de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Após disposição do substrato nas células das caixas foram adicionadas duas sementes por célula. Cada tratamento constou de cinco repetições com 20 sementes cada, totalizando 100 sementes por tratamento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). O experimento foi acompanhado por um período de 11 dias (alface) e 10 dias (carrapicho). A temperatura e umidade relativa do ar foram monitoradas dia a dia, sendo verificada variação entre 27 e 32 °C para a temperatura e entre 30 e 62% para a umidade relativa.

### 3.5 Variáveis avaliadas

#### 3.5.1 Teste de germinação

A avaliação da germinação das sementes das espécies receptoras foi conduzida em placas de Petri contendo os extratos e mais 20 sementes por repetição, totalizando 100 sementes por tratamento, durante sete dias (alface) e cinco dias (carrapicho), em estufa de

fotoperíodo (BORELLA et al., 2012). Ao final desse período foram avaliados a Porcentagem de Germinação (%G) e o Índice de Velocidade de Germinação (IVG).

A germinação foi avaliada a cada 24 horas, durante sete dias (para alface) e cinco dias (para carrapicho), sendo considerada germinada a semente com comprimento radicular mínimo de 2 mm. A Porcentagem de Germinação (G) foi calculada de acordo com Laboriau e Valadares (1976), o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de acordo com Maguire (1962) registrando-se diariamente o número de sementes germinadas. Sendo utilizadas as seguintes fórmulas:

$$G = \frac{N}{A} \times 100$$

Onde:

N - número total de sementes germinadas;

A = número de sementes colocadas para germinar.

$$IVG = \sum_{i=1}^n \left( \frac{ni}{i} \right)$$

Onde:

Ni = número de sementes germinadas no dia i

i = número de dias

### 3.5.2 Teste de desenvolvimento/crescimento

O teste para avaliação de desenvolvimento/crescimento das plântulas das espécies-alvo foram feitas de acordo com metodologia proposta por Borella et al. (2012). Foram colocadas 20 sementes por Placa de Petri da planta-alvo em avaliação, para pré-germinarem em água destilada, durante 48 hs em condições controladas de temperatura e luminosidade. Após esse período foram transplantadas 10 plântulas com tamanho similar (mínimo de 2 mm de protusão radicular) para as placas contendo os extratos testados, no intuito de confirmar que todo e qualquer efeito alelopático constatado nessas plântulas foi causado pelo extrato avaliado (ALLEM; GOMES; BORGHETTI, 2014).

Os dados referentes ao comprimento do caule e raiz primária foram obtidos decorridos os sete ou cinco dias necessários para o desenvolvimento das sementes. Foram

avaliadas cinco plântulas, do total de 10 que formam cada parcela (placa de Petri), para obtenção das médias referentes ao comprimento dos caulículos e radículas. A análise dessas variáveis foi obtida com auxílio de régua milimetrada.

### **3.6 Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, sendo dois controles (apenas água destilada e água destilada + etanol) mais cinco níveis de concentração do EEB (em cada experimento), duas espécies vegetais (alface e carrapicho). Todos os tratamentos constaram de cinco repetições. Os dados foram arquivados em planilha do Excel 2010, para posterior comparação das médias através do pacote estatístico ASSISTAT 7.7 beta, onde foram submetidas a análise de variância (ANOVA), teste Tukey com significância de 1 e 5%. Os gráficos foram feitos no programa Microsoft Office Excel, versão 2010.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Classes químicas detectadas na prospecção fitoquímica

A análise do Extrato Etanólico Bruto (EEB) feito a partir das folhas e caules de *P. venusta* mostrou a existência de diversas classes de metabólitos secundários (Tab. 1). O EEB das folhas e dos caules de *P. venusta* apresentaram em comum as seguintes classes: taninos flobabênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas e flavononas. Os flavononóis foram detectados apenas no EEB do caule, enquanto que leucoantocianidinas, catequinas e alcaloides estão presentes exclusivamente no EEB das folhas da espécie em estudo. Segundo Almeida (2006), as atividades biológicas, além de variarem com a espécie vegetal, são decorrentes da concentração de substâncias encontradas e da variação de esqueletos carbônicos de flavonóides, que estão relacionados com a atividade alelopática. De acordo com este mesmo autor o uso de extratos com perfil químico semelhante pode propiciar respostas alelopáticas diferentes, devido à correlação com a concentração utilizada e estrutura das moléculas. A presença de grupos químicos específicos é capaz de alterar o crescimento das raízes.

**Tabela 1:** Classes de metabólitos secundários encontrados no EEB do caule e da folha de *P. venusta*. (+) indica a presença (-) indica ausência.

CLASSES QUÍMICAS	EEB CAULE	EEB FOLHA
Taninos Pirogálicos	-	-
Taninos Flobabênicos	+	+
Antocianinas; Antocianidinas	-	-
Flavonas; Flavonóis; Xantonas	+	+
Chalconas; Auronas	+	+
Flavononóis	+	-
Leucocianidinas	-	+
Catequinas	-	+
Flavononas	+	+
Alcalóides	-	+

Fonte: Da autora

Taiz e Zeiger (2009) afirmam que os taninos são um grupo de polímeros fenólicos tóxicos aos animais que atuam no combate à herbivoria, as flavonas e flavonóis fazem parte da atividade reguladora do desenvolvimento vegetal, atuando no transporte do hormônio auxina. Nesse contexto, esses compostos podem se comportar como aleloquímicos, dificultando ou favorecendo a fixação de espécies vegetais em áreas circunvizinhas (MACIAS et al., 1998).

Segundo Ferreira e Áquila, (2000) e Ferreira e Borghetti, (2004) os efeitos alelopáticos são mediados por substâncias que pertencem a diferentes categorias de compostos secundários. A ação visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os estudos referentes ao efeito de aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de processos ocorridos em nível molecular e celular inicialmente.

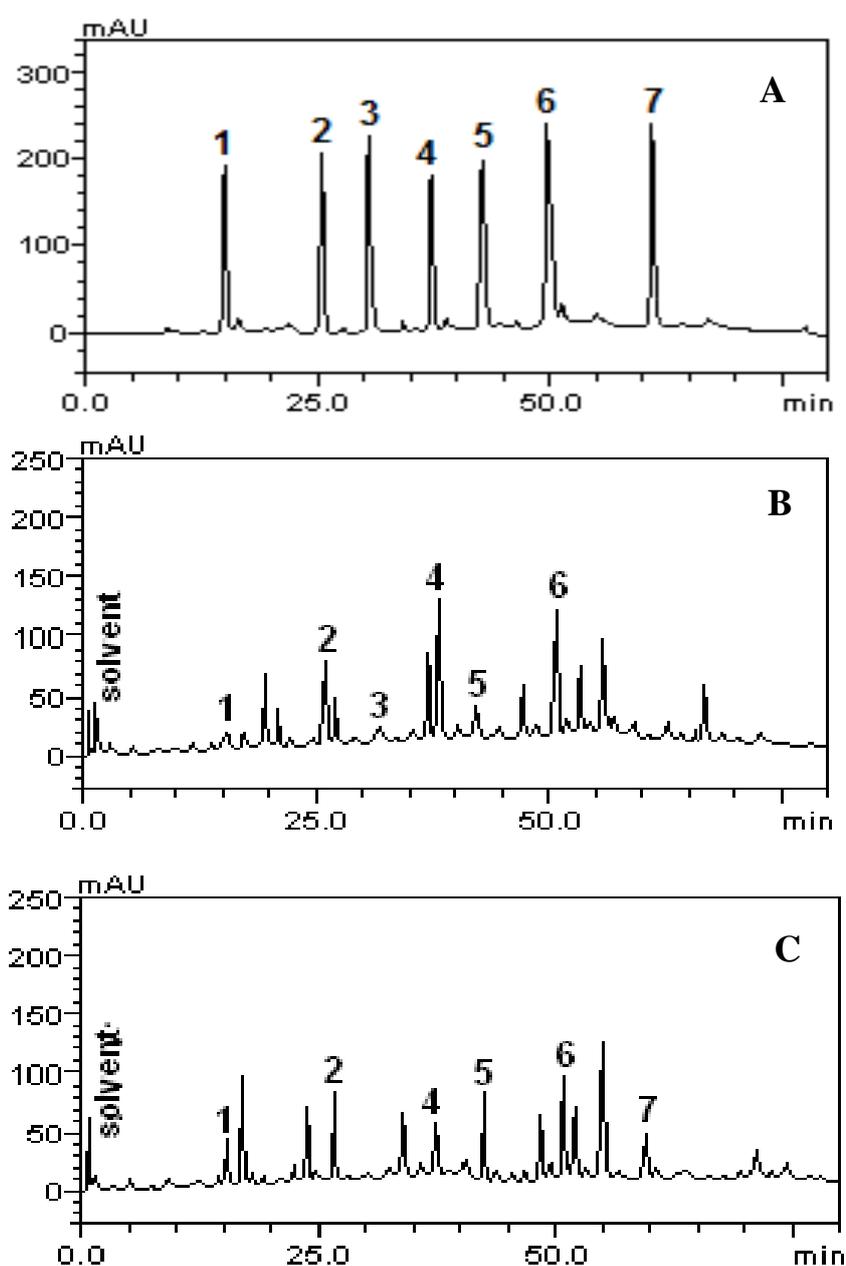
Daneluzzi et al. (2014) ao realizar testes fitoquímicos com o extrato hidroalcoólico de flores de *P. venusta* verificaram a presença de flavonoides, saponinas, taninos condensados, terpenos e esteroides. De modo similar, nos extratos etanólicos de folhas e caules de *P. venusta* também foi detectada a presença de substâncias pertencentes ao grupo dos taninos e flavonoides. Dessa forma pode-se inferir que a composição química de extratos de diferentes partes de uma mesma espécie vegetal pode variar por influência de diversos fatores, tais como o estágio de desenvolvimento da planta, época do ano em que foi coletada, temperatura, luminosidade, déficit hídrico entre outros.

#### **4.2 Identificação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE-DAD nos EEBs dos caules e folhas de *P. venusta***

A identificação de sete compostos fenólicos foi realizada nos Extratos Etanólicos Brutos das partes aéreas de *P. venusta* por CLAE-DAD com comparação com os respectivos padrões. A figura 4 apresenta os perfis cromatográficos por CLAE-DAD para ácidos fenólicos padrões (Fig. 4A) presentes nos extratos etanólicos das folhas e caules de *P. venusta* (Fig. 4B e C). Os dados evidenciam que os extratos continham entre outros compostos, catequinas ( $t_R = 14.97$  min; pico 1), ácido caféico ( $t_R = 25.18$  min; pico 2), ácido elágico ( $t_R = 31.74$  min; pico 3), verbascosídeo ( $t_R = 38.05$  min; pico 4), rutina ( $t_R = 42.67$  min; pico 5), quercetina ( $t_R = 50.11$  min; pico 6) e luteolina ( $t_R = 59.48$  min; pico 7). A quantificação dos compostos foi baseada em curvas analíticas dos padrões de referências. Curva de calibração de ácido elágico:  $Y = 11985x + 1.346,7$  ( $r = 0,9999$ ); catequina:  $Y = 12607x + 1273,9$  ( $r = 0,9997$ );

ácido caféico:  $Y = 12574x + 1.298,1$  ( $r = 0,9995$ ); verbascosídeo:  $Y = 13942x + 1195,7$  ( $r = 0,9998$ ); luteolina:  $Y = 13568x + 1145,9$  ( $r = 0,9997$ ); rutina:  $Y = 12839x + 1.368,3$  ( $r = 0,9996$ ) e quercetina:  $Y = 12925x + 1.386,7$  ( $r = 0,9999$ ) (Tab. 2). Todas as operações de cromatografia foram realizadas a temperatura ambiente e em triplicata.

**Figura 4:** Perfis cromatográficos por CLAE-DAD para compostos fenólicos padrões (A) e presentes nos extratos etanólicos (EEBs) das folhas (B) e dos caules (C) de *P. venusta*. Catequinas (pico 1), ácido caféico (pico 2), ácido elágico (pico 3), verbascosídeo (pico 4), rutina (pico 5), quercetina (pico 6) e luteolina (pico 7).



**Tabela 2:** Compostos fenólicos quantificados por CLAE-DAD nos extratos etanólicos das folhas e caules de *Pyrostegia venusta*

Compostos	EEB de <i>Pyrostegia venusta</i>		LOD	LOQ
	FOLHAS (mg/g)	CAULES (mg/g)	µg/mL	µg/mL
<b>Catequinas</b>	0.49 ± 0.03 a	2.15 ± 0.01 a	0.015	0.049
<b>Ácido caféico</b>	4.17 ± 0.01 b	4.09 ± 0.03 b	0.020	0.067
<b>Ácido elágico</b>	0.53 ± 0.01 a	-	0.008	0.026
<b>Verbascosídeo</b>	6.81 ± 0.02 c	2.18 ± 0.02 a	0.011	0.035
<b>Rutina</b>	1.45 ± 0.04 d	4.03 ± 0.01 b	0.027	0.089
<b>Quercetina</b>	6.76 ± 0.01 c	4.97 ± 0.04 c	0.016	0.052
<b>Luteolina</b>	-	2.11 ± 0.04 a	0.019	0.063

O verbascosídeo, também chamado acteosídeo é um fenilpropanóide que atua em diversas atividades biológicas como antioxidante, anti-inflamatório, fotoprotetor e quelante (OLIVEIRA M. et al., 2014), podendo ser encontrado sob níveis variados, em diversas partes do vegetal, como caule, folha, raiz primária ou secundária, sendo detectados níveis diferentes de concentração química inclusive em espécies do mesmo gênero (KIRMIZIBEKMEZ et al., 2012). Ainda são raros os registros encontrados na literatura sobre a atividade dessa substância, principalmente em relação a uma possível influência alelopática.

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas simples e complexas que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila, sendo amplamente distribuídos no reino vegetal (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2010) reúnem grande variedade de substâncias como os fenóis simples, os ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos e ligninas, geralmente são muito reativos e apresentam alta polaridade (KING; YOUNG, 1999). Os ácidos caféico e elágico são compostos fenólicos derivados do ácido cinâmico e benzoico, respectivamente (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2010). Os compostos fenólicos são apontados por Rice (1984) como a classe mais abundante em compostos chamados aleloquímicos. O ácido elágico se destaca entre os taninos e está amplamente distribuído nas plantas (SAMPIETRO, 2015).

Os flavonoides são a maior classe de compostos fenólicos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2009), a quercetina encontra-se entre os flavonoides que possuem atividade alelopática reconhecida, de acordo com a literatura (SAMPIETRO, 2015). Esse grupo de compostos

possui reconhecida atividade antioxidante por serem sequestradores de radicais livres e atuam como estabilizadores da membrana, podendo afetar o metabolismo intermediário do vegetal (KANDASWAMI; MIDDLETON, 1994; GALATI et al., 2002). A quercetina é o principal flavonoide presente na dieta humana e tem função de proteção contra o câncer, doenças cardiovasculares, hepáticas e renais (BEHLING et al., 2004), essa substância está presente em chás comercializados no Brasil (MATSUBARA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

Foi constatada atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de flores de *Pyrostegia venusta*, sobre cepas de *Candida sp.* onde o flavonóide quercetina e os fenilpropanóides verbascosídeo e isoverbascosídeo foram purificados e testados através da utilização da técnica de HPLC (PEREIRA et al., 2014).

O flavonóide luteolina, presente no EEB dos caules de *P. venusta* foi apontado como causador do efeito alelopático observado no estudo conduzido por Beninger e Hall (2005), onde este composto e o derivado luteolina-7-O-glucuronídeo foram isolados a partir de folhas de *Chrysanthemum morifolium* L. e atuaram reduzindo o número de frondes e o teor de clorofila da planta-alvo *Lemna gibba* nas concentrações 0,2 e 2,0 mM. Destaca-se a presença de luteolina como um componente muito comum em espécies da tribo Tecomeae, família Bignoniaceae, tendo sido relatada a ocorrência desse flavonoide em sete espécies dessa tribo (HARBORNE, 1967).

### **4.3 Testes alelopáticos com *Lactuca sativa* L. (alface) em laboratório e casa de vegetação**

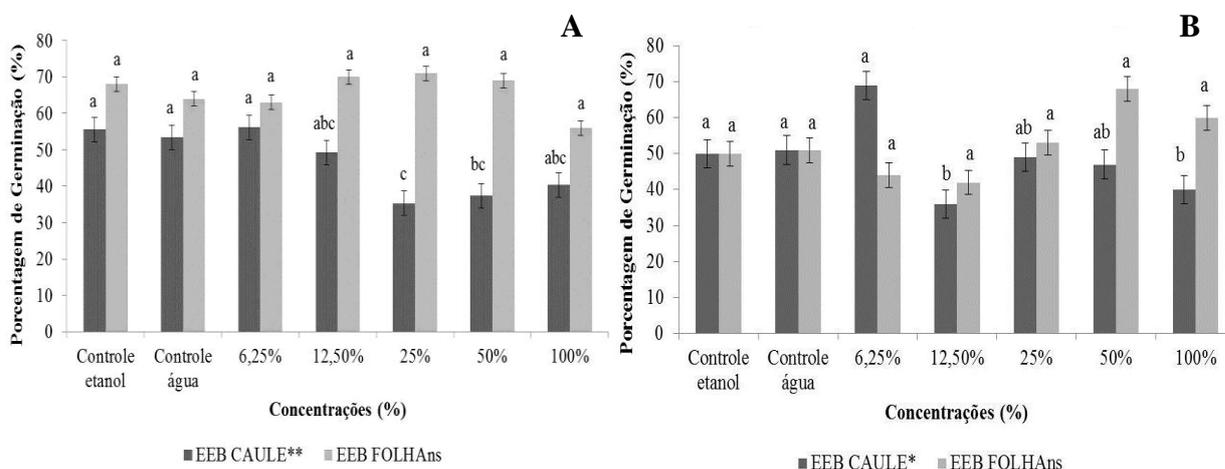
#### **4.3.1 Porcentagem de Germinação (%G)**

O EEB do caule de *P. venusta* inibiu significativamente a Porcentagem de Germinação das sementes de alface analisadas em laboratório, a partir da concentração 12,5%, em comparação com os controles (água e etanol). Sendo a maior inibição observada na concentração 25% (Fig. 5A). Resultado semelhante foi obtido por Daneluzzi et al. (2014) ao testar os efeitos do extrato hidroalcoólico das flores de *P. venusta* em sementes de alface, onde foi observado que a Porcentagem de Germinação foi afetada negativamente pelo extrato nas suas diferentes concentrações. O EEB das folhas de *P. venusta* teve efeito diferente, não sendo observada diferença estatisticamente significativa nos valores correspondentes a essa variável nas diversas concentrações do extrato quando comparadas aos controles.

Em casa de vegetação, o EEB do caule de *P. venusta* provocou redução na Porcentagem de Germinação das sementes de alface nas concentrações 12,5 e 100%,

enquanto que na menor concentração do extrato, promoveu um aumento do valor médio da Porcentagem de Germinação, nesse tratamento, superior aos valores dos dois controles (Fig. 5B).

**Figura 5:** Porcentagem de Germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Cipriani et al. (2014) ao testar o efeito alelopático de extratos aquosos das folhas de *Tecoma stans* (Bignoniaceae) sobre a Porcentagem de Germinação de sementes de alface, verificou uma redução de 98% dos valores dessa variável quando comparado ao controle, resultados diferentes dos relatados nessa pesquisa. Ferreira e Áquila (2000) argumentam que alterações na permeabilidade das membranas, na transcrição e tradução do DNA, no funcionamento dos mensageiros secundários, alteração da respiração, conformação de enzimas e de receptores, bem como a combinação de dois ou mais desses fatores podem afetar diretamente o processo germinativo.

O efeito promovido pelo EEB dos caules de *P. venusta* sobre a germinação das sementes de alface em casa de vegetação, ora inibindo, ora estimulando corroboram com Reigosa; Sánchez-Moreiras; Gonzáles (1999), para os quais a atividade dos aleloquímicos nos processos fisiológicos de uma espécie vegetal é provavelmente, dependente da concentração de cada composto, uma vez que em baixas concentrações pode ocorrer ativação e em concentrações mais altas, inibições. A atuação dos compostos químicos provoca efeitos, muitas vezes diversos e/ou contrários nos resultados detectados nas pesquisas em relação ao

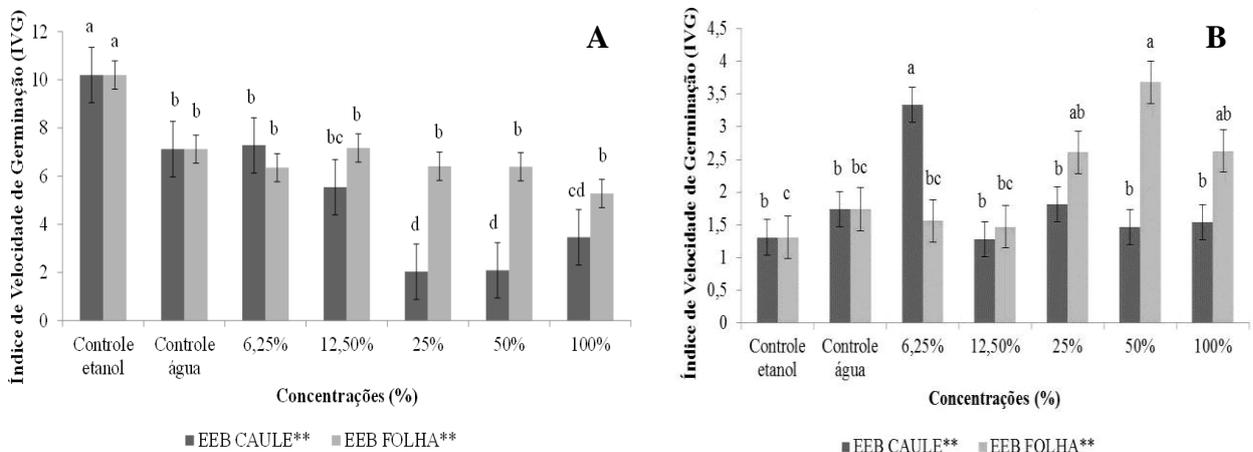
metabolismo secundário de plantas. Isto pode ser explicado, tendo em vista que alguns fatores atuam isoladamente ou em conjunto afetando a atividade dos aleloquímicos nos biotestes em estufas ou casas de vegetação, como a sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura e altitude (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

#### 4.3.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O Extrato Etanólico Bruto do caule de *Pyrostegia venusta* mostrou atividade alelopática negativa, ao reduzir a velocidade de germinação das sementes de alface a partir da menor concentração (6,25%), em laboratório, sendo essa redução mais pronunciada nas maiores concentrações do referido extrato (25, 50 e 100%) (Fig. 6A). O EEB das folhas de *P. venusta* provocou retardo no Índice de Velocidade de Germinação das sementes de alface em todas as concentrações, de maneira similar, sendo esse efeito mais visível nas maiores concentrações.

O EEB dos caules de *P. venusta* estimulou o Índice de Velocidade de Germinação das sementes de alface submetidas à concentração de 6,25%, em casa de vegetação, efeito similar foi observado nas sementes submetidas à concentração 50% do extrato etanólico das folhas (Fig. 6B).

**Figura 6:** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*.



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos em laboratório corroboram os relatos de Daneluzzi et al. (2014) onde foi verificado que a velocidade de germinação das sementes de alface foi afetada negativamente pelas diversas concentrações do extrato hidroalcoólico das flores de *P. venusta*, onde todos os tratamentos diferiram estatisticamente do controle. Esse efeito similar pode ser devido à composição química dos extratos serem semelhantes, embora os exemplares botânicos tenham sido coletados em locais diferentes.

A atuação dos EEBs de *P. venusta* foi mais acentuada sobre o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) do que sobre a Porcentagem de Germinação, sendo esse efeito devido, provavelmente, a fatores fisiológicos que fazem os efeitos sob o processo germinativo serem mais discretos, fazendo com que a atividade alelopática seja mais perceptível na velocidade de germinação (FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

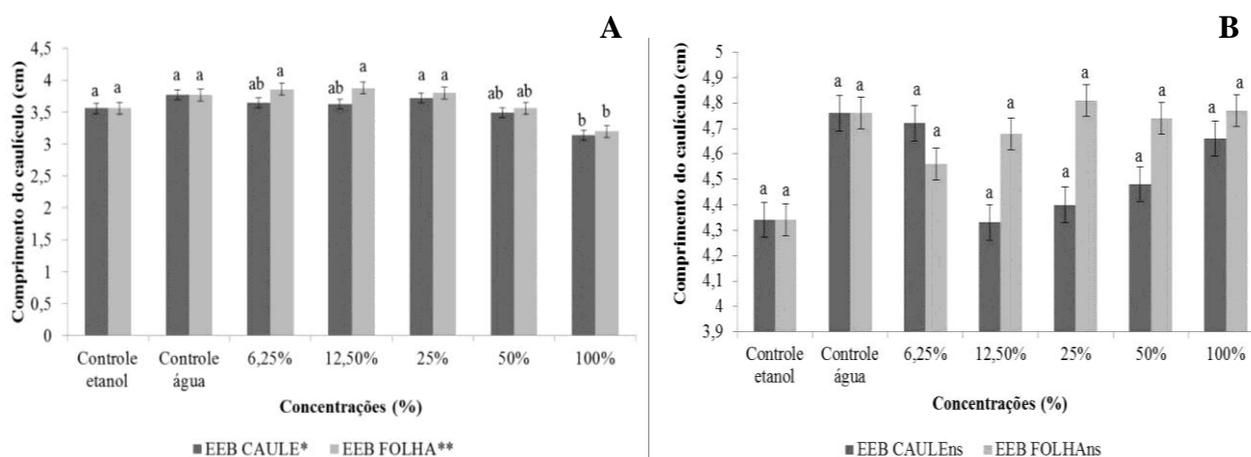
Silva V. et al. (2011), ao avaliarem a atividade alelopática do Extrato Etanólico Bruto de *Dicranopteris flexuosa* sobre sementes de alface observaram uma redução no IVG das sementes quando submetidas às maiores concentrações do extrato (500 mg/L e 1000 mg/L, respectivamente). Os autores atribuíram estes efeitos à presença do flavonoide quercetina no extrato testado. Na presente pesquisa a análise por CLAE também detectou quantidade significativa de quercetina nos EEBs de folhas e caules de *P. venusta*, verificando-se, contudo, um aumento no Índice de Velocidade de Germinação no bioensaio conduzido em casa de vegetação. Os efeitos contrários atribuídos à quercetina podem se dever a situações-teste diferentes. Neste sentido Gobbo-Neto e Lopes (2007) concluem que fatores como a idade da planta e do tecido, a sazonalidade, a temperatura, estação do ano e disponibilidade hídrica podem afetar a liberação e ação dos compostos alelopáticos entre os quais, a quercetina.

#### 4.3.3 Desenvolvimento do caulículo

Nos experimentos realizados em laboratório o desenvolvimento da parte aérea das plântulas de alface (Fig. 7A) foi afetado negativamente pelo EEB do caule de *P. venusta*. A redução foi discreta nas concentrações iniciais, se intensificando no extrato concentrado (100%), provocando redução no comprimento do caulículo em relação aos controles. O mesmo ocorreu com as plântulas submetidas às diversas concentrações do EEB das folhas de *P. venusta*, sendo constatada redução significativa no comprimento do hipocótilo, em comparação com os controles, apenas na maior concentração do extrato.

No bioensaio realizado em casa de vegetação os EEBs das folhas e caules de *P. venusta* não causaram interferência alelopática significativa no desenvolvimento do caulículo das plântulas de alface (Fig. 7B). Já em laboratório observou-se uma redução significativa no comprimento dos referidos caulículos. Esses resultados se assemelham aos obtidos por Silva V. et al. (2011), que ao avaliarem a atividade alelopática do extrato etanólico e frações semipurificadas de *Dicranopteris flexuosa* sobre sementes de alface em laboratório e casa de vegetação, obteve resultados diferentes quando comparados os dois ambientes, sendo os resultados mais efetivos nos testes conduzidos em laboratório. Os autores atribuíram tal resultado aos processos de retenção e transporte aos quais os aleloquímicos podem estar sujeitos em casa de vegetação.

**Figura 7:** Comprimento do caulículo de plântulas de *Lactuca sativa* L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Cansian et al. (2013) constataram resultados diferentes ao investigar a atividade alelopática do extrato etanólico bruto e frações de raízes, caules e folhas de *Tynanthus micranthus* Corr. Mello ex. Schum. (Bignoniaceae) sobre diásporos de *L. sativa*, onde foi observada ação alelopática estimulatória apenas da fração clorofórmica do caule sobre o desenvolvimento do caulículo, em todas as concentrações, sendo que o efeito dos demais extratos não apresentou significância. Cândido et al. (2010) destaca a importância desses testes biométricos para constatar as alterações que as substâncias-testes podem causar no desenvolvimento do caulículo e da radícula.

Oliveira, A. et al. (2014) ao realizar experimentos com extrato aquoso e etanólico da parte externa e interna da casca de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae) sobre o desenvolvimento de plântulas de alface, observaram redução significativa no comprimento do caulículo das mesmas quando submetidas às diversas concentrações do extrato etanólico da casca externa e interna da planta doadora. A análise fitoquímica dos referidos extratos revelou a presença de compostos fenólicos e taninos, aos quais os autores atribuíram o efeito alelopático observado. Na presente pesquisa tais classes de substâncias também foram detectadas nos EEBs de *P. venusta*, sendo provavelmente, as responsáveis pelo efeito negativo observado sobre o desenvolvimento do caulículo de alface.

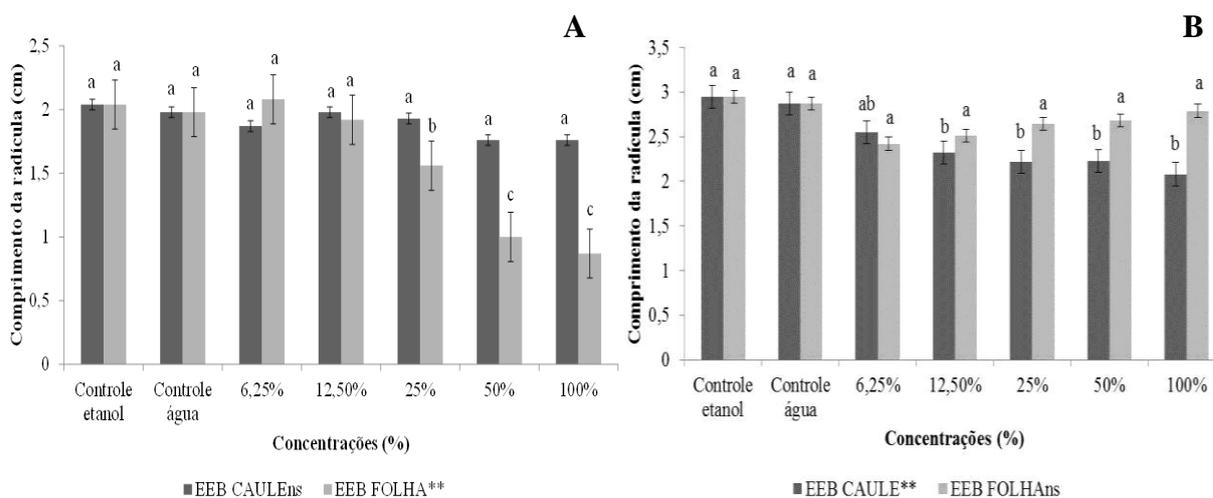
Os experimentos de Silva P. et al. (2011) avaliaram os efeitos de extratos orgânicos de *P. venusta* sobre o desenvolvimento de plântulas de *Cucumis sativus* (pepino) sendo constatado efeito inibitório dos extratos hexânico e metanólico, em todas as concentrações testadas, sobre o comprimento do hipocótilo da planta-alvo. Estes resultados diferem do que foi observado nos experimentos utilizando EEB dos caules e folhas de *P. venusta* sobre plântulas de alface em casa de vegetação, onde não foi constatado efeito alelopático estatisticamente significativo sobre o desenvolvimento dos caulículos da espécie receptora.

#### 4.3.4 Desenvolvimento da radícula

Em relação ao desenvolvimento da raiz primária, o efeito do EEB do caule de *P. venusta* em laboratório foi similar ao que ocorreu com a parte aérea das plântulas de alface (Fig. 8A). Foi observada uma redução do comprimento da radícula com o aumento da concentração do extrato, entretanto esse efeito não foi estatisticamente significativo. Com as plântulas submetidas ao EEB das folhas de *P. venusta*, foi observada uma inibição significativa no comprimento da radícula nas maiores concentrações do extrato.

Nos experimentos em casa de vegetação verificou-se que o EEB dos caules de *P. venusta* interferiu negativamente no desenvolvimento da raiz primária das plântulas de alface submetidas às diversas concentrações do extrato. A inibição iniciou de forma discreta, na menor concentração do extrato (6,25%) acentuando-se progressivamente de acordo com o aumento da concentração (Fig. 8B), o extrato das folhas não apresentou diferenças estatisticamente significativas na comparação com os controles.

**Figura 8:** Comprimento da radícula de plântulas de *Lactuca sativa* L. (alface) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram observados por Silva P. et al. (2011) onde os extratos acetato-etílico e metanólico das folhas de *P. venusta* apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento da raiz de *Cucumis sativus* L. (pepino) em todas as concentrações testadas e o extrato hexânico inibiu o desenvolvimento dessa variável nas maiores concentrações. O sistema radicular é a porta de entrada de grande porção da água, solutos orgânicos e inorgânicos recebidos pelo vegetal, portanto, o efeito alelopático acentuado sobre as raízes é indicativo de fitotoxicidade e pode ser resultante do contato direto dessa parte da planta com os metabólitos secundários presentes nos extratos testados (ALLEN; GOMES; BORGUETTI, 2014; CHUNG; AHN; YUN, 2001).

Em testes com extrato metanólico das folhas de *Palicourea crocea* realizado por Formagio et al. (2014) foi constatado efeito inibitório sobre o desenvolvimento da radícula de *L. sativa* quando submetidas às diversas concentrações do extrato. Os autores atribuíram essa atividade negativa à presença de quercetina no extrato da planta doadora. Efeito similar ocorreu com o desenvolvimento da raiz primária de plântulas de alface submetidas ao extrato etanólico dos caules de *P. venusta* analisadas em casa de vegetação, sendo essa interferência devida, provavelmente, à presença desse flavonoide no EEB dos caules.

Rizzi et al. (2016) relatam resultados semelhantes ao avaliar o efeito alelopático do extrato etanólico e aquoso de folhas de *Vochysia haenkeana* sobre a germinação e o crescimento de alface e tomate, onde foi observada redução significativa no comprimento

radicular das plântulas de alface e tomate submetidas a todas as concentrações do extrato etanólico da espécie-teste, em experimento conduzido em casa de vegetação. Os autores afirmam ser esse efeito ocasionado pela presença de taninos e flavonoides nos extratos, que, de acordo com os mesmos, podem atuar na inibição do comprimento radicular. Essas classes de compostos foram também detectadas nos EEBs dos caules de *P. venusta*, podendo ser o efeito negativo observado devido à presença destes compostos.

A interferência negativa do EEB dos caules de *P. venusta* observada nesse estudo, sobre o desenvolvimento das plântulas de alface, pode ser um reflexo de alterações ocorridas no interior do corpo da planta, pois de acordo com Almeida et al. (2008) a redução do crescimento de plantas na presença de aleloquímicos está associada à uma interferência no processo de divisão celular e/ou ao rompimento da estruturas intracelulares, como por exemplo, núcleo e mitocôndrias.

#### **4.4 Testes alelopáticos com *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) em laboratório e casa de vegetação**

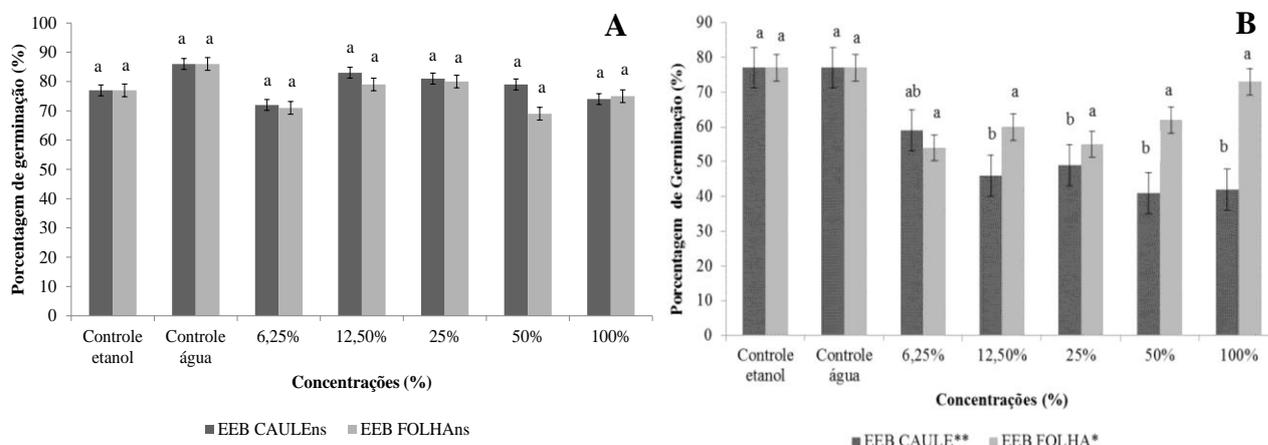
##### **4.4.1 Porcentagem de Germinação (%G)**

O EEB das folhas de *P. venusta* causou uma pequena redução na Porcentagem de Germinação das sementes de carrapicho, quando comparadas aos controles, sendo esse efeito mais pronunciado na concentração 50%, contudo as médias referentes aos tratamentos não diferiram estatisticamente (Fig. 9A). O EEB do caule de *P. venusta* também não demonstrou efeito alelopático estatisticamente significativo quando comparadas as médias dos controles e das concentrações. Resultados diferentes foram obtidos por Félix (2012) onde foi testado o extrato aquoso fervido e triturado de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith sobre sementes de alface, picão-preto e carrapicho, sendo observada a total supressão da germinação em todos os tratamentos testados e para todas as sementes-teste, o autor atribuiu o efeito alelopático observado à presença de rutina e quercetina nos extratos de *A. cearenses*. Estes flavonoides também foram detectados na análise por CLAE-DAD dos EEBs das folhas e caules de *P. venusta*, demonstrando que estes compostos químicos podem ter atividade alelopática sobre a germinação, embora esta variável não tenha sido afetada nesse caso.

O EEB das folhas de *P. venusta* não teve efeitos sobre a Porcentagem de Germinação das sementes de carrapicho analisadas em casa de vegetação, quando comparadas aos controles (Fig. 9B). Já o EEB do caule de *P. venusta* demonstrou efeito alelopático negativo e

estatisticamente significativo a partir da concentração 12,5% tal efeito foi intensificado com o aumento da concentração.

**Figura 9:** Porcentagem de Germinação de sementes de *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*.



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Souza Filho et al. (2009) testando o extrato hidroalcoólico de *Mansoa standleyi* (Bignoniaceae) sobre a germinação da planta daninha *Mimosa pudica* (malícia) constataram inibição significativa do extrato em todas as concentrações testadas sobre a germinação da planta-alvo. Esses resultados sugerem que o extrato alcoólico de *P. venusta* possui substâncias químicas que se comportam como aleloquímicos, contudo esses compostos não tiveram atividade sobre a Porcentagem de Germinação final da semente de carrapicho, podendo ser esse fato decorrente de uma maior resistência fisiológica dessa espécie em particular. O uso de mais de uma espécie-alvo confere uma maior confiabilidade acerca das potencialidades alelopáticas da espécie doadora, pois permite interferências mais amplas e mais próximas da realidade (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

Santos et al. (2011) ao avaliaram o efeito alelopático de extratos orgânicos de folhas de *Calopogonium mucunoides* (calopogônio) sobre a germinação de sementes de *Cassia tora* (mata-pasto), *Mimosa pudica* (malícia) e *Cassia occidentalis* (fedegoso) relataram inibição da germinação das espécies receptoras atribuindo tal fato a presença de ácido caféico (fenol), rutina e quercetina (flavonóides) presentes no extrato acetato-etílico de folhas do calopogônio. O EEB dos caules de *P. venusta* apresenta esses mesmos compostos. Sob esse ponto de vista é

possível atribuir o efeito inibitório observado sobre a germinação de sementes de carrapicho, em casa de vegetação, a algum desses compostos, ou à combinação destes.

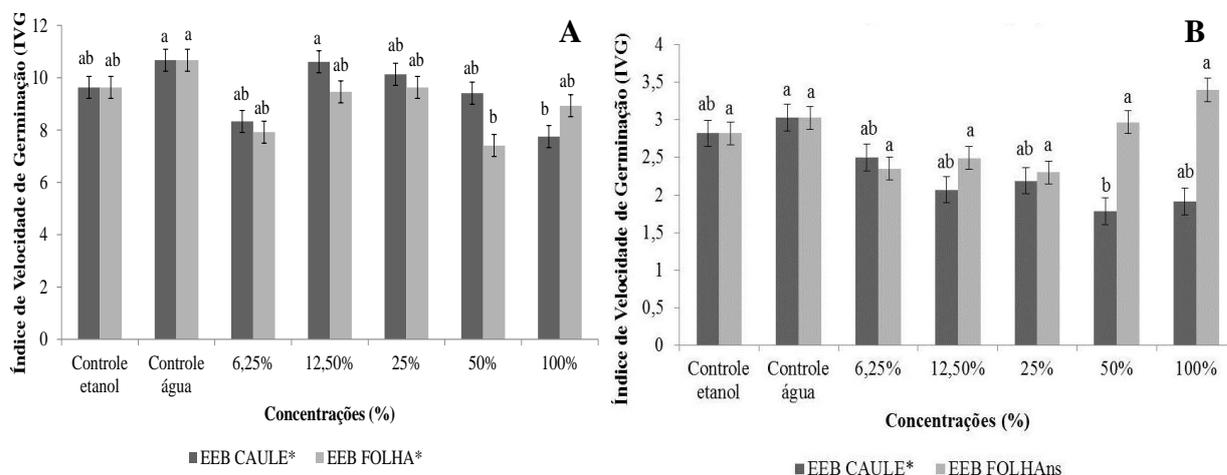
Os efeitos negativos observados sobre a germinação de sementes de carrapicho submetidas ao extrato de folhas de *Pyrostegia venusta* cultivadas em casa de vegetação pode se dever ao fato de que os efeitos prejudiciais dos aleloquímicos sobre a germinação de sementes no campo podem causar estresse oxidativo, formando espécies reativas de oxigênio que atuam direta ou indiretamente como sinalizadores em processos de degradação celular ocasionando efeito prejudicial nos processos fisiológicos, bem como interferindo no desenvolvimento inicial das espécies, podendo levar à não uniformidade da cultura (ALMEIDA et al., 2008)

#### 4.4.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O EEB das folhas de *P. venusta* provocou retardo no Índice de Velocidade de Germinação das sementes de carrapicho na concentração 50% nos experimentos em laboratório (Fig. 10A). O EEB do caule provocou pequena redução no Índice de Velocidade de Germinação das sementes de carrapicho na comparação entre os tratamentos e os controles, sendo esse efeito estatisticamente significativo, nas maiores concentrações do extrato (50% e 100%).

O EEB do caule provocou discreto retardo no Índice de Velocidade de Germinação das sementes de carrapicho em casa de vegetação a partir da menor concentração, sendo que a partir da concentração 50% esse efeito foi mais visível (Fig. 10B). O EEB das folhas de *P. venusta* provocou pequena redução no Índice de Velocidade de Germinação das sementes de carrapicho nos três primeiros tratamentos na comparação com os controles, contudo, esse efeito não foi estatisticamente significativo.

**Figura 10:** Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com Ferreira e Borguetti (2004) plantas que se estabelecem rapidamente no ambiente apresentam uma germinação rápida e aproveitam qualquer recurso físico e/ou fisiológico para o desenvolvimento de novos indivíduos. Os extratos etanólicos das folhas de *P. venusta* interferiram de forma negativa em relação ao Índice de Velocidade de Germinação de *C. echinatus*, e essa atividade alelopática foi causada, provavelmente, pela presença dos compostos fenólicos detectados nos extratos testados.

Alencar et al. (2015) relataram resultados similares ao testar a atividade alelopática do extrato aquoso bruto das folhas de *Bambusa vulgaris* sobre sementes de milho e feijão em condições de casa de vegetação, onde foi verificada redução do IVG nas sementes de milho submetidas à concentração 25% e, nas sementes de feijão, quando submetidas às maiores concentrações do extrato. Os autores relatam a detecção de taninos, fenóis, flavonoides, flavonas, flavonóis, xantonas e catequinas no extrato de *B. vulgaris*, sendo que estes foram também identificados no EEB dos caules de *P. venusta*, podendo ser esses compostos os responsáveis pela interferência alelopática negativa descrita acima.

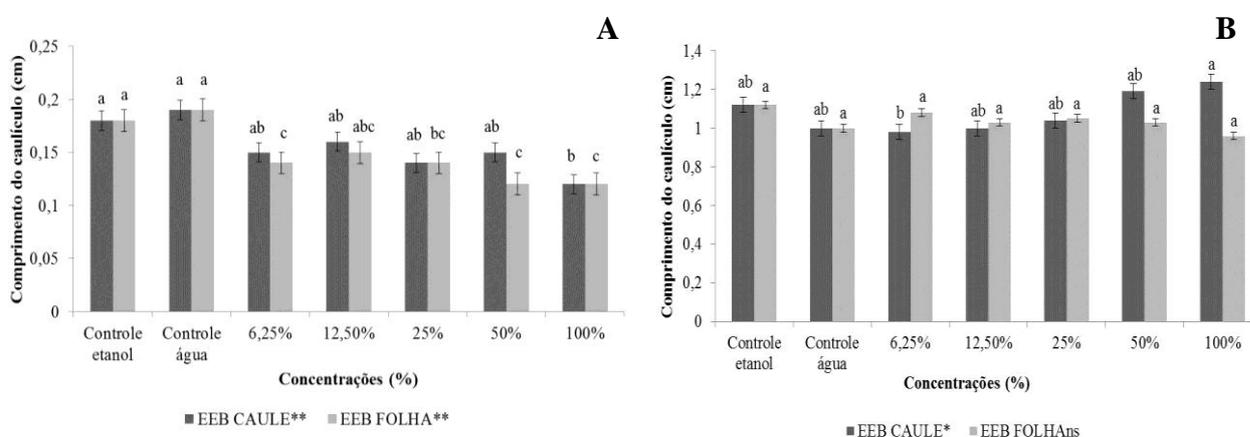
#### 4.4.3 Desenvolvimento do caulículo

Nos experimentos conduzidos em laboratório foi observada uma pequena diminuição no comprimento do caulículo das plântulas submetidas a todas as concentrações do extrato

alcoólico das folhas de *P. venusta*, contudo essa redução foi significativa apenas nas concentrações 6, 25, 50 e 100% (Fig. 11A). O EEB do caule de *P. venusta* provocou efeito alelopático negativo em relação ao comprimento do caulículo. Foi observado que todas as concentrações testadas diferiram estatisticamente dos dois controles, sendo que o efeito se acentuou no extrato mais concentrado.

O desenvolvimento da parte aérea das plântulas de carrapicho em casa de vegetação (Fig. 11B) sofreu interferência negativa do EEB do caule de *P. venusta* apenas em sua menor concentração. Já o extrato etanólico das folhas não provocou efeito de natureza alelopática nas plântulas da planta-alvo.

**Figura 11:** Comprimento do caulículo de plântulas de *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O experimento realizado por Souza Filho et al. (2009), utilizando extrato hidroalcoólico de *M. standleyi* (Bignoniaceae) em diversas concentrações sobre o desenvolvimento de plântulas de *Mimosa pudica* L. (malícia), verificou inibição nos valores do caulículo, sendo constatado a maior concentração do extrato (2,0%) ocasionou a maior inibição desta variável.

Rizzi et al. (2016) relata efeito alelopático inibitório de todas as concentrações testadas dos extratos etanólicos e aquosos de folhas de *Vochysia haenkeana* sobre o crescimento do hipocótilo, de plântulas de alface e tomate cultivadas em casa de vegetação. A caracterização química do extrato etanólico de *Vochysia haenkeana* mostrou a presença de

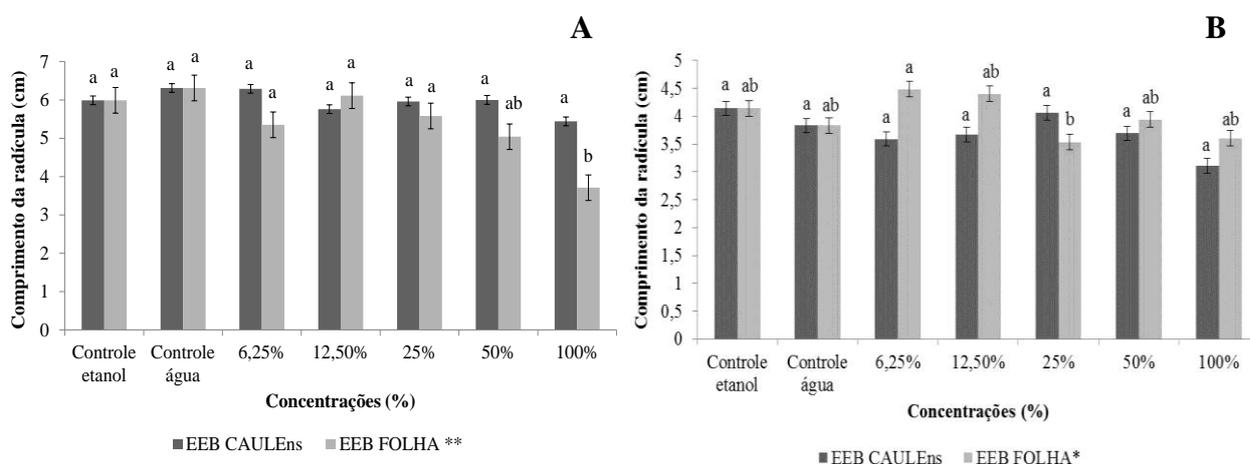
classes de taninos e flavonoides, que também foram detectados nos extratos etanólicos de *P. venusta*, dessa forma, é possível relacionar o efeito alelopático observado neste estudo, ainda que discreto, com as classes químicas encontradas.

#### 4.4.4 Desenvolvimento da radícula

O EEB do caule de *P. venusta* não demonstrou potencial alelopático estatisticamente significativo sobre o desenvolvimento da raiz primária das plântulas de carrapicho (Fig. 12A). Já o extrato alcoólico das folhas demonstrou potencial alelopático negativo, onde causou redução no comprimento das radículas, sendo o efeito mais pronunciado observado nas plântulas submetidas ao extrato de maior concentração (100%). Resultado semelhante foi relatado por Daneluzzi et al. (2014) ao verificar que houve decréscimo nos valores do comprimento radicular de plântulas de alface submetidas às maiores concentrações do extrato hidroalcoólico das flores de *P. venusta*. A análise por CLAE-DAD dos EEBs das folhas e caules de *P. venusta* detectou a presença de compostos fenólicos que podem ter atuado isoladamente ou em conjunto para ocasionar o efeito alelopático observado sobre o desenvolvimento da radícula das plântulas de carrapicho. A maioria dos compostos fenólicos é encontrada na natureza sob a forma de ésteres ou de heterosídeos, sendo, dessa forma, solúveis em água e em solventes orgânicos polares (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2010), é o caso do etanol, solvente utilizado neste estudo.

O comprimento da raiz primária das plântulas de *C. echinatus* testadas em casa de vegetação foi afetado positivamente pelo EEB das folhas de *P. venusta* na menor concentração do extrato (6,25%), onde foi possível perceber que o comprimento radicular alcançou valor acima daqueles verificados para os dois controles, e atuou negativamente na concentração 25% (Fig. 12B). O extrato dos caules não atuou de forma significativa no desenvolvimento dessa variável.

**Figura 12:** Comprimento da radícula de plântulas de *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) analisadas (A) em laboratório e (B) em casa de vegetação, submetidas às diferentes concentrações do EEB dos caules e das folhas de *Pyrostegia venusta*



(\*\*) significância ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ), (\*) significância ao nível de 5% de probabilidade ( $\leq p < 5$ ), (ns) não significância ( $p \geq 0,05$ ). Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com Cândido et al. (2013) a maior sensibilidade às concentrações dos extratos, evidenciada pelo exame das variáveis relacionadas ao desenvolvimento das plântulas em relação à germinação, se deve aos processos de absorção e concentração de fitotoxinas nos tecidos radiculares serem beneficiados pelo contato físico direto da raiz com o substrato (papel-filtro) e, conseqüentemente, com o extrato testado.

De acordo com Allen; Gomes; Borguetti (2014) o efeito dose-dependente de um extrato vegetal pode ser mais pronunciado na raiz primária do que no caulículo, sendo caracterizado por uma redução progressiva nos valores referentes a essa variável.

Segundo Goldfarb, Pimentel e Pimentel (2009), a observação de efeito alelopático estimulatório em um dos tratamentos do extrato, e inibitório em outro, pode estar relacionado à concentração que determinadas substâncias podem ser encontradas no ambiente, determinando a natureza da atividade alelopática. Caso algum aleloquímico esteja atuando como hormônio vegetal também pode ocorrer interferência positiva, como o aumento do comprimento radicular (OLIVEIRA A. et al., 2014). Quando há inibição do crescimento radicular, ocorre também uma redução na pressão competitiva da planta, situação que favorece o estabelecimento da dominância local das espécies circunvizinhas (FORMAGIO et al., 2014).

Em experimento desenvolvido com extratos orgânicos de *Pyrostegia venusta*, Silva P. et al. (2011) relataram apenas efeitos inibitórios quanto ao desenvolvimento da radícula de

pepino quando submetidas ao extrato acetato e metanólico das folhas da espécie em todas as concentrações testadas e nas maiores concentrações do extrato hexânico.

A presença de compostos como verbascosídeo, quercetina e ácido caféico no EEB dos caules e de ácido caféico, rutina e quercetina no EEB das folhas de *P. venusta* em maior quantidade em relação aos demais compostos detectados pela técnica de CLAE, permite inferir que a atividade alelopática observada seja devida à ação destes ou, mais provavelmente, à combinação entre dois os mais desses compostos, tendo em vista que os mesmos já foram citados como causadores de interferência alelopática em estudos anteriores.

Foi possível perceber através da análise dos dados que o efeito dos EEBs de *P. venusta* apresentaram uma maior efetividade nos testes em laboratório, quando considerados os dois tipos de extrato. Pois tanto o EEB dos caules, quanto o EEB das folhas apresentou interferência em número similar de variáveis. Quando considerado cada tipo de extrato observou-se que, em casa de vegetação, o EEB dos caules apresentou resultados mais significativos do que o extrato das folhas. Num sentido geral, os testes em laboratório apresentaram significância num maior número de variáveis analisadas. Dessa forma, é possível afirmar que os fatores ambientais são muitas vezes determinantes para a ocorrência ou não de atividade alelopática, pois atuam por influenciar a liberação e ação dos aleloquímicos de maneira direta ou indireta.

#### **4.7 Valores de pH dos EEBs de *Pyrostegia venusta***

As diferentes concentrações dos EEBs dos caules e folhas de *P. venusta* mostraram variação baixa nos valores de pH, estando estes valores presentes entre 4,50 e 6,50. Daneluzzi et al. (2014) ao avaliar o extrato hidroalcoólico de flores dessa mesma espécie, obtiveram valores de pH entre 6,35 e 6,67, dados que se assemelham aos encontrados no presente estudo (Tab. 4). Silva P. et al. (2011) ao testar efeito de extratos e frações de *P. venusta* obteve valores contidos no intervalo 5,75 a 6,65, também condizente com as características identificadas nessa pesquisa para os extratos alcoólicos de cipó-de-são-jão.

O controle do pH dos extratos brutos em experimentos é importante pois esses extratos concentrados podem conter solutos orgânicos que podem alterar essa variável e mascarar o efeito alelopático (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Os dados encontrados na literatura sobre os efeitos do pH na germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas são basicamente acerca de espécies vegetais ocorrentes em regiões temperadas (PERIOTTO; PEREZ; LIMA, 2004).

**Tabela 3:** Valores de pH inicial e ajustado para os EEBs dos caules e folhas de *Pyrostegia venusta* sobre *Lactuca sativa* e *Cenchrus echinatus* nos experimentos em laboratório e casa de vegetação.

Teste	Concentrações (%)	EEB caule		EEB folha	
		pH inicial	pH ajustado	pH inicial	pH ajustado
<i>L. sativa</i> em laboratório	6,25%	4,92	6,02	5,03	6,22
	12,5%	4,80	6,25	5,13	6,17
	25,0%	4,89	6,09	5,14	6,37
	50,0%	5,30	6,15	5,01	6,08
	100,0%	5,49	6,38	5,13	6,13
<i>C. echinatus</i> em laboratório	6,25%	6,13	-	5,13	6,08
	12,5%	5,45	6,15	6,41	-
	25,0%	6,54	6,10	5,45	6,15
	50,0%	6,45	-	6,15	-
	100,0%	5,05	6,36	5,60	6,03
<i>L. sativa</i> em casa de vegetação	6,25%	5,11	6,08	5,10	6,40
	12,5%	5,15	6,20	5,20	6,23
	25,0%	4,90	6,10	4,90	6,20
	50,0%	4,60	6,13	5,02	6,11
	100,0%	4,12	6,04	6,40	-
<i>C. echinatus</i> em casa de vegetação	6,25%	4,70	6,50	4,80	6,00
	12,5%	4,60	6,40	4,70	6,20
	25,0%	4,70	6,50	4,60	6,20
	50,0%	4,70	6,50	4,50	6,10
	100,0%	5,20	6,30	4,60	6,10

A análise desses resultados permite descartar a possível interferência dessa variável nos resultados obtidos, podendo-se inferir que os efeitos alelopáticos observado foram causados pelos compostos químicos presentes nos extratos etanólicos da planta doadora, necessitando testes mais aprofundados, através do fracionamento e purificação de substâncias no intuito de confirmar essa ação em campo utilizando os aleloquímicos identificados isoladamente e em conjunto.

## 5 CONCLUSÕES

Os Extratos Etanólicos Brutos dos caules e folhas de *P. venusta* apresentaram atividade alelopática sobre *Lactuca sativa* L. (alface) e *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) nos ensaios realizados em laboratório e em casa de vegetação.

Os ensaios realizados em laboratório apresentaram um maior número de variáveis afetadas pelos aleloquímicos presentes nos extratos em relação à casa de vegetação.

O extrato etanólico dos caules de *P. venusta* apresentou ação mais efetiva do que o extrato etanólico das folhas dessa espécie, tal efeito pode ser atribuído aos aleloquímicos presentes no referido extrato.

A análise fitoquímica do extrato dos caules de *P. venusta* revelou a presença de compostos fenólicos e alcaloides. Na análise por CLAE-DAD foram identificados e quantificados sete compostos fenólicos. É provável que estes compostos químicos estejam relacionados ao efeito alelopático descrito, tendo em vista que algumas dessas substâncias foram citadas na literatura como mediadores de atividade alelopática.

É necessária a realização de testes mais aprofundados para confirmar os efeitos inibitórios detectados nos EEBs de *P. venusta*, no intuito de desenvolver produto dotado de efeito herbicida.

Dessa forma é possível concluir que a alelopatia pode estar atuando como um fator limitante sobre o desenvolvimento de outras espécies, caso os efeitos verificados no presente estudo possam ser verificados também no campo.

## REFERÊNCIAS

- ALENCAR, S.R.; SILVA, M.A.P.; FIGUEIREDO, M.F.; SANTOS, M.A.F.; GENERINO, M.E.M.; TORQUATO, I.H.S.; CRISPIM, M.K.M. Biological Activity of *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J.C. Wendl. (Poaceae). **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 6, p. 150-159, 2015.
- ALMEIDA, G.D.; ZUCOLOCO, M.; ZETUN, M.C.; COELHO, I.; SOBREIR, F.M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de Agronomia**, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.
- ALMEIDA, L.F.R. **Composição química e atividade alelopática de extratos foliares de *Leonorus sibicus* L. (Lamiaceae)**. 2006. 105p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Botânica) – AC: Fisiologia Vegetal. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências. Botucatu-SP.
- ALLEM, L.N.; GOMES, A.S.; BORGHETTI, F. Pequi leaves incorporated into the soil reduce the initial growth of cultivated, invasive and native species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 4, p.1761-1768, 2014.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 1 ed. Viçosa, Minas Gerais. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, v. 3, p.147-155, 1991.
- BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n.3, p.285-292, 2004.
- BENINGER, C.W., HALL, J.C. Allelopathic activity of luteolin 7-O-glucuronide isolated from *Chrysanthemum morifolium* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n.2, 103–111, 2005.
- BOLIGON, A.A.; PIANA, M.; KUBIÇA, T.F.; MARIO, D.N.; DALMOLIN, T.V.; BONEZ, P.C.; WEIBLEN, R.; LOVATO, L.; ALVES, S.H.; CAMPOS, M.M.A.; ATHAYDE, M.L. HPLC analysis and antimicrobial, antimycobacterial and antiviral activities of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. **Journal of Applied Biomedicine**, v.13, n.1, p.7-18, 2015.
- BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDES, T. Z.; AMARANTES, L.; MORAES, D. M. M.; VILLELA, F. A. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.2, p.415-420, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Produção Vegetal, Divisão de Sementes e Mudanças. **Regras para análise de sementes**. Brasília: LANARV/SNAD/MA, 2009. 398p.
- CÂNDIDO, A. C. S.; SILVA, C. B.; SIMIONATTO, E.; BIGATON, D.; SCALON, S. P. Q.; PERES, M. T. L. P. Atividade fitotóxica de *Croton doctoris* S. Moore. **Revista Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 645-652, 2013.

- CÂNDIDO, A.C.S.; SCHMIDT, V.; LAURA, V.A.; FACCENDA, O.; HESS, S.C.; SIMIONATTO, E.; PERES, M.T.L.P. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. **Acta Botânica Brasílica**, v.24, n.1, p. 235-242, 2010.
- CANSIAN, F. C.; LIMA, C. P.; ZORTÉA, F. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; Potencial alelopático de *Tynanthus micranthus* Corr. Mello ex. Schum. (Bignoniaceae) sobre diásporos de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.34, n.1, p.137-140, 2013.
- CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSSMAN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Orgs.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre e Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010. Capítulo 16, p.403-434.
- CARVALHO, T.M.; FERREIRA, M.E.; BAYER, M. Análise integrada dos uso da terra e geomorfologia do Bioma Cerrado: Um estudo de caso para Goiás. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.1, n.1, p.62-72, 2008.
- CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v.20, n.10, p.921-928, 2001.
- CIPRIANI, F.A.; KAPLAN, M.A.C.; ISAIAS, R.M.S.; SOARES, G.L.G. Avaliação da fitotoxidez de *Tecoma stans* (L.) Kunth. **Revista Floresta e Ambiente**, v.21, n.1, p.1-7, 2014.
- COSTA, I.R.; ARAÚJO, F.S.; LIMA-VERDE, L.W. Flora e aspectos auto-ecológicos de um enclave de cerrado na chapada do Araripe, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.18, n.4, p.759-770, 2004.
- CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H.; BATISTA, M.A. Plantas medicinais e Alelopatia. **Biociência: Ciência & Desenvolvimento**, n.15, p.28-34, 2000.
- DANELUZZI, G.S.; SANTOS, V.H.M.; SILVA, L.P.; SILVA, R.M.G. Avaliação dos potenciais fitotóxico e citotóxico de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, p. 1231-1240, 2014.
- DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Mediciniais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. rev. e ampliada. São Paulo: UNESP, 2002.
- DURIGAN, G.; NISHIKAWA, D.L.L.; ROCHA, E.; SILVEIRA, E.R.; PULITANO, F.M.; REGALADO, R.B.; CARVALHAES, M.A.; PARANAGUÁ, P.A.; RANIERI, V.E.L. Caracterização de dois estratos da vegetação em uma área de Cerrado no município de Brotas, SP, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.16, n. 3, p.251-262, 2002.
- FELIX, R.A.Z. **Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith sobre a germinação e emergência de plântulas**. 2012. 90 p. Tese. (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica), AC: Fisiologia Vegetal - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2012.

- FERNANDES, A.P.; RIBEIRO, G.E.; RUFINO, L.R.A.; SILVA, L.M.S.; BORIOLLO, M.F.G.; OLIVEIRA, N.M.S.; FIORINI, J.E. Efeito do extrato hidroalcoólico de *Pyrostegia venusta* na mutagênese “in vivo”, e avaliação antimicrobiana, e interferência no crescimento e diferenciação celular “in vitro”. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.21, n.3, p.267-274, 2011.
- FERREIRA, T. D.; ALVARES, P. S. M.; HOUGHTON, P. J.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos das raízes de *Pyrostegia venusta* e considerações sobre a sua importância medicinal. **Química Nova**, v. 23, n.1, p. 42-46, 2000.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (Edição especial), p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: Do Básico ao aplicado**. 1 ed. Porto Alegre. Artmed, 2004.
- FIGUEIREDO, M.A.; FERNANDES, A. Encraves de Cerrado no interior do Ceará. **Ciência Agrônômica**, v. 18, n. 2, p. 103–106, 1987.
- FORMAGIO, A.S.N.; MASETTO, T.E.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A.H.; DE MATOS, A.I.N.; VOLOBUFF, C.R.F. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Bioscience Journal**, v. 30, suplemento 2, p. 629-638, 2014.
- GALATI, G.; SABZEVARI, O.; WILSON, J. X.; O'BRIEN, P. J. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. **Toxicology**, v. 177, n.1, p.91- 104, 2002.
- GATTI, A.B.; PEREZ, S.C.J.G.A.; FERREIRA, A.G. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, suplemento 2, p.174-176, 2007.
- GENTRY, A. H.; TOMB, A. S. Distribution patterns of neotropical Bignoniaceae: some phytogeographic implications in Larsen K. and Holm-Nielsen, B.L. **Tropical Botany**, p. 339-354, 1979.
- GENTRY, A. H. A Field Guide to the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America. **Conservation International**, Washington, D.C. 1993.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L.W.; PIMENTEL, N.W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n. 1, p. 23-28, 2009.
- GUSMAN, A. B.; GOTTSBERGER, G. Differences in floral morphology, floral nectar constituents, carotenoids and flavonoids in petals of orange and yellow *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae) flowers. **Phyton**, v.36, n.2, p.161-171, 1996.
- HARBORNE, J. B. Comparative flavonoid biochemistry of the flavonoids-vi: patterns in the Bignoniaceae and the Gesneriaceae. **Phytochemistry**, v. 6, p. 1643-1651, 1967.

ICMBio. **APA da Chapada do Araripe**. Disponível em:<  
<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/caatinga/unidades-de-conservacao-caatinga/2110-apa-da-chapada-do-araripe.html>>. Acesso em: 30 jan. 2016.

IBGE. **Normas de apresentação tabular**. 3. ed. Rio de Janeiro, 1993.

JOLY, A. B. **Botânica, Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Cia. Editora Nacional, 1998. 407p.

KANDASWAMI, C.; MIDDLETON, E.JR. Free radical scavenging and antioxidant activity of plants flavonoids. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 366, p. 351-376, 1994.

KING, A., YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v.99, n.2, p.213-218, 1999.

KIRMIZIBEKMEZ, H.; ARIBURNU, E.; MASULLO, M.; FESTA, M.; CAPASSO, A.; YESILADA, E.; PIACENTE, S. Iridoid, phenylethanoid and flavonoid glycosides from *Sideritis trojana*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 1, p. 130-136, 2012.

LABOURIAU, L.G.; VALADARES, M.B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 48, p.174-186, 1976.

LOIOLA, M.I.B.; ARAÚJO, F.S.; LIMA-VERDE, L.W.; SOUZA, S.S.G.; MATIAS, L.Q.; MENEZES, M.O.T.; NETO, R.L.S.; SILVA, M.A.P.; SOUZA, M.M.A.; MORAIS-MENDONÇA, A.C.A.; MACÊDO, M.S.; OLIVEIRA, S.F.; SOUSA, R.S.; BALCÁZAR, A.L.; CREPALDI, C.G.; CAMPOS, L.Z.O.; NASCIMENTO, L.G.S.; CAVALCANTI, M.C.B.T.; OLIVEIRA, R.D.; SILVA, T.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Flora da Chapada do Araripe. In: ALBUQUERQUE, U.P.; MEIADO, M.V. (Eds.) **Sociobiodiversidade na Chapada do Araripe**. 1 ed. Nupeea, Recife, 2015. Capítulo 6, p. 103-148.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1088p., 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, V.C. **Botânica Sistemática: guia ilustrado de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 3 ed. Nova Odessa: Plantarum, p. 574-581, 2012.

MABBERLEY, D. J. **The plant book: A portable dictionary of the vascular plants**. 2.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 858p., 1997.

MACIAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO J. M. G. Search for a standard phytotoxic biassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 48, n. 66, p. 2512-2521, 2000.

MACIAS, F.A.; VARELA, R.M.; TORRES, A.; OLIVA, R.M.; MOLINILLO, J.M.G. Bioactive norsesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potencial allelopathic activity. **Phytochemistry**, v. 48, n. 4, p. 631-636, 1998.

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

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUÍLA, M.E.A. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. **Revista Árvore**, v.30, n.4, p.547-555, 2006.

MARONI, B.C.; DI STASI, C.; MACHADO, S.R. **Plantas medicinais do cerrado de Botucatu**: guia ilustrado. 1 ed. SãoPaulo: Editora UNESP, 194p., 2006.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3.ed. Fortaleza, Editora UFC, 2009.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; Conteúdo de mirecetina, quercetina e kaempferol em chás comercializados no Brasil. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 26, n. 2, p. 380-385, 2006.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.2, p.231-238, 2003.

MEDEIROS, A.R.M.; CASTRO, L.A.S.; LUCCHESI, A.A. Efeitos alelopáticos de algumas leguminosas e gramíneas sobre a flora invasora. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v.47 (parte 1), p.1-10, 1990.

MMA. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **O Bioma Cerrado**. Disponível em:< <http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 21 out. 2014.

MOSTAFA, N.M.; EL-DAHSHAN, O.; SINGAB, A.N.B. *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers: A Botanical, Pharmacological and Phytochemical Review. **Medicinal & Aromatic Plants**, v.2, n.3, 2013.

NUNES, S. G. **Controle de plantas invasoras em pastagens cultivadas nos Cerrados**. 1 ed. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. 35p., 2001.

OLIVEIRA, M. S. D.; MIGUEL, M. D.; KALEGARI, M.; MIGUEL, O. G.; MOREIRA, T. F. Isolamento do verbacosídeo e validação de método analítico para padronização do extrato bruto das partes aéreas de *Buddleja stachyoides* Cham. & Schltld. (Scrophulariaceae). **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 344-348, 2014.

OLIVEIRA, A.K.M.; PEREIRA, K.C.L.; MULLER, J.A.I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 41-47, 2014.

PEREIRA, A.M.; HERNANDES, C.; PEREIRA, S.I.; BERTONI, B.W.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, P.S.; TALEB-CONTINI, S.H. Evaluation of anticandidal and antioxidant activities of phenolic compounds from *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers. **Chemico-biological interactions**, v. 224, p. 136-141, 2014.

PERIOTTO, F., PEREZ, S. C.; LIMA, M. I. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 425-430, 2004.

PIÑA-RODRIGUEZ, F. C. M.; LOPES, B. M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 130-136, 2001.

POLATTO, L.P.; DUTRA, J.C.S.; JUNIOR, V.V.A. Biologia reprodutiva de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae) e comportamento de forrageamento dos visitantes florais predominantes. **Revista de Biologia Neotropical**, v.4, n.1, p.46-57, 2007.

POOL, A. A review of the genus *Pyrostegia* (Bignoniaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.95, n.3, p.495-510, 2008.

POTT, A.; POTT, V. J. **Lista preliminar de plantas invasoras atuais e potenciais de pastagens do Centro Oeste**. [S. l.: s.n.]. 2000

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n. 5, p. 577-608, 1999.

REZENDE, C. P.; PINTO, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; SANTOS, I.P.A. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. **Boletim Agropecuário**, n. 54, p.1-55, 2003.

RICE, D. L. **Trace element chemistry of aging marine detritus derived from coastal macrophytes**. 1979. Ph.D. Dissertation. Georgia Institute of Technology, Atlanta, 1979.

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

RIVZI, S.J.H.; HAQUE, H.; SINGH, V.K.; RIVZI, V. A discipline called allelopathy. In: RIVZI, S.J.H.; RIVZI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman e Hall. 504p, 1992.

RIZZI, E.S.; PEREIRA, K.C.L.; ABREU, C.A.A.; SILVA, B.C.F.L.; FERNANDES, R.M.; OLIVEIRA, A.K.M.; MATIAS, R. Allelopathic potential and phytochemistry of Cambarazinho (*Vochysia haenkeana* (Spreng.) Mart.) leaves in the germination and development of lettuce and tomato. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 1, p. 98-107, 2016.

RODRIGUES, B. N.; PASSINI, T.; FERREIRA, A. G. 1999. Research on allelopathy in Brazil. In: Narwal, S. S. (Ed.). **Allelopathy Update**. Science Publishers, New Hampshire, p.307-323.

ROSSATTO, D. R.; KOLB, R. M. Germinação de *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), viabilidade de sementes e desenvolvimento pós-seminal. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n.1, p.51-60, 2010.

SAMPIETRO, D.A. Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importância. **Hipertextos del área de la biología**. Disponível em:<<http://www.biologia.edu.ar/plantas/alelopatia.html>>. Acesso em: 03 out. 2015.

SANTOS, G. **Wood Anatomy, Chloroplast DNA, and Flavonoids of the Tribe Bignoniaceae (Bignoniaceae)**. 1995. Tese. The University of Reading, Reading, Reino Unido, 1995.

SANTOS, M.D.; BLATT, C.T.T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.21, n. 2, 1998.

SANTOS, J.C.F.; SOUZA, I.F.; MENDES, A.N.G.; MORAIS, A.R.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; MARINHO, J.T.S. Influência alelopática das coberturas mortas de casca de café (*Coffea arabica* L) e casca de arroz (*Oryza sativa* L.) sobre o controle do Caruru-de-mancha (*Amaranthus viridis* L.) em lavoura de café. **Ciência Agrotécnica**, v.25, n.5, p. 1105-1118, 2001.

SANTOS, S., MORAES, M.L.L.; REZENDE, M.O.O.; SOUZA FILHO, A.P.S. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Eclética Química**, v. 36, n. 2, p. 51-68, 2011.

SARTOR, L.R.; ADAMIR, P.F.; NELSO, C.; MARTIM, T.N.; MARCHESI, J.A.; SOARES, A.B. Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. **Ciência Rural**, v.39, n.6, p.1653-1659, 2009.

SEIBERT, R. J. The use of glands in a taxonomic consideration of the family Bignoniaceae. **Annals Missouri Botanic Garden**, v. 35, p. 123-137, 1948. Disponível em:<[https://archive.org/details/cbarchive\\_51050\\_theuseofglandsinataxonomiccons1948](https://archive.org/details/cbarchive_51050_theuseofglandsinataxonomiccons1948)> Acesso em: 01 out. 2015.

SILVA, G.B.; MARTIM, L.; SILVA, C.L.; YOUNG, M.C.M.; LADEIRA, A.M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Hoehnea**, v.33, n. 3, p.331-338, 2006.

SILVA, M.G.; HEFLER, S. M.; PAULA, M. C. Z.; ZIMMERMANN, M. L. Estudo das interações entre insetos e *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae) em um remanescente de Floresta Estacional Semidecidual, no campus da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo, Brasil. **Estudos de Biologia ambiente e diversidade**, v. 30, p. 71-76, 2008.

SILVA, P.B.; MEDEIROS, A.C.M.; DUARTE, M.C.T.; RUIZ, A.L.T.G.; KOLB, R. M.; FREI, F.; SANTOS, C. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p.447-455, 2011.

SILVA, V.S.; CANDIDO, A.C.S.; MULLER, C.; LAURA, V.A.; FACCENDA, O.; SIMIONATTO, E.; HESS, S.C.; PERES, M.T.L.P. Potencial fitotóxico de *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. (Gleicheniaceae). **Acta Botanica Brasílica** v. 25, n.1, p. 95-104, 2011.

SOARES, G.L.G.; VIEIRA, T.R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, v.7, n.1, p.190-197, 2000.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia** – Princípios básicos e aspectos gerais. 1 ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 260 p., 2002.

SOUZA FILHO, A.P.S.; GUILHON, G.M.S.P.; ZOGHBI, M.G.B.; CUNHA, R.L. Análise comparativa do potencial alelopático do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de folhas de cipó-d'alho (Bignoniaceae). **Revista Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 647-653, 2009.

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

SOUZA, E.O.; MIRANDA, C.M.B.A.; NOBRE, C.A.B.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; COSTA, J.G.M. Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts. **Industrial Crops and Products**, v.70, p. 7-15, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. São Paulo, Editora Artmed, 2009.

TAVEIRA, L.K.P. D.; SILVA, M.A.P.; LOIOLA, M.I.B. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.35, n.3, p. 325-331, 2013.

TRÓPICOS. **Bignoniaceae Juss.** Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/42000305?tab=maps>>. Acesso em: 29 jul. 2015.

WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent Advances in Allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, v.1, sem paginação, 1999.

**ANEXOS**

ANEXO A – Documento emitido pelo Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima  
(HCDAL)



Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima  
Universidade Regional do Cariri - URCA

## NÚMERO DE HERBÁRIO

Remetente:	Nº 22.2015
<b>HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)</b> Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br) Universidade Regional do Cariri - URCA Departamento de Ciências Biológicas Rua: Cel. Antonio Luiz, 1161 Campus do Pimenta - Crato - CE CEP: 63.105-100	
Destinatário:	Data: 08.07.2015
<b>Mestrado em Bioprospecção Molecular</b> Contato: Natália Cavalcante da Costa Universidade Regional do Cariri	
Nº Amostras: 2	Tipo de Operação: Número de Herbário

Nº HCDAL	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01	Cipó-de-São-João	Bignoniaceae	<i>Pyrostegia venusta</i> (Ker Gawl.) Miers	Tiago Rodrigues Leite
02	Cipó-de-São-João	Bignoniaceae	<i>Pyrostegia venusta</i> (Ker Gawl.) Miers	Tiago Rodrigues Leite

  
 Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva  
 Curadora do HCDAL

## ANEXO B – Documento de autorização para atividades com finalidade científica em Unidade de Conservação Federal



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 46415-1	Data da Emissão: 22/10/2014 07:50	Data para Revalidação*: 21/11/2015
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: NATALIA CAVALCANTE DA COSTA	CPF: 035.771.093-27
Título do Projeto: ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO ACETATO-ETILÍCO DE <i>Pyrostegia venusta</i> (BIGNONIACEAE) SOBRE A GERMINAÇÃO, DESENVOLVIMENTO E O ÍNDICE MITÓTICO DE <i>Lactuca sativa</i> L. E <i>Allium cepa</i> L.	
Nome da Instituição : Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 06.740.864/0001-26

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de material botânica com finalidade científica para desenvolvimento de pesquisa acadêmica.	10/2014	05/2016

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Outras ressalvas

1	O titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
---	--

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		CE	FLORESTA NACIONAL DE ARARIPE-APODI	UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	<i>Pyrostegia venusta</i>

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 42197441**



Página 1/4

ANEXO C – Protocolo para realização da prospecção fitoquímica de acordo com Matos (2009)

---

**Prospecção de constituintes do extrato hidroalcoólico:**

**Preparação de extrato:**

Material: 300mg de extrato;

Solvente hidrofílico: 30mL de álcool (70%).

**- Operações preliminares**

Separe sete porções de 3mL em frasco numerados.

**- Teste de fenóis e taninos**

Tome frasco (1) e junto três gotas de solução alcoólica de FeCl<sub>3</sub>. Agite bem e observe qualquer variação de sua cor ou formação de precipitado abundante, escuro. Compare com um teste em branco, isto é, usando apenas água destilada e cloreto de férrico.

**Análise dos Resultados**

- Coloração variável entre azul e vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste “branco” for negativo.
- Precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolizáveis).
- Precipitado escuro de tonalidade verde indica presença de taninos flavabênicos (taninos condensados ou catéquicos).

**- Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides**

Tome os frascos de número 2, 3 e 4, acidule (HCl 1%) um deles a pH 3, alcalinize (NaOH 2,5%) outro a pH 8,5 e o terceiro a pH 11. Observe qualquer mudança da coloração do material.

Aparecimento de cores diversas indica a presença de vários constituintes, de acordo com a tabela seguinte:

Constituintes	Cor do meio		
	Ácido (pH 3)	Alcalino (pH 8,5)	Alcalino (pH 11)
Andocianina e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	–	–	Amarela
Chalconas e Auronas	Vermelha	–	Vermelha-púrpura
Flavononóis	–	–	Vermelha-laranja

**Obs.:** A presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa da presença de outro.

#### - Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas

Toma os fracos numerados 5 e 6, acidule o primeiro por adição de HCl até pH 1-3 e alcalinize o outro com NaOH até pH 11.

Aqueça-os com auxílio de uma lâmpada de álcool durante 2-3 minutos, cuidadosamente. Observe qualquer modificação na cor, por comparação com os tubos correspondentes usados no teste anterior.

Aquecimento ou intensificação de cor indica a presença de constituintes específicos na tabela seguinte:

Constituintes	Cor do meio	
	Acido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelha	–
Catequinas	Pardo-amarelada	–

Flavononas	–	Vermelha-laranja
------------	---	------------------

**Obs.:** A presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa da presença de outro.

#### **- Teste para alcalóides**

##### **Preparação do extrato:**

Material: 300mg de extrato etanólico bruto.

Solvente: 30mL de ácido acético 5%.

Aquecer essa solução até a fervura por alguns minutos. Transferir para um funil de separação. Em seguida, alcalinizar com  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% (10mL). Acompanhar o pH com auxílio de papel indicador. Adicionar clorofórmio (15mL), agita-se e deixar em repouso. Se houver a presença de alcalóides esses irão passar para a fase clorofórmica denominada “fração alcaloídica”. Coletar a fase clorofórmica com auxílio de um béquer. Fazer a evaporação do solvente, restando apenas um resíduo que deve conter alcalóide. Adiciona-se gotas de HCl 1% e homogeneizar a solução. Aplicar sobre uma lâmina de vidro uma gota da solução clorídrica obtida ao lado de 1 gota de reagente Dragendorff. Misturam-se as duas soluções.

##### **Análise dos Resultados**

- O aparecimento de precipitado é indicativo da presença de alcalóides.