



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
MESTRADO ACADÊMICO EM BIOPROPECÇÃO MOLECULAR

AMANDA OLIVEIRA ANDRADE

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Psychotria viridis* RUIZ & PAVÓN

CRATO, CE
FEVEREIRO DE 2015

AMANDA OLIVEIRA ANDRADE

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Psychotria viridis* RUIZ & PAVÓN

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

Área de concentração: Biodiversidade

Orientadora: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva

CRATO, CE
FEVEREIRO DE 2015

Andrade, Amanda Oliveira.

A553p Potencial alelopático de *Psychotria viridis* Ruiz & Pavón/

Amanda Oliveira Andrade – Crato, 2015

75p.; il.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri –
URCA. Área de concentração: Biodiversidade

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva

1. *Psychotria viridis*; 2. Alelopatia; 3. CLAE; 4. *Lactuca sativa*.

I. Título.

CDD: 581.1

AMANDA OLIVEIRA ANDRADE

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE *Psychotria viridis* RUIZ & PAVÓN

Dissertação apresentada e aprovada pela Banca em 20/02/2015

BANCA DE DEFESA

Prof.^a Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Universidade Regional do Cariri
Orientadora

Prof. Dr. Diniz Maciel de Sena Junior
Universidade Regional do Cariri
Avaliador Interno

Prof. Dr. Sebastião Medeiros Filho
Universidade Federal do Ceará
Avaliador Externo

Prof.^a Dra. Imeuda Peixoto Furtado
Universidade Regional do Cariri
Suplente

Dedico esse trabalho a minha família pelo incentivo, apoio e

inspiração.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** pelas inúmeras graças concedidas em minha vida;

Aos meus pais, **Cesar e Aparecida**, pois sem eles eu não existiria;

Ao meu companheiro **Alison**, pessoa especial e essencial na minha vida, uma vez que desde que o conheci tem sido uma fonte de inspiração para o meu desenvolvimento profissional, pelo seu apoio no meu dia-a-dia, orientações e cumplicidade. E a nossa filha **Serena**, fonte de amor e luz em nossas vidas;

À minha orientadora Dra. **Maria Arlene Pessoa da Silva**, pela oportunidade de crescimento que me foi dada desde o período de graduação como orientadora de Iniciação Científica, Monografia e agora no Mestrado;

A **CAPES** pelo financiamento dessa pesquisa;

Ao comitê de pesquisa do Centro Espirita Beneficente União do Vegetal-**CEBUDV**, pela concessão do material vegetal e autorização para realização da pesquisa;

Aos meus Irmãos: **Samanta, Samara, Júlio Cesar e Milena**, que me deram um imenso apoio cuidando da minha filha diariamente, para que eu pudesse desenvolver essa pesquisa;

À **Banca Examinadora** pelas contribuições para melhoria do trabalho;

Ao **Corpo Docente do Curso de Pós Graduação em Bioprospecção Molecular** por todas as contribuições que me proporcionaram para a minha formação como profissional;

À Equipe do **Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN – URCA)** pela colaboração nos ensaios fitoquímicos;

Ao **Laboratório de Pesquisas Fitoquímicas da Universidade Federal de Santa Maria**, pela realização das análises de HPLC;

Ao Professor **Luís Marivando Barros**, por levar os extratos à UFSM, para análise de HPLC;

À **Marcos Aurélio de Figueiredo** por me atender sempre que solicitado, me dando um imenso apoio nas estatísticas e gráficos;

A **Elizete, Isabella, Janete, Jeane, e Thales** pelo auxílio nos testes;

Aos meus colegas de Mestrado: **Helen, Rosa Carolina, Lilian, Elizete e Hemerson**, pela amizade e companheirismo;

À equipe do **Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL)** e **Laboratório de Botânica Aplicada (LBA)**, pela amizade, apoio e companheirismo.

Ao Sr. **Luiz** pelo cafezinho feito toda tarde, me fazendo escapar do sono. A **Sylvana, Marcos, Fernando e Leda** pela amizade;

A **Universidade Regional do Cariri**, em especial ao programa de Pós Graduação em Bioprospecção Molecular pela oportunidade concedida;

Aos meus **amigos** por todo carinho, motivação, companheirismo e amizade por estarem do meu lado dando força nos momentos bons e ruins;

E a **todos** que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Grata.

RESUMO

A alelopatia pode ser definida como um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, impedindo ou estimulando a germinação e o desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas. No presente trabalho objetivou-se avaliar o potencial alelopático do extrato das folhas de *Psychotria viridis* Ruiz & Pavon (chacrona) sobre a germinação e desenvolvimento de *Lactuca sativa* L, além de identificar e quantificar os compostos secundários. Os tratamentos constaram de quatro concentrações para o Extrato Bruto Aquoso (EBA) (25, 50, 75 e 100%), cinco concentrações para o Extrato Etanólico Bruto (EEB) e frações diclorometano, acetato de etila e metanol (6,25; 12,5; 25; 50 e 100%), mais um controle (0%) constando de água destilada. Os tratamentos foram dispostos em Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado, com cinco repetições de 20 sementes cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e de regressão polinomial. No estudo da regressão polinomial foi empregada a equação que melhor se ajustou aos dados. Foi medido o potencial osmótico do EBA e pH do EBA, EEB e das frações. O pH foi ajustado quando necessário. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação do tipo BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Foram avaliados, a porcentagem de germinação, o Índice de Velocidade de Germinação - IVG e o comprimento do caulículo e da radícula das plântulas. A análise estática dos dados foram submetidos à análise de variância e regressão pelo programa ASSISTAT 7.7 beta. A quantificação dos compostos químicos foi realizada através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A análise do potencial osmótico do EBA e do pH do EBA, EEB e das frações mostraram que estão de acordo com os padrões aceitáveis para a germinação, crescimento e desenvolvimento de plântulas, sendo descartada a possibilidade de interferência destes nos resultados. O EBA de *P. viridis*, sobre *L. sativa* estimulou a germinação e o comprimento do caulículo em baixas concentrações e inibiu em concentrações mais altas. Em relação ao IVG e ao comprimento da radícula. O EBA inibiu de modo proporcional ao aumento da concentração. Já o EEB estimulou o comprimento do caulículo nas concentrações 6,25; 50 e 100% e inibiu na concentração 12,5%, inibindo o comprimento da radícula em todas as concentrações testadas. A fração diclorometano causou inibição no IVG nas concentrações 6,25; 12,5; 25 e 100%, inibindo o comprimento do caulículo e da radícula em todas as concentrações testadas. A fração acetato de etila inibiu a germinação nas concentrações de 50 e 100%, estimulando na concentração a 6,25%, e inibiu o comprimento da radícula em todas as concentrações testadas. A fração metanólica inibiu a germinação de *L. sativa* nas concentrações 6,25, 12,5 e 50%, e inibiu o comprimento do caulículo e da radícula em todas as concentrações testadas. Foram identificados e quantificados no EEB e nas frações, ácido gálico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido elágico, catequina, orientina, vitexina, quercetina, apigenina, rutina, e luteolina. *Psychotria viridis* apresentou ação alelopática em todos os tipos de extrato e frações testados, com fitotoxidez maior promovida pelo EBA. Tal ação é atribuída à variedade de compostos fenólicos e flavonoides identificados para esta espécie.

Palavras-Chave: Chacrona. Alelopatia. CLAE. *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

Allelopathy can be defined as a process in which secondary metabolism products of a given plant are liberated, either impeding or stimulating the germination and development of other plants which are relatively near. This work aims to evaluate the allelopathic potential of the leaf extract of *Psychotria viridis* Ruiz & Pavon (chacrona) on the germination and development of *Lactuca sativa* L, in addition to identifying and quantifying the secondary compounds. The treatments consisted of four concentrations of the Brute Aqueous Extract (BAE) (25, 50, 75 and 100%), five concentrations of the brute hydroethanolic extract (BHE) and dichloromethane, ethyl acetate and methanol fractions (6,25; 12,5; 25; 50 and 100%), in addition to a control (0%) of distilled water. The treatments were applied in a totally randomized experiment design layout, with five replicates of 20 seeds each. The results were submitted to variance and polynomial regression analysis. In the study of polynomial regression the equation best suited to the data was used. The osmotic potential of the BAE and the pH of the BAE, BHE and fractions were measured. The pH was adjusted when necessary. The experiments were carried out in a BOD germination chamber at 25 °C with a photoperiod of 12 hours over seven days. The following were analyzed; germination percentage, Germination Speed Index – GSI, caulicle and radicle length of seedlings. The statistical analysis of the data was submitted to variance and regression analysis using the program ASSISTAT 7.7 beta. The quantification of chemical compounds was carried out using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The analysis of the osmotic potential of the BAE and the analysis of the pH of the BAE, BHE and fractions show that these are in accordance with acceptable levels for germination, growth and development, thus eliminating the possibility of their interference in the results. The BAE of *P. viridis* on *L. sativa* stimulated germination and caulicle length at low concentrations and inhibited at higher ones. Regarding GSI and radicle length, the BAE inhibited in a proportional manner according to increase in concentration. The BHE stimulated caulicle length at concentrations of 6.25, 50 and 100% and inhibited at 12.5%. It inhibited radicle length at all the concentrations tested. The dichloromethane fraction caused GSI inhibition at the concentrations of 6.25, 12.5, 25 and 100% and inhibited caulicle and radicle length at all the concentrations tested. The ethyl acetate inhibited germination at 50 and 100% concentrations, stimulated at 6.25% concentration and inhibited radicle length at all the concentrations tested. The methanol fraction inhibited the germination of *L. sativa* at the concentrations of 6.25, 12.5 and 50% and inhibited caulicle and radicle length at all the concentrations tested. The following were identified and quantified in the BHE and fractions: gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, ellagic acid, catechin, orientin, vitexin, quercetin, apigenin, rutin and luteolin. *Psychotria viridis* showed allelopathic effect in all the extract types and fractions tested, with greatest phytotoxicity caused by the BAE. Such action is attributed to the variety of phenolic compounds and flavonoids identified in this species.

Key words: Chacrona. Allelopathy. HPLC. *Lactuca sativa*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Comparação entre o numero de espécies nas família: A: Asteraceae: 21.000 spp.; B: Orchidaceae: 17.500 spp.; C: Leguminosaceae: 16.500 spp.; D: Rubiaceae: 13.000 spp.; E: Graminaceae: 8.000 spp.; F: Mammalia: 5.000 spp..... 18
- Figura 2: Distribuição geográfica de *Psychotria viridis*. 22
- Figura 3: Aspecto geral de *Psychotria. viridis*, Sítio Santa Fé, Município do Crato-Ceará, 2014..... 23
- Figura 4: Detalhe de *Psychotria. viridis* em área de cultivo A: Estipulas interpeciolares; B: Inflorescência; C: Filotaxia; D: Domáceas. Sítio Santa Fé, Município de Crato, Ceara 2014. 24
- Figura 5: Exsicata de *Psychotria. viridis* depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) da Universidade Regional do Cariri (2014).35
- Figura 6: Porcentagem de germinação de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria. viridis*. 41
- Figura 7: Índice de Velocidade de Germinação das sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria. Viridis* nas diversas concentrações. 42
- Figura 8: Comprimento médio dos caulículos de *Lactuca sativa* sobre o efeito do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria..viridis* nas diferentes concentrações. 43
- Figura 9: Comprimento médio das radículas *Lactuca sativa* sobre o efeito do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria. viridis* nas diferentes concentrações. 44
- Figura 10: Germinação de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração acetato de etila..... 47
- Figura 11: Índice de Velocidade de Germinação (IVG), de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração diclorometano de *Psychotria.viridis*. 48

Figura 12: Comprimento do caulículo de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de <i>Psychotria. viridis</i>	49
Figura 13: Comprimento do caulículo de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações da fração diclorometano de <i>Psychotria.viridis</i>	50
Figura 14: Comprimento do caulículo de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações da fração Metanólica de <i>Psychotria viridis</i> ..	51
Figura 15: Comprimento da radícula de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de <i>Psychotria viridis</i>	52
Figura 16: Comprimento da radícula de plântulas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações da fração acetato de étila de <i>Psychotria viridis</i>	52
Figura 17: Compostos fenólicos e flavonoides presente no extrato aquoso das folhas de <i>Psychotria viridis</i> . Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), rutina (pico 5) quercetina (pico 6).....	57
Figura 18: Compostos fenólicos e flavonoides presente no Extrato Etanólico das folhas de <i>Psychotria viridis</i> . Ácido gálico (pico 1), ácido clorogênico (pico 2), ácido caféico (pico 3), orientina (pico 4), vitexina (pico 5), quercetina (pico 6) e apigenina (pico 7).	58
Figura 19: Compostos fenólicos e flavonoides presente na fração diclorometano das folhas de <i>Psychotria viridis</i> . Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), ácido elágico (pico 5), a rutina (pico 6), quercetina (pico 7), luteolina (pico 8) e apigenina (pico 9).	60
Figura 20: Compostos fenólicos e flavonoides presente na fração acetato de étila das folhas de <i>Psychotria. viridis</i> . Ácido gálico (pico 1), catequina (pico2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico4), ácido elágico (pico 5), a rutina (pico 6), quercetina (pico 7), luteolina (pico 8) e apigenina (pico 9).	60

Figura 21: Compostos fenólicos e flavonoides presente na fração metanólica das folhas de *Psychotria viridis*. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), ácido elágico (pico 5), a rutina (pico 6), quercetina (pico 7), luteolina (pico 8) e apigenina (pico 9). 61

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Médias \pm Desvio Padrão da germinação, IVG, comprimento dos caulículos e radículas de alface submetidas ao EBA de <i>Psychotria viridis</i>	45
Tabela 2: Características físico-químicas do Extrato Aquoso Bruto das folhas de <i>Psychotria viridis</i>	45
Tabela 3: Médias \pm Desvio Padrão da germinação, IVG, comprimento dos caulículos e radículas de <i>Lactuca sativa</i> submetidas ao EEB e as frações diclorometano, acetato de étila e metanólica, de <i>Psychotria viridis</i>	54
Tabela 4: Valores do pH para as concentrações dos extratos etanólico e frações das folhas frescas de <i>Psychotria viridis</i>	55
Tabela 5: Tabela 5: Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides presente no extrato aquoso das folhas de <i>Psychotria viridis</i>	56
Tabela 6: Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides presente no extrato aquoso das folhas de <i>Psychotria viridis</i>	58
Tabela 7: Quantificação de compostos fenólicos e flavonóides das frações diclorometano, acetato de étila e metanólica das folhas de <i>Psychotria viridis</i>	59

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1. Família Rubiaceae	18
2.2. Gênero <i>Psychotria</i>	20
2.3. <i>Psychotria viridis</i> Ruiz & Pavón	21
2.4. Histórico da alelopatia	25
2.5. Um fenômeno designado alelopatia.....	26
2.6. Metabólitos secundários	27
2.7. Aleloquímicos.....	29
2.8. Bioensaios.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1. Coleta e Identificação do Material Botânico	33
3.2. Preparação dos Extratos	34
3.2.1. Extrato Aquoso Bruto.....	34
3.2.2. Extrato Etanólico Bruto.....	36
3.2.3. Frações.....	36
3.3. Bioensaios.....	36
3.4. Variáveis Avaliadas	38
3.4.1. Germinação e índice de velocidade de germinação	38
3.4.2. Biometria do caulículo e radícula.....	38
3.4.3. Características físico-químicas do extrato.....	39
3.5. Análises Estatísticas	39
3.6. Quantificação Química por HPLC	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1. Extrato Aquoso.....	40
4.1.1. Germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG).....	41
4.1.2. Biometria do caulículo e da radícula	43
4.1.3. Osmolaridade e pH	45
4.2. Extrato Etanólico e Frações.....	46
4.2.1. Germinação e IVG.....	46
4.2.2. Biometria do caulículo e radícula.....	48

4.2.3.pH	55
4.2.4. Quantificação de Compostos por CLAE	56
5. CONCLUSÕES	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Psychotria* possui cerca de 1.600 espécies distribuídas em regiões tropicais ofertando recursos à fauna tais como néctar e frutos. Está representado no território brasileiro por 252 espécies, muitas delas ocorrendo em áreas de Mata Atlântica (TAYLOR et al., 2014; MORELLATO, 1992). *Psychotria viridis* Ruiz & Pavón (Rubiaceae) denominada de rainha ou chacrona, ocorre espontaneamente na Floresta Amazônica (TAYLOR, 2014), México, Antilhas, Bolívia, Argentina e Sudeste do Brasil, sendo também cultivada em várias regiões do mundo, com fins religiosos (TAYLOR, 2007). *P. viridis* e *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton (Malpighiaceae) compõem a “ayahuasca”, também conhecida por daime, caapi, yajé, hoasca e vegetal, bebida utilizada em rituais religiosos (SCHULTES; HOFMANN, 1993; PÉPIN; DUFFORT, 2004).

Determinadas espécies vegetais possuem substâncias químicas que, quando liberadas no meio, interferem de forma positiva ou negativa no desenvolvimento de outras plantas. Este processo é chamado de alelopatia. Os compostos aleloquímicos agem inibindo a germinação das sementes e/ou interferindo no desenvolvimento das plântulas que germinam ou crescem próximas do vegetal que liberam os metabólitos; porém, algumas vezes, um composto que é tóxico para uma espécie pode não ser para outra (RICE, 1984; FERREIRA; BORGHETTI, 2004; FUJII; HIRADATE, 2007).

Desta maneira, estes efeitos são capazes de influenciar ecossistemas, naturais ou manejados, como os sistemas agrícolas. Comunidades, dominância e sucessão vegetais, tanto quanto manejo e produtividade de culturas, são afetados pelos efeitos alelopáticos de certas espécies, que utilizam este mecanismo de defesa para sua sobrevivência e estabelecimento nos diversos ambientes (CHOU, 1986).

Os efeitos alelopáticos causados nas plantas são mediados por substâncias pertencentes a vários compostos secundários como alcalóides, cumarinas e fenóis, podendo ser liberados por volatilização, lixiviação da parte aérea ou da matéria em decomposição no solo e também por exsudação das raízes (MACIAS et al., 2003; FUJII; HIRADATE, 2007).

Diante da variedade da atuação dos compostos secundários, principalmente na ação alelopática, Bagchi, Jain e Cimap (1997) consideraram os aleloquímicos como um recurso para o desenvolvimento de herbicidas naturais a ser utilizado na

agricultura orgânica, como forma de minimizar os impactos ambientais causados pelos herbicidas comerciais ou como um estimulante para o crescimento de plantas. Dentro deste contexto, no presente trabalho, objetivou-se determinar a atividade alelopática dos extratos foliares de *P. viridis* sobre a germinação e o desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. além da caracterização dos seus metabólitos secundários.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Rubiaceae

Rubiaceae Juss. foi descrita inicialmente por Atoine Laurent de Jussieu, em 1789, e tem seu nome derivado do gênero *Rubia* L. do latim *rubium*, em alusão à tinta vermelha, utilizadas para tingir tecido, produzida pelas raízes de espécies deste gênero (CRONQUIST, 1981). É uma das maiores famílias entre as eudicotiledôneas com distribuição cosmopolita, abrange cerca de 13.100 espécies e 611 gêneros estando subdividida em três subfamílias Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae (GOVAERTS et al., 2007). Ocupa o quarto lugar em diversidade entre as angiospermas, sendo superada somente por Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae, como mostra a Figura 1 (MABBERLEY, 1997).

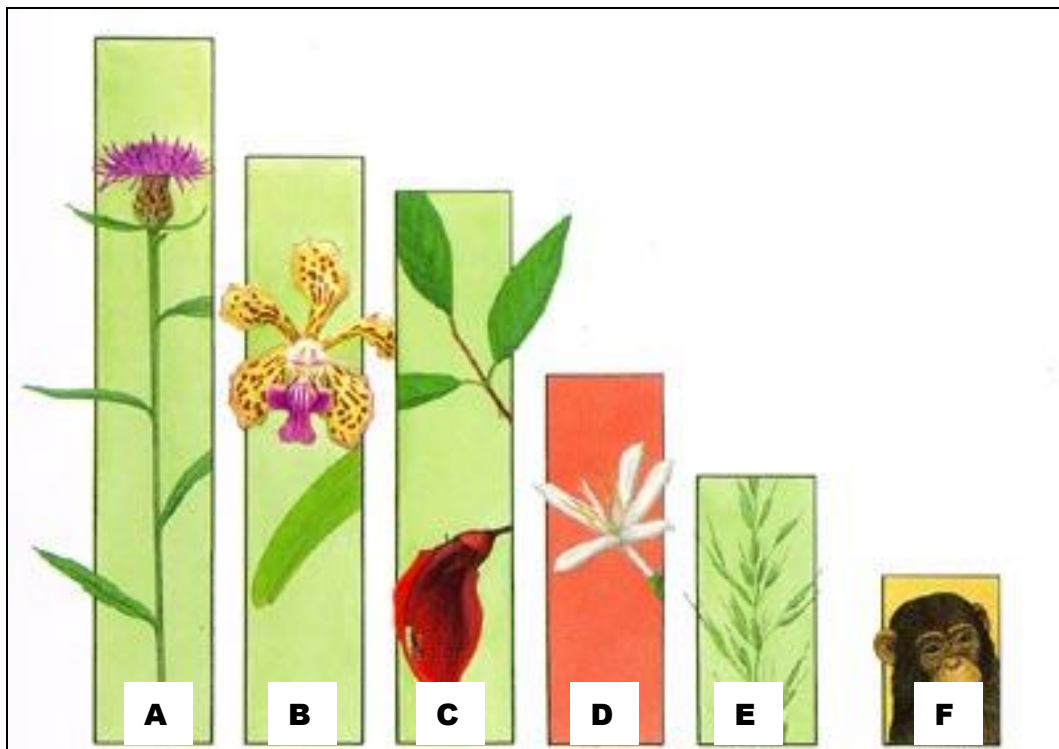


Figura 1: Comparação entre o número de espécies nas família: A: Asteraceae: 21.000 spp.; B: Orchidaceae: 17.500 spp.; C: Fabaceae (Leguminosae): 16.500 spp.; D: Rubiaceae: 13.000 spp.; E: Poaceae (Graminae): 8.000 spp.; F: Mammalia: 5.000 spp.

Fonte: ROBBRECHT, 2014.

As espécies de Rubiaceae estão largamente distribuídas nos diversos ecossistemas brasileiros (Florestas Amazônica, Atlântica e no Cerrado) (BOLZANI et al., 2001). Na América do Sul, encontra-se 30% do total das espécies da família, o que supera em número de espécies todas as regiões da Terra. No Brasil, são encontrados aproximadamente 125 gêneros e 1.401 espécies (BARBOSA et al., 2014).

Suas espécies apresentam hábitos variados (ervas subarbustos, árvores e lianas); possuem folhas opostas, menos frequentemente verticiladas, simples, quase sempre com estípulas interpeciolares ocasionalmente transformadas em espinhos ou semelhantes às folhas, margem inteira; inflorescência geralmente cimosa, às vezes formando glomérulo ou reduzida a uma única flor; flores vistosas bissexuadas ou menos frequentemente unissexuadas, actinomorfas geralmente diclamídeas, cálice geralmente dialissépalo, às vezes com uma das sépalas muito desenvolvida, prefloração valvar ou imbricada, estames em número igual ao das pétalas, epipétalos, anteras rimosas, disco nectarífero presente ou não e ovário geralmente ínfero; frutos dos tipos cápsula, esquizocarpo, drupa ou baya (SOUZA; LORENZI, 2008).

As espécies de Rubiaceae são importantes componentes de sub-bosques de florestas neotropicais, onde existe alta diversidade de sistemas reprodutivos e de tipos de polinização (VIEIRA; PEREIRA; CARVALHO-OKANO, 2006). Várias de suas espécies são fontes de recursos para animais que se alimentam de pólen, néctar e frutos (POULI et al., 1999; CASTRO; OLIVEIRA, 2002; LOPES, 2002; MELO; BENTO; OLIVEIRA, 2003), sendo componentes importantes para o funcionamento destas florestas. No Brasil, é uma das mais bem representadas em levantamentos florísticos e fitossociológicos de várias formações vegetacionais, principalmente quando são incluídos indivíduos arbustivos e subarbustivos na amostragem (SALIS; ZICKEL; TAMASHIRO, 1996).

Espécies dessa família apresentam grande importância econômica, sendo exploradas como alimentícias (*Coffea arabica* L. e *Genipa americana* L.), ornamentais (*Ixora* spp., *Mussaenda* spp., *Gardenia* spp., dentre outras), e medicinais (*Chinchona pubescens* Vahl, empregada no tratamento da malária) (COELHO; AGRA; BARBOSA, 2006). Certas espécies de Rubiaceae também provocam danos ao setor agropecuário brasileiro, incluindo espécies daninhas de *Borreria*, *Richardia* e *Diodia* conhecidas popularmente como poias e, espécies causadoras de intoxicação

ao gado, principalmente pertencentes aos gêneros *Palicourea* e *Psychotria* (SOUZA; LORENZI, 2008).

As espécies de Rubiaceae apresentam grande diversidade de metabólitos secundários, elaborados a partir da síntese de metabólitos primários tais como: carboidratos, aminoácidos e lipídeos (DOURADO, 2006), elencados por Gottlieb, Kaplan, Borin (1996) como metabólitos especiais tais como alcaloides indólicos, taninos, triterpenos, saponinas, esteroides e flavonoides (CRONQUIST, 1981; CARDOSO et al., 2008; ADOLPHO et al., 2006; PINTO et al., 2008).

2.2. Gênero *Psychotria*

Psychotria foi descrito por Linneaus em 1759, como um dos maiores gêneros de plantas com flores, taxonomicamente complexo devido à dificuldade de delimitações de suas fronteiras (FARIA, 2009; LOPES et al., 2004; FARIAS, 2006). Este gênero é comumente representado por arbustos, arvoretas, ervas e raramente por epífitas. De distribuição pantropical e subtropical é encontrado nos dois hemisférios. É um dos gêneros mais representativos nos sub-bosques de florestas tropicais (BURGER; TAYLOR, 1993; TAYLOR, 1996), o que leva a muitas espécies de *Psychotria* entre outros elementos de Rubiaceae serem utilizadas na avaliação do estado de conservação de ambientes tropicais (DELPRETE, 2004).

Psychotria abrange cerca de 1.600 espécies distribuídas em regiões tropicais representando rica fonte de néctar e frutos para a fauna, apresentando flores pequenas polinizadas por abelhas, moscas e mariposas (HAMILTON, 1990). Está representado no território brasileiro por 252 espécies muitas delas ocorrendo em áreas de Mata Atlântica e Amazônia (TAYLOR; GOMES; ZAPPI, 2014).

Este gênero é amplamente empregado na medicina popular no tratamento de diversas doenças (ADJIBADÉ, 1989), sendo atribuídas às espécies integrantes do mesmo, inúmeras atividades farmacológicas descritas na literatura, dentre as quais se destaca a ação sobre o sistema nervoso central (FARIAS, 2006). Investigações fitoquímicas do gênero levaram a identificação de vários alcalóides com ampla variedade de atividades farmacológicas tais como analgésicas, antidepressivas e anti-inflamatórias (AMADOR et al., 2001; LEAL; ELISABETSKY, 1996).

No Brasil, o interesse etnobotânico neste gênero, foi motivado principalmente pelo uso de espécies de *Psychotria*, junto com o decocto de *Banisteriopsis caapi*, na preparação da “ayahuasca”, uma bebida utilizada para fins religiosos, medicinais e sociais pelos caboclos da Amazônia (MCKENNA; TORRES; ABBOTT, 1984; LIWIAZYC, 1992). O alcalóide N, N - dimetiltryptamina isolado de *Psychotria viridis* apresenta semelhança estrutural com a serotonina, o que o torna uma droga potente no tratamento de distúrbios do sistema nervoso central (SÉRPICO; CAMURÇA, 2006).

Além da presença de alcalóides e outras substâncias bioativas em espécies de *Psychotria*, pesquisadores do Instituto Nacional do Câncer (NCI) apontaram os gêneros *Palicourea* e *Psychotria* como “hot” (quente), referindo-se ao potencial citotóxico de seus extratos e frações (CRAAG; NEWMAN; YANG, 2006).

2.3. *Psychotria viridis* Ruiz & Pavón

Psychotria viridis conhecida popularmente por chacrona ou rainha é um arbusto nativo, não endêmico do Brasil, encontrado nos domínios fitogeográficos da Amazônia e Mata Atlântica (Figura 2), com distribuição geográfica na região Norte (Acre e Amazonas) e na região Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) (TAYLOR, GOMES; ZAPPI, 2014). É utilizada e cultivada em diferentes regiões do Brasil e do mundo, por ser constituinte de uma bebida ritualística e medicinal, a “ayahuasca” (QUINTEIRO et al., 2006).

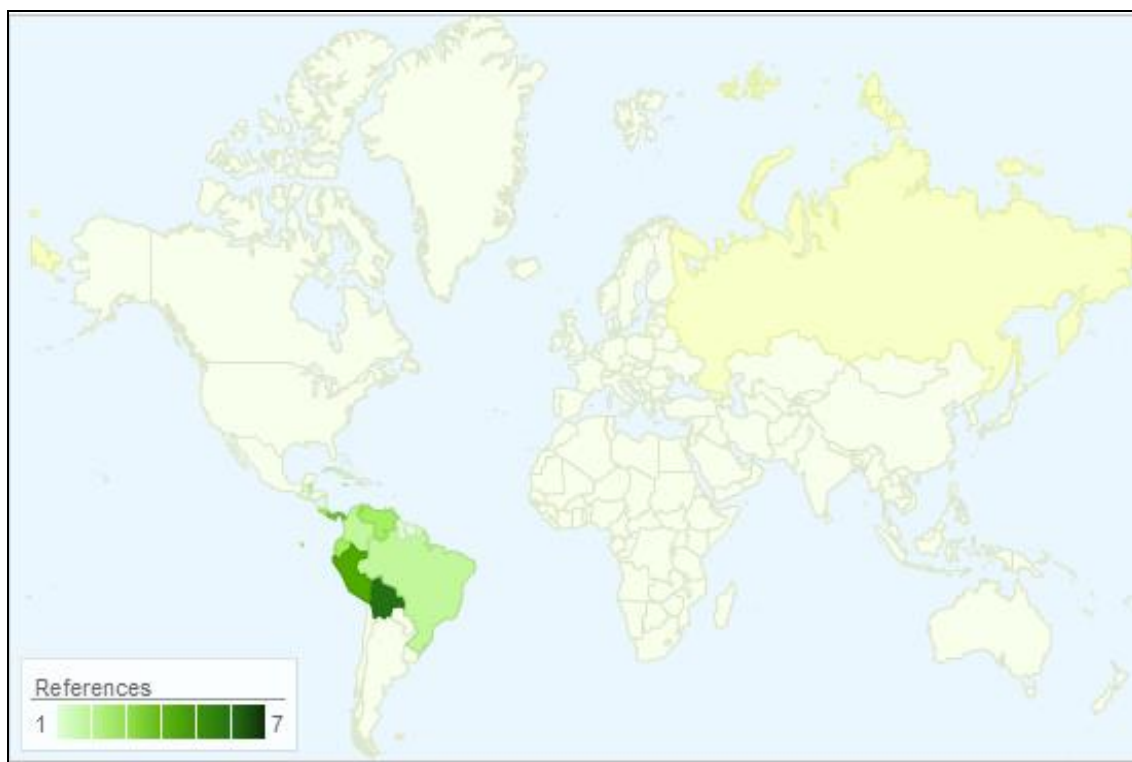


Figura 2: Distribuição geográfica de *Psychotria viridis*.

Fonte: Trópicos, 2014.

Psychotria viridis foi descrita por Ruiz & Pavón em 1779 (ARANHA; TRAVANI; CORREA, 1991). É um arbusto com cerca de 2 m de altura (Figura 3). Ramos cilíndrico, glabros. Folhas simples, opostas, glabras, penínérveas, elípticas, bordo inteiro, ápice cuspidado, base acunhada (Figura 4); com domáceas; nervura central proeminente, sete pares de nervuras secundárias; lâmina 2,3-4,5 x 6,2-11,5 cm, pecíolo 1,7 cm comprimento, estípulas 1 mm de comprimento, persistentes. Inflorescência paniculadas terminais; corola branca, 2 mm comprimento. Ovário bilocular, uniovulado. Fruto do tipo baga de cor vermelho-alaranjado na maturação (MENDONÇA, 2012).

Segundo Corrêa (2011) *P. viridis* apresenta crescimento de até 3 metros de altura em regiões extra-amazônicas, podendo atingir até 5 metros de altura em seu habitat natural. Através do tecido meristemático presente especialmente nas adjacências das domáceas na folha ocorre reprodução vegetativa com o desenvolvimento de raízes adventícias e formação de uma nova planta.



Figura 3: Aspecto geral de *Psychotria viridis*, Sítio Santa Fé, Município do Crato–Ceará, 2014.

Fonte: Oliveira, A.H. (2014)

Sob a ótica botânica, pouco ou quase nada foi publicado a respeito da ocorrência natural, centro de dispersão, comportamento da espécie, processos de domesticação e cultivo, variabilidade genética, conservação de germoplasma, cruzamento e hibridização natural de *P. viridis* e outras espécies do gênero (CORRÊA, 2011).

Uma vasta literatura no campo da antropologia, medicina e farmacologia, relatam o uso da ayahuasca e sua ação neurofisiológica. Porém, informações botânicas específicas sobre *P. viridis*, são escassas. Diante da importância religiosa e farmacológica desta espécie se se faz necessário um maior conhecimento dos aspectos biológicos, ecológicos e farmacológicos tais como: identificação dos

agentes polinizadores, formas de propagação, dispersão das sementes e sua relação com os outros indivíduos (ação alelopática), para que assim, seja possível um manejo adequado da referida espécie, diminuindo os riscos de impactos ambientais e danos à variabilidade da espécie (SÉRPICO; CAMURÇA, 2006).

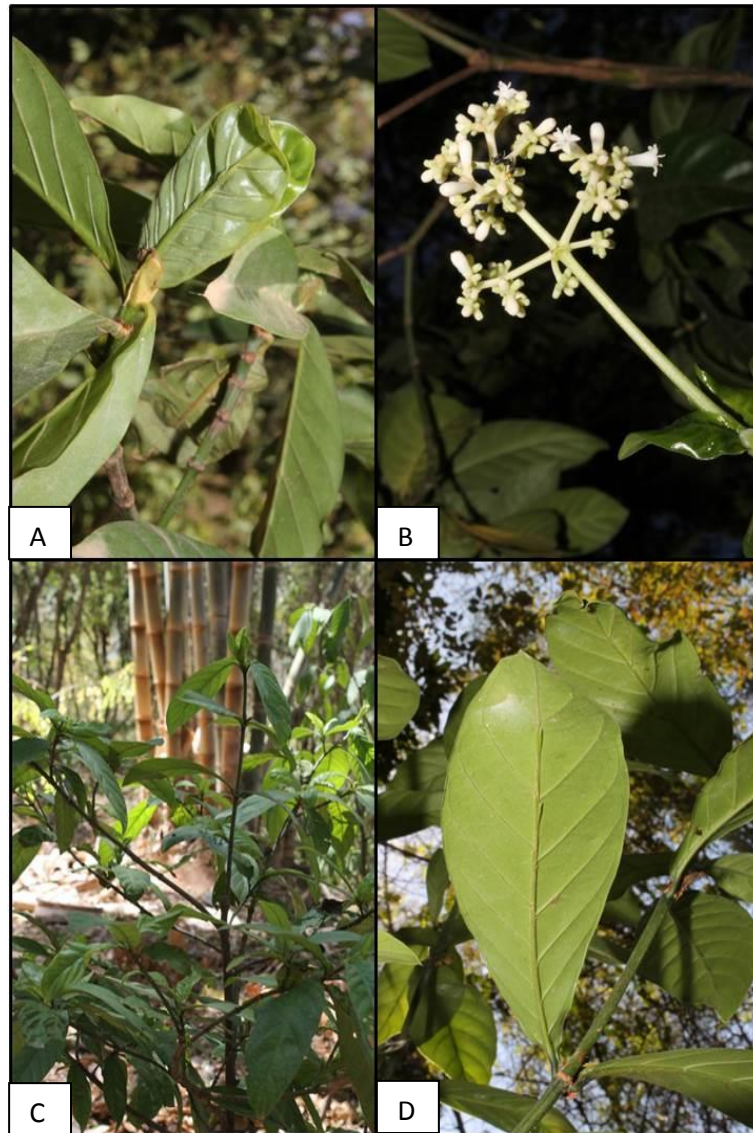


Figura 4: Detalhe de *Psychotria. viridis* em área de cultivo A: Estipulas interpeciolares; B: Inflorescência; C: Filotaxia; D: Domáceas. Sítio Santa Fé, Município de Crato, Ceará 2014.

Fonte: Oliveira, A.H. (2014)

2.4. Histórico da alelopatia

Observações da ação alelopática de uma planta sobre outra tem sido feitas desde tempos longínquos a exemplo de: Teofasto, 300 a.C, sobre o cultivo de *Cicer arietinum* L. (grão de bico); Plínio 1 d.C., sobre *Hordeum vulgare* L. (cevada) e *Trigonella foenum-graecum* L. (feno grego) (WEIR et al., 2004). Entretanto os primeiros experimentos científicos envolvendo interações alelopáticas somente foram realizados na segunda metade do século XIX, com o reconhecimento da alelopatia quanto fenômeno ecológico ocorrendo a partir de 1970 (RICE, 1984).

Apesar da descrença de alguns em relação à importância desse fenômeno em ambientes naturais, devido principalmente à maioria dos experimentos serem feitos em laboratório (REIGOSA; SÁNCHEZ-MOREIRAS; GONZÁLEZ, 1999), inúmeras pesquisas comprovam a influência das interações alelopáticas em comunidades vegetais (PELLISSIER; SOUTO, 1999; CALLAWAY; ASCHEHOUG, 2000; OUDEN, 2000).

O termo alelopatia foi criado em 1937, pelo pesquisador alemão Hans Molisch, com a reunião das palavras gregas *allelon* (mútuo) e *pathos* (prejuízo), referindo-se à capacidade que as plantas e microrganismos têm de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento, seja de forma positiva ou negativa (RICE, 1984). Posteriormente, Putnan e Duke (1978) definiram a alelopatia como efeitos apenas prejudiciais de espécies vegetais (doadoras) na germinação, no crescimento ou no desenvolvimento de outras espécies vegetais (receptoras).

Elroy L. Rice um dos mais importantes estudiosos do assunto, na primeira versão de “Allelopathy” em 1974, delimitou o conceito apenas as influências negativas. Porém, em 1984, na segunda edição desse livro, Rice ampliou a definição, passando a concordar com Molish. De fato, muitos trabalhos demonstraram que a variação e concentração de compostos orgânicos podem causar tanto estímulo como inibição a processos fisiológicos nos organismos vegetais (JEFFERSON; PENNACCHIO, 2003; GATTI; PEREZ; LIMA, 2004; KIM; JOHNSON; LEE, 2005).

A Sociedade Internacional de Alelopatia (IAS) tornou mais abrangente à definição deste fenômeno conceituando-o como uma ciência que estuda qualquer

processo envolvendo, principalmente, metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento de sistemas biológicos com efeitos positivos e negativos (PINTO et al., 2002).

2.5. Um fenômeno designado alelopatia

Nas comunidades vegetais, as plantas podem interagir de maneira positiva, negativa ou neutra. É mais comum que plantas vizinhas interajam de maneira negativa, de modo que a emergência e, ou, o crescimento sejam inibidos (PIRES et al., 2001). Muller (1969) denominou de interferência as interações que se desencadeiam entre organismos vizinhos. Entretanto, por ser um termo muito amplo envolvendo vários mecanismos, Szczepanski (1977) o dividiu em três tipos: alelospolia ou competição (interferência causada pela retirada de um ou mais fatores de crescimento); alelomeiação ou interferência indireta (alterações provocadas por organismos no ambiente físico ou biológico) e alelopatia (interferência provocada por substâncias químicas, produzidas e liberadas por organismos que, no ambiente, afetam os outros componentes da comunidade).

Miller (1996) classifica o efeito alelopático em dois tipos: autotoxicidade (mecanismo intraespecífico de alelopatia que ocorre quando uma espécie de planta libera determinada substância química que retarda a germinação ou o desenvolvimento de plantas da própria espécie) e heterotoxicidade (efeito fitotóxico de uma substância liberada por determinada planta afetando a germinação e o crescimento de plantas de outra espécie).

A alelopatia é um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, impedindo ou estimulando a germinação e o desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas, através da liberação de substâncias pelas partes aéreas, subterrâneas ou pela decomposição do material vegetal (RICE, 1984; FERREIRA; BORGHETTI, 2004; FUJII; HIRADATE, 2007; LORENZI, 2000). É um fenômeno frequente em comunidades de plantas nativas ou cultivadas considerado como mecanismo importante de variações na dinâmica da população, sendo responsável por alterações expressivas na densidade, na diversidade e no desempenho das espécies, implicando em alterações na dinâmica dos agrossistemas (KHANH, 2005).

O efeito alelopático pode levar a uma vantagem seletiva para o doador sendo um mecanismo de defesa desenvolvido ao longo do processo evolutivo proporcionando uma maior adaptação evolutiva, o que leva também a diminuição ou eliminação da competição por recursos (OLIVEIRA et al., 2014; CHOU, 1999; CHOU, 2006). Muitas substâncias apontadas como alelopáticas estão também relacionadas às funções de proteção ou defesa das plantas contra o ataque de microrganismos e insetos (MEDEIROS, 1990; FERREIRA; AQUILA, 2000). Para Almeida (1993), constitui uma forma de comunicação, permitindo que as plantas reconheçam os organismos prejudiciais, benéficos ou, até mesmo, indiferentes as mesmas.

Frequentemente a alelopatia é confundida com o processo de competição, contudo, são fenômenos totalmente distintos uma vez que a competição reduz ou remove do ambiente um fator de crescimento necessário a ambas as plantas (luz, água, nutrientes e outros) enquanto a alelopatia, ocorre pela adição de um fator ao meio, produtos do metabolismo secundário (SOUZA; VELINI; MAIOMONI-RODELLA, 2003). Deve ser enfatizado que sua ação é eficaz se a liberação for contínua por permitir que os efeitos persistam até as culturas subsequentes (RODRIGUES; PASSINI; FERREIRA, 1999).

Estudos envolvendo alelopatia, uma subárea da ecologia química, vêm sendo desenvolvidos na tentativa de determinar novas substâncias, que causem algum tipo de efeito benéfico ou deletério sobre o desenvolvimento de outras plantas ou microrganismos, visando minimizar o impacto ambiental provocado pelos herbicidas sintéticos usados nas culturas (BELZ; HURLE, 2004; QIMING et al., 2006).

2.6. Metabólitos secundários

Os compostos produzidos por espécies vegetais constam de produtos originários do metabolismo primário e produtos originários do metabolismo secundário. Entre os metabólitos primários, enquadram-se as moléculas essenciais para o desenvolvimento das plantas, e que estão presentes em todas as células. Os produtos originários do metabolismo secundário, incluindo-se os compostos alelopáticos, por sua vez, não estão envolvidos em processos imprescindíveis ao

metabolismo vegetal e normalmente apresentam produção restrita a algumas partes do corpo da planta (HARBONE, 1997; RAVEN, 2010).

Uma vez que os vegetais são sésseis, necessitam de substâncias que possam protegê-los das agressões que possam sofrer. Os metabólitos secundários podem proteger a planta contra a herbivoria e infecção por patógenos e atrair polinizadores e dispersores, além de atuarem na competição planta-planta e na simbiose planta-microrganismo por meio da alelopatia (LARCHER, 2004; OLIVEIRA-BASTIDAS, 2008; TAIZ; ZEIGER, 2009; RAVEN et al., 2010).

Os metabólitos exercem ainda a função de reconhecimento, defesa ou inibição de outras substâncias tóxicas (LARCHER, 2004), sua produção, acúmulo e liberação no ambiente, pode ser influenciada por fatores abióticos (GLOBO-NETO; LOPES, 2007) como radiação solar (THARAYIL; TRIEBWASSER, 2010), temperatura, intensidade luminosa, radiação ultravioleta, textura do solo disponibilidade de água e nutrientes. E por fatores bióticos como microrganismos, ataque de insetos (CHOU, 1986; EINHELLIG 1996; BLANCO, 2007) e idade da planta (LARCHER, 2004).

Entre os compostos secundários que atuam como aleloquímicos, estão os fenóis, terpenóides, alcalóides, ácidos graxos e esteróides. Destes grupos os mais importantes são os terpenóides, fenóis, e compostos nitrogenados (INDERJIT, 1996)

Os terpenos são a maior classe de metabólitos secundários existentes nas plantas. São na maioria apolares e insolúveis em água. Alguns terpenos têm papel importante no desenvolvimento vegetativo das plantas podendo ser considerados metabólitos primários. Exemplos destes terpenos são as giberilinas, os esteroides de membrana celular, os carotenoides e o ácido abscísico. Como metabólito secundário, os terpenos podem ter ação alelopática (DUKE; OLIVA, 2004), inseticida e repelente contra insetos (VIEGAS-JUNIOR, 2003) e também atuar contra infecções de patógenos (YANG et al., 2006).

Entre os compostos fenólicos mais importantes estão os derivados do ácido benzoico, ácido caféico e outros fenilpropanóides simples, cumarinas, ligninas, taninos e flavonóides (LARCHER 2004). Os derivados do ácido benzóico, ácido caféico, fenilpropanóides simples e cumarinas, estão relacionados à atividade fitotóxica (EINHELLIG, 2004). Os taninos hidrolisáveis ou condensados podem ter ação alelopática ou ainda inseticida e repelente, formando complexos protéicos difíceis de serem digeridos por herbívoros (TAIZ; ZEIGER, 2009). Os flavonoides

são categorizados em antocianinas (pigmentos), flavonas ou flavonóis e isoflavonas. As flavonas ou flavonóis, geralmente absorvem luz em comprimento de onda na região do UV podendo funcionar como atrativos aos polinizadores e protetores de tecidos contra o excesso de radiação (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008). As flavonas ou flavonóis são descritos ainda como alelopáticos mediadores da interação planta-bactérias simbiotes, e do desenvolvimento de vegetais competidores. As isoflavonas são descritas como inseticidas (EINHELLIG, 2004).

Os compostos nitrogenados de metabolismo secundários são os alcalóides, os glicosídeos cianogênicos, os glucosinolatos e os aminoácidos não proteicos (TAIZ; ZEIGER, 2009). Os alcalóides bastante comuns nos vegetais são alcalinos e solúveis em água. Muitos apresentam ação contra herbívoros pelo sabor amargo, são fármacos importantes ou podem ser aleloquímicos. Os glicosídeos cianogênicos protegem as plantas contra a predação, uma vez que são convertidos em ácido cianídrico no trato digestivo dos herbívoros (VETTER, 2000).

Estes compostos resultantes do metabolismo secundário exercem influência, principalmente, por ocasionarem efeitos fisiológicos negativos como a inibição da porcentagem e velocidade da germinação e a redução do crescimento inicial de plântulas (MACÍAS et al., 2007), podendo causar alterações em nível celular, fitohormonal, fotossintético e respiratório, o que, indiretamente, pode interferir na produtividade agrícola e na biodiversidade local, devido a alterações na sucessão vegetal, na estrutura, dominância de certas espécies e composição das comunidades vegetais (RIZVI et al., 1992; CHOU, 1999; CHOU, 2006).

Os metabólitos secundários são utilizados pela sociedade como produtos farmacológicos, corantes, pesticidas ou como estruturas precursoras na síntese de substâncias orgânicas daí sua importância econômica (ALVES; SANTOS, 2002).

2.7. Aleloquímicos

Os aleloquímicos são produzidos em diferentes órgãos da planta, sendo que a concentração é variável entre tecidos (DELACHIAVE et al., 1999). O acúmulo de substâncias com efeitos alelopáticos tem sido verificado em todos os órgãos vegetais, havendo uma tendência de acúmulo nas folhas (RICE, 1984; GLIESSMAN, 2000; ANAYA, 1999; SINGH et al., 2001). Os que se localizam nos tecidos mais externos

dos vegetais atuam na defesa contra herbívoros e patógenos (ALVES; ARRUDA; SOUZA-FILHO, 2002) e são sintetizados “de novo” quando a planta sofre danos por esses organismos, constituindo a chamada defesa induzida (HADACEK, 2002). Aqueles que se acumulam em compartimentos especializados se situando mais internamente, sendo liberados por exsudação, estão relacionados à competição por recursos entre vegetais (ALVES; ARRUDA; SOUZA-FILHO, 2002; HADACEK, 2002) estabelecendo a chamada defesa constitutiva (HADACEK, 2002).

Plantas sob estresse, como seca extrema ou chuvas prolongadas, podem apresentar variação na produção de aleloquímicos, embora não tenha sido esclarecido ainda se tal fato também implica no aumento de liberação para o meio (SOUZA-FILHO; ALVES, 2002).

Os aleloquímicos podem apresentar ação direta ou indireta sobre a planta alvo. Os efeitos indiretos são relativos às alterações provocadas pelos referidos compostos nas propriedades e características nutricionais do solo e também nas populações e/ou atividade de organismos que o habitam. Os efeitos diretos, por sua vez, compreendem alterações celulares e metabólicas, incluindo modificações no funcionamento de membranas, na absorção de nutrientes e de água, na atividade fotossintética e respiratória, entre outras (RICE, 1984; RIZVI et al., 1992; REIGOSA; SÁNCHEZ-MOREIRAS; GONZÁLEZ, 1999).

Uma vez introduzidos no ambiente, é necessário o acúmulo destes compostos em quantidades suficientes para que possam afetar outras plantas, além de se manterem por determinado tempo ou serem liberados continuamente, para que os efeitos sejam persistentes (RODRIGUES; PASSINI; FERREIRA, 1999).

A ação visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, o efeito de aleloquímicos de uma planta sobre a germinação e desenvolvimento de outra, envolve processos ocorridos inicialmente a nível molecular e celular (FERREIRA; ÁQUILA, 2000; FERREIRA; BORGHETTI, 2004), podendo resultar em efeitos sobre a permeabilidade de membranas, transcrição e tradução do DNA, funcionamento dos mensageiros secundários, respiração, fotossíntese, conformação de enzimas e de receptores ou ainda na combinação destes fatores (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Assim, a vegetação de uma determinada área pode ter um modelo de sucessão condicionado às plantas preexistentes e as substâncias químicas que as mesmas liberaram no meio, conforme seu tempo de existência no referido ambiente (CHOU,

1999; FERREIRA; BORGHETTI, 2004). É comum verificar efeitos alelopáticos causados pela introdução de espécies exóticas, em comunidades nativas (HIERRO; CALLAWAY, 2003). Em sistemas agroecológicos, os efeitos tendem a ser danosos diminuindo o crescimento e a produtividade (REIGOSA; SÁNCHEZ-MOREIRAS; GONZÁLEZ, 1999; FERREIRA; AQUILA, 2000; FERREIRA, 2004). Estudos sugerem que as espécies que coexistem por longo período de tempo são tolerantes as toxinas liberadas pelas mesmas, enquanto, os aleloquímicos liberados por espécies exóticas podem interferir de forma drástica sobre as espécies nativas (BAIS; VEPACHEDU; VIVANCO, 2003; HIERRO; CALLAWAY, 2003).

As substâncias alelopáticas pertencem a diferentes categorias de compostos secundários e os avanços na química de produtos naturais, métodos de extração e isolamento estão contribuindo para a identificação destas substâncias (FERREIRA; AQUILA, 2000). As saponinas, os taninos, glicosídeos cianogênicos, alcaloides, sesquiterpenos, ácidos e os flavonoides, estão entre os aleloquímicos comumente citados como responsáveis por causarem efeitos diretos e indiretos sobre plantas receptoras, podendo ser liberados em condições naturais, já que são hidrossolúveis (RICE, 1984; FERREIRA; AQUILA, 2000).

A atividade alelopática raramente é resultado de uma única substância, sendo mais comum o efeito sinérgico, ou seja, um conjunto de substâncias agindo em associação. Assim, torna-se difícil o entendimento dos processos envolvidos pelo fato de um mesmo composto influenciar diversas funções biológicas, e a uma mesma função poder ser influenciada por mais de um composto (MALHEIROS; PERES, 2001).

Segundo Rizvi et al., (1992), é quase impossível enumerar cada um dos compostos hoje considerados alelopáticos, devido a sua grande diversidade e quantidade. Entre as rotas de liberação está a volatilização pelas partes aéreas da planta; a lixiviação através da chuva, orvalho e neblina; a exsudação pelas raízes, e a decomposição de resíduos vegetais (WHITTAKER; FEENY, 1971; CHOU, 1999; ANAYA, 1999).

2.8. Bioensaios

Vários tipos de bioensaios têm sido empregados para investigar e demonstrar atividades alelopáticas de certas plantas (LEATHER; EINHELLIG, 1988). Tais ensaios geralmente norteiam a bioatividade de extratos, frações e compostos isolados, sendo de grande utilidade na identificação e análise de substâncias potencialmente tóxicas (NOLDIN; YUNES, 2003). O potencial alelopático destas substâncias varia com a espécie vegetal, com a parte da planta utilizada (JAVAID, et al., 2006) com o período e horário de coleta, entre outros fatores. Frequentemente, os parâmetros analisados para comprovação do potencial alelopático de determinadas espécies são a germinação de sementes e o crescimento de plântulas.

Ferreira e Aquila (2000) e Ferreira (2004) argumentaram que a germinação é menos sensível a ação de aleloquímicos do que o crescimento da plântula, pois, para cada semente o fenômeno é discreto: germina ou não germina. O padrão de germinação é avaliado segundo a germinabilidade, tempo médio de germinação, velocidade de germinação entre outros parâmetros (FERREIRA; AQUILA, 2000; FERREIRA, 2004). Já o padrão de crescimento é avaliado, geralmente, segundo a massa seca da parte aérea e raiz, comprimento da parte aérea e radicular e plântulas, a presença ou ausência de pelos radiculares, formação e quantidade de raízes laterais e ocorrência de necrose nas radículas (OLIVEIRA; FERREIRA; BORGHETT, 2004).

Durante a montagem de um bioensaio para avaliar a ação alelopática é importante verificar o potencial osmótico dos extratos a serem testados, um aspecto pouco considerado e que pode mascarar o efeito alelopático (FERREIRA; AQUILA 2000). Sementes de espécies cultivadas de boa qualidade que tenha germinação rápida e uniforme a exemplo do tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) e da alface (*Lactuca sativa* L.) são frequentemente utilizadas em testes alelopáticos.

De acordo com Souza et al. (2005), a principal vantagem do uso de alface como alvo de estudos alelopáticos reside na sensibilidade das sementes da espécie, pois, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos o seu processo de germinação pode ser comprometido. Além disso, a germinação é rápida, em aproximadamente 24 h, possui crescimento linear, é insensível às diferenças de pH em ampla faixa de variação e aos potenciais osmóticos das soluções (RICE, 1984).

Para uma melhor compreensão dos efeitos alelopáticos é indispensável o conhecimento da natureza química dos compostos secundários. Para tal, a identificação e o isolamento desses compostos são de extrema importância em estudos envolvendo atividade alelopática (DURIGAN; ALMEIDA, 1993).

Para elementos da família Rubiaceae pesquisas envolvendo tal atividade foram realizadas por Pires et al. (2010) ao testar cascas de *Coffea arabica* sobre o crescimento de *L. sativa*, e as espécies forrageiras *Calopogonium muconoides* (Kunth) Benth. ex Hemsl., *Stylosanthes capitata* Vogel. Santos et al. (2001) ao verificar a influência das coberturas mortas de casca de *Coffea arabica* (café) e casca de *Oryza sativa* L. (arroz) sobre o crescimento inicial de *Amaranthus viridis* L. (caruru-de-mancha). E Rodrigues et al. (2011) através de bioensaios com extrato aquoso de *Coffea arabica* L. sobre o desenvolvimento inicial de *Glycine max* L. Merrill (soja).

Em relação a atividade alelopática de espécies do gênero *Psychotria* foram realizados poucos trabalhos podendo-se referir os de Maraschin-Silva e Aquila (2006) que testaram o extrato aquoso de *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schlecht sobre germinação e desenvolvimento inicial de *L. sativa*. Corrêa; Soares e Fett- Neto (2007), com o estudo do efeito do extrato aquoso de *P. leiocarpa* a 4 % (p/v) por maceração estática sobre o desenvolvimento inicial de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyhn., *L. sativa* L. (alface lisa), *Oryza sativa* L. (arroz) e *Quillaja brasiliensis* (St. Hil.) Mart. (sabão-de-soldado). E estes mesmo autores com a pesquisa da influência do extrato aquoso de *P. leiocarpa* sobre *Lactuca sativa* em dois tipos de substrato: um inerte (placas de petri com papel filtro) e um não asséptico (terra vegetal não autoclavada) observando uma possível interferência sobre a germinação e crescimento inicial de *L. sativa* L. (alface lisa).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta e Identificação do Material Botânico

As folhas de *P. viridis* foram coletadas no período da manhã em uma área de plantio, pertencente ao Centro Espirita Beneficente União do Vegetal - CEBUDV,

localizada na Rodovia Vicente Teles s/n, Distrito de Santa Fé, município de Crato, CE.

O material vegetal foi coletado e tratado segundo os métodos usuais de herborização e identificado por especialista em Rubiaceae. As exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade - Lima da Universidade Regional do Cariri (HCDAL- URCA), sob o número de registro 6159 (Figura 5).

3.2. Preparação dos Extratos

3.2.1. Extrato Aquoso Bruto

Para a obtenção do Extrato Bruto Aquoso (EBA) foram utilizadas 200g de folhas frescas de *P. viridis*, que foram acondicionadas em sacos plásticos, vedados para evitar a perda de umidade, identificadas e levadas ao laboratório para a realização dos experimentos.

Para estabelecer a quantidade de água a ser adicionada para extração, foi feita a relação entre o peso de matéria fresca (PMF) e o peso de matéria seca (PMS). Para isso, 100 gramas de folhas frescas foram postas em estufa a temperatura de 75°C, até peso constante sendo em seguida determinado o peso da matéria seca (PMS). Da relação PMF/PMS foi obtido um índice que foi multiplicado pelo peso de matéria fresca (100g) correspondendo ao volume de água destilada em mL a ser adicionada para obtenção do Extrato Bruto Aquoso (MEDEIROS, 1989).



Figura 5: Exsicata de *Psychotria. viridis* depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) da Universidade Regional do Cariri (2014).

Fonte: Andrade, A.O. (2014)

O Extrato Bruto Aquoso (EBA) foi preparado utilizando-se 100g de folhas frescas e 427 mL de água destilada. Após a trituração, o material foi filtrado com auxílio de funil de vidro e algodão, e o líquido resultante centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos para a obtenção do extrato a 100% de concentração. A partir desse extrato foram feitas diluições com água destilada nas concentrações de 75, 50 e 25%. O controle (0%) foi constituído somente de água destilada.

O pH de cada concentração foi aferido em pHmetro (Tecnal, pHmeter Tec-2) e devido à alta acidez foi ajustado a um valor entre 6,0 e 8,0 com soluções de KOH

0,1mol/L e HCl a 5%, conforme recomendado por Macias, Gallindo e Molinillo (2000).

3.2.2. Extrato Etanólico Bruto

Para o preparo do Extrato Etanólico Bruto (EEB), foram utilizadas 500g de folhas frescas de *P. viridis* trituradas e submetidas à maceração com etanol P.A. (99,3%) e agitações periódicas por um período de sete dias. Foram utilizados aproximadamente três litros de etanol, para que todas as folhas ficassem em contato direto com o solvente. Após sete dias, procedeu-se a filtração dessa solução e os materiais sólidos foram colocados para secar em estufa a 100°C, para posterior pesagem da massa seca, sendo o solvente evaporado em evaporador rotativo a vácuo, e concentrado em banho-maria. Este procedimento foi realizado no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Regional do Cariri (URCA).

3.2.3. Frações

Para obtenção das frações, o extrato foi fracionado a partir de filtração à vácuo com a utilização de solventes de diferentes polaridades. Utilizou-se 10,9 gramas do extrato etanólico das folhas de *P. viridis*, misturando-se a silicagel e, em seguida, transportado para um funil de Buchner com papel de filtro, acoplado a um kitassato e bomba de vácuo para filtração. Os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol foram vertidos sobre a mistura um a um, obedecendo a escala crescente de polaridade, a fim de se obter as frações desejadas. Cada fração foi concentrada em evaporador rotativo e levada a banho-maria, para retirada de todo o solvente. Foram obtidos os seguintes rendimentos: fração hexânica: 0,42g; fração diclorometano: 1,03g; fração acetato de etila: 1,25g e fração metanólica: 7,01g.

3.3. Bioensaios

Os testes de alelopátia foram conduzidos no Laboratório de Botânica Aplicada (LBA) do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Regional

do Cariri. Os bioensaios para o extrato aquoso constaram de cinco tratamentos nas concentrações de 100, 75, 50 e 25%, mais um grupo controle (água destilada) dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC). Cada tratamento foi composto por cinco repetições com 20 sementes de *Lactuca sativa* L. totalizando 100 sementes por tratamento. Para o extrato etanólico e as frações as concentrações foram: 6,25; 12,5; 25; 50 e 100%.

O Extrato Etanólico Bruto e as frações de *P. viridis* foram dissolvidos em etanol a 66% na proporção de 1:1m/v, ou seja, 100 mg do EEB para 100 mL de etanol, obtendo-se assim a solução estoque de 100%, já as concentrações de 6,25, 12,5, 25, 50% foram obtidas por diluição (MAZZAFERA, 2003).

Os experimentos foram conduzidos em placas de Petri, previamente autoclavadas contendo dois discos de papel filtro, sobre as quais foram dispostas as sementes de alface. Em cada placa foram adicionados 3 mL de cada concentração do extrato, enquanto o controle foi umedecido com 3 mL de água destilada. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação do tipo BOD à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias.

Para os bioensaios com o extrato etanólico e as frações as placas foram deixadas abertas durante 48 horas para completa evaporação do álcool (MAZZAFERA, 2003). O experimento constou de cinco tratamentos e um controle com cinco repetições cada. Para cada repetição foram utilizadas 20 sementes de *L. sativa* distribuídas aleatoriamente, totalizando 100 sementes por tratamento. Após as 48h foram adicionados, em cada placa, 3 mL de água destilada. As placas de Petri contendo os diásporos foram seladas com filme plástico para garantir o modelo de sistema fechado e levadas a uma câmara de germinação (BOD), com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, adequadas às espécies receptoras.

As soluções que apresentaram pH fora do ideal para germinação foram ajustadas com solução de KOH 0,1N e HCl a 5% e as medições foram realizadas com auxílio de um pHmetro (Tecnal, pHmeter Tec-2).

3.4. Variáveis Avaliadas

3.4.1. Germinação e índice de velocidade de germinação

A germinação das sementes foi verificada 7 dias após a semeadura, sendo considerada germinada a semente que apresentou protusão radicular acima de 2mm. A porcentagem de germinação (PG) foi calculada de acordo com a fórmula abaixo, conforme proposto por Laboriau e Valadares (1976).

$$PG = (N/A).100$$

Em que:

N - número total de sementes germinadas.

A - número de sementes colocadas para germinar.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado a cada 24h, sendo determinado através do somatório da razão entre o número de sementes germinadas no dia *i* (*ni*) e o número de dias (*i*), de acordo com a fórmula abaixo, conforme proposto por Fernandes; Miranda e Sanqueta, (2007).

$$IVG = (\Sigma ni / i)$$

Em que:

ni - Número de sementes germinadas no dia *i*.

i - Número de dias.

3.4.2. Biometria do caulículo e radícula

Para medição do comprimento dos caulículos e radículas de *L. sativa* foram utilizadas 5 plântulas por repetição, totalizando 25 por tratamento. As medições foram realizadas com auxílio de paquímetro digital e expressas em centímetro.

3.4.3. Características físico-químicas do extrato

Foram analisados os pH dos extratos aquoso, etanólico e frações nas diferentes concentrações, com auxílio de pHgâmetro e a osmolaridade do extrato aquoso com Osmômetro (P2L -1000 Tecnologia em Equipamentos). As medidas dos potenciais osmóticos nas diferentes concentrações, foram obtidas em mOsm/kg e convertidos para pressão osmótica (MPa) através da equação abaixo (LARCHER, 2004):

$$\pi = - W \times 0,00832 \times T_{abs}$$

Em que:

π = Pressão Osmótica em MPa;

W = Potencial Osmótico em Osm/kg;

T_{abs} = Temperatura absoluta, em Kelvin.

3.5. Análises Estatísticas

A análise estatística dos dados de Porcentagem de germinação, Índice de Velocidade de Germinação, comprimento dos caulículos e radículas, consistiu da análise de variância e de regressão polinomial, pelo programa ASSISTAT versão 7.7 beta. Equações de regressão cujos valores de $R^2 \leq 0,7$ foram desconsiderados nas representações gráficas.

3.6. Quantificação Química por HPLC

3.6.1. Extrato Aquoso Bruto

As análises cromatográficas de fase reversa foram realizadas sob as condições de gradiente usando coluna de Phenomenex C₁₈ (4,6 mm x 250 mm) empacotada com partículas de diâmetro de 5 μ m; a fase móvel foi água contendo 2% de ácido fórmico (A) e metanol (B), e a composição do gradiente foi: 17% de B até 10 min

com mudança; 20, 30, 50, 70 e 10% B a 20, 30, 40, 50 e 60 min, respectivamente, seguindo o método descrito por Klimaczewski et al. (2014).

3.6.2. Extrato Etanólico Bruto

As análises cromatográficas de fase reversa foram realizadas sob as condições de gradiente utilizando coluna C₁₈ (4,6 mm x 250 mm) empacotada com partículas de diâmetro de 5µm; como fase móvel foi usada água contendo 2% de ácido acético (A) e metanol (B), e a composição do gradiente foi: 5% de (B) até 2 min com mudança; 25% (B) até 10 min; 40, 50, 60, 70 e 80% (B) a cada 10 minutos; seguindo o método descrito por Barbosa Filho et al., (2014).

3.6.3. Frações

A separação dos compostos foi realizada em uma coluna C₁₈ (4,6 mm x 250 mm) empacotada com partículas de diâmetro de 5µm; a eluição binária do gradiente de eluente A (0,05% de ácido trifluoroacético em água) e eluente B (acetonitrila 100%) foi utilizada para a detecção dos compostos. O programa de eluição foi fixado como se segue: 5% de B entre 0-5 minutos, 12% de B entre 5-50 minutos, 30% de B entre 50-51 minutos, 90% de B entre 51-56 minutos, e 5% de B entre 56- 70 minutos (COLPO et al., 2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Extrato Aquoso

Os resultados da influência do extrato aquoso das folhas de *P. viridis* sobre a germinação, o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e o desenvolvimento de *L. sativa* foram significativos ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$), apresentado influência tanto negativa quanto positiva.

4.1.1. Germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

A germinação de *L. sativa* foi estimulada na presença do extrato de *P. viridis* nas concentrações de 25% e 50% e inibida na concentração de 75% e 100% em relação ao controle, com expressão cúbica da equação de regressão (Figura 6).

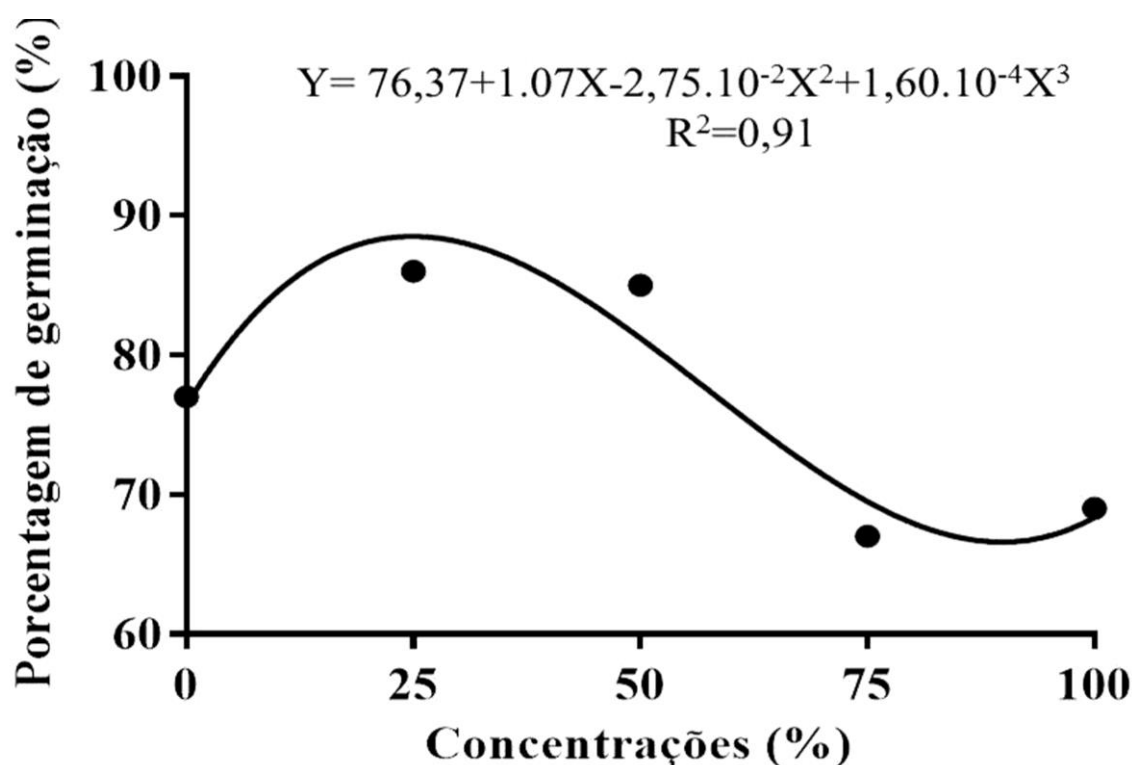


Figura 6: Porcentagem de germinação de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Bruto Aquoso (EBA) das folhas de *Psychotria viridis*.

As alterações no padrão de germinação podem resultar de diversos efeitos causados em nível primário. Entre esses, Ferreira e Aquila (2000), destacam alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, no funcionamento de mensageiros secundários, na respiração, devido ao sequestro de oxigênio, na conformação de enzimas e receptores, ou ainda pela combinação destes fatores. Na presente pesquisa apesar da germinação ter sido afetada, o crescimento inicial da alface sofreu efeitos mais acentuados por parte da maioria dos extratos. As substâncias presentes nos extratos foram capazes de inibir o crescimento das plântulas, além de causarem alterações no aspecto morfológico das mesmas.

Neste contexto, Reigosa; Sánchez-Moreiras e González (1999) relataram que os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são

dependentes da concentração, ou ao menos se espera que sejam promovendo ativações em baixas concentrações e inibições em altas concentrações. No entanto Petersen et al. (2001), afirmaram que substâncias aleloquímicas podem, em baixas concentrações, atrasar a germinação e, em altas concentrações, penetrar nas sementes tornando-as inviáveis.

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi reduzido significativamente nas concentrações de 50, 75 e 100%, com modelo linear de regressão dos dados (Figura 7). Resultados similares foram obtidos por Pires et al. (2010), ao verificarem que o percentual de germinação e o IVG de *C. muconoides*, *S. capitata* e *L. sativa* foram influenciados negativamente pelo extrato aquoso das folhas secas de *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) sendo tal fato atribuído a xantina (alcaloide), poderoso inibidor de crescimento. E Rodrigues et al. (2011) ao observarem que o extrato das folhas secas de *C. arabica* provocou uma redução sobre o índice de velocidade de germinação de *Glycine max* (L.) Merr. (soja).

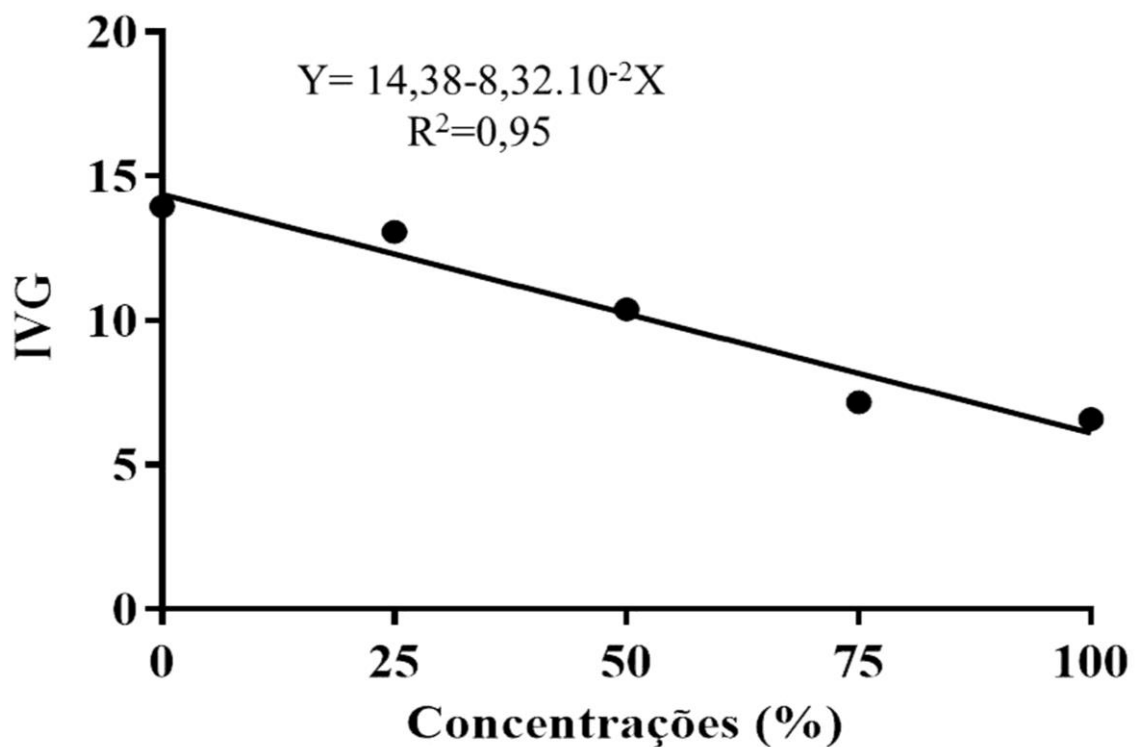


Figura 7: Índice de Velocidade de Germinação das sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria. Viridis* nas diversas concentrações.

4.1.2. Biometria do caulículo e da radícula

O comprimento do caulículo das plântulas de *L. sativa* foi estimulado na concentração de 25 e 50%; e reduzido na concentração de 75 e 100%, quando comparadas ao controle, com expressão cúbica da equação de regressão (Figura 8). Maraschin-Silva e Aquila (2006), ao testarem a influência do extrato das folhas de cinco espécies, observaram que apenas os extratos de *P. leiocarpa* foram capazes de reduzir o tamanho do hipocótilo das plântulas de alface, em relação ao controle, observando-se também um escurecimento das raízes, somando-se ao aspecto frágil e quebradiço das plântulas.

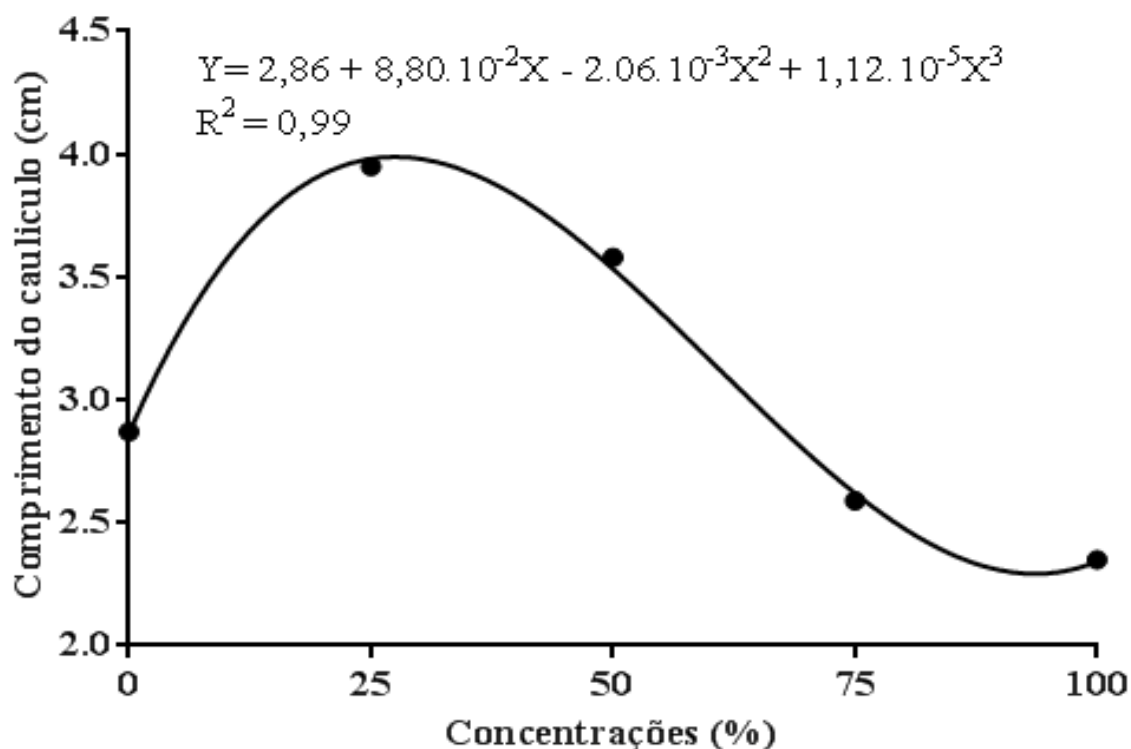


Figura 8: Comprimento médio dos caulículos de *Lactuca sativa* sobre o efeito do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria..viridis* nas diferentes concentrações.

O comprimento da radícula das plântulas de alface foi inibido nas concentrações de 50, 75 e 100%, inversamente proporcional à dose, isto é quanto maior a concentração do extrato, menor o comprimento das radículas, com modelo linear de regressão dos dados (Figura 9). Rodrigues et al. (2011) ao testarem extratos

aquoso de *C. arabica* sobre o desenvolvimento inicial de soja, observaram que houve redução no comprimento da raiz em todas as concentrações do extrato testadas.

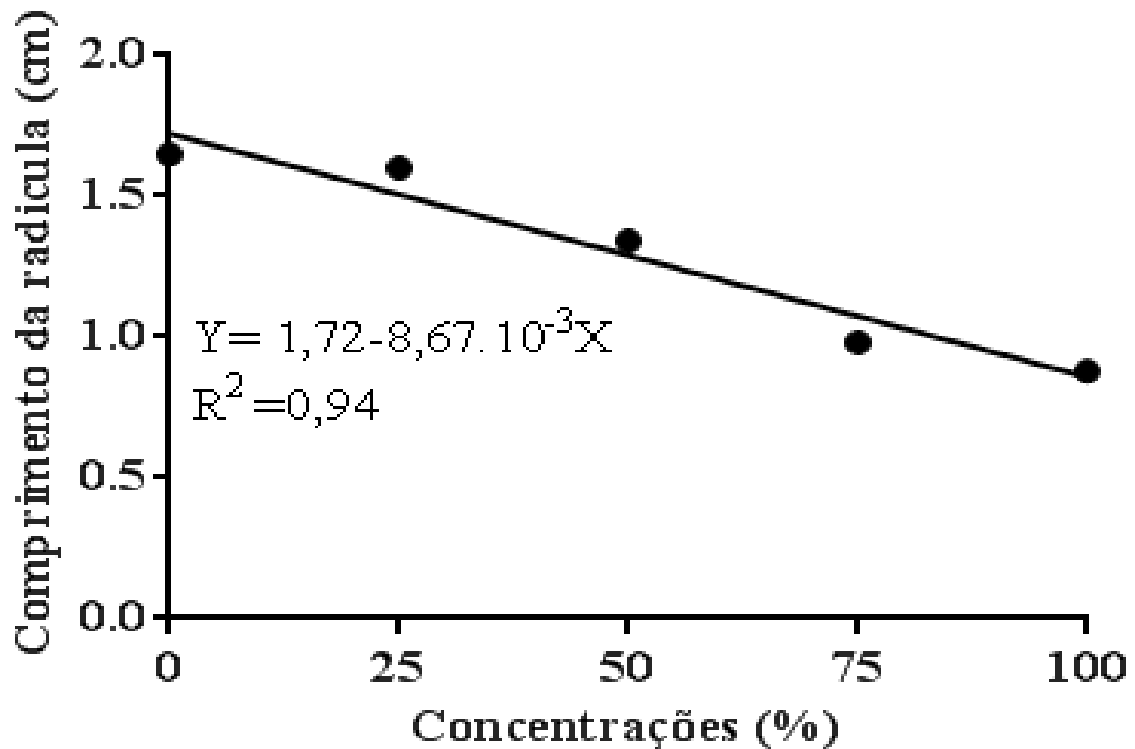


Figura 9: Comprimento médio das radículas *Lactuca sativa* sobre o efeito do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria viridis* nas diferentes concentrações.

Os resultados obtidos na presente pesquisa, corroboram com os de Santos et al. (2001) ao confirmarem a inibição do crescimento de *Amaranthus viridis* L., sobre coberturas mortas de casca de café.

Corrêa, Soares e Fett-Neto (2007) ao testarem a influência do Extrato Aquoso Bruto de *P. leiocarpa* sobre o crescimento inicial de *L. sativa*, observaram uma diminuição da porcentagem de germinação e comprimento do caulículo e da radícula dessa última espécie.

Todas as médias obtidas com germinação, IVG, Comprimento do caulículo e da radícula de *L. sativa* submetidas ao extrato etanólico e frações de *P. viridis* estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Médias \pm Desvio Padrão da germinação, IVG, comprimento dos caulículos e radículas de alface submetidas ao EBA de *Psychotria viridis*.

Concentração (%)	Germinação**	IVG**	Caulículo**	Radícula**
Controle	15,4 \pm 1,67	36,66 \pm 4,69	2,87 \pm 0,41	1,65 \pm 0,21
25%	17,2 \pm 1,78	35,85 \pm 6,17	3,91 \pm 0,22	1,60 \pm 0,25
50%	17,0 \pm 2,00	28,03 \pm 8,38	3,58 \pm 0,42	1,34 \pm 0,22
75%	13,4 \pm 1,67	22,23 \pm 4,45	2,59 \pm 0,42	0,98 \pm 0,14
100%	13,8 \pm 1,30	20,75 \pm 2,60	2,35 \pm 0,40	0,88 \pm 0,11

(**) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ($p < 0,01$).

4.1.3. Osmolaridade e pH

Na Tabela 2 encontram-se os valores de pH e do potencial osmótico do extrato aquoso de *P. viridis* para as concentrações de 25, 50, 75 e 100%. Vale ressaltar que os valores de pH obtidos não são recomendados para germinação de sementes e crescimento de plântulas, tendo sido portanto, feito ajuste do pH dos extratos para uma faixa de 6,0 como recomendado para testes alelopáticos.

Tabela 2: Características físico-químicas do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria viridis*.

Concentrações (%)	pH normal	pH ajustado	Osmolaridade (Mpa)
25	4,67	6,13	-0,063
50	4,74	6,05	-0,093
75	4,73	6,17	-0,143
100	4,72	6,23	-0,181

A verificação do pH e do potencial osmótico é importante, pois os extratos podem conter solutos como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que podem mascarar o efeito alelopático dos extratos por interferir no pH e serem osmoticamente ativos. Um potencial osmótico elevado pode refletir na germinação das sementes atrasando a velocidade da mesma (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Os valores de potencial osmótico apresentado na Tabela 2, estão de acordo com os padrões aceitáveis para a germinação e desenvolvimento de plântulas em testes com potenciais alelopáticos, os quais não devem ultrapassar -0,2 Mpa como afirmam Gatti; Perez e Lima (2004); Mano (2006) e Gatti; Perez e Ferreira (2007).

Portanto, os valores obtidos para pH e potencial osmóticos do extrato de *P. viridis*, estão dentro do recomendado, descartando-se, assim, a possibilidade de interferência do pH e do potencial osmótico nos resultados, indicando que a ação do extrato da espécie em estudo seja consequência dos metabolitos secundários produzidos pela mesma.

4.2. Extrato Etanólico e Frações

4.2.1. Germinação e IVG

A germinação de *L. sativa* foi influenciada tanto de forma positiva quanto negativa pelas frações acetato de etila e metanólica com significância ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$) para a fração acetato de etila e 1% de probabilidade ($p < 0,01$), para a fração metanólica. O Índice de Velocidade de Germinação (IVG), sofreu influência apenas da fração diclorometano com significância ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

A germinação das sementes de *L. sativa* foi estimulada na concentração de 6,25% e inibida nas concentrações de 50 e 100%, pela fração de acetato de etila, com modelo linear de regressão dos dados (Figura 10). Já, com o tratamento da fração metanólica a germinação foi inibida nas concentrações de 6,25; 12,5 e 50%. O fato do Extrato Etanólico Bruto e da fração de diclorometano não terem afetado a germinação pode ser explicado por Ferreira e Borghetti (2004), os quais relatam que o efeito alelopático não se dá, frequentemente, sobre a porcentagem de germinação final, e sim sobre a velocidade de germinação ou sobre outra variável, como o comprimento médio da raiz primária.

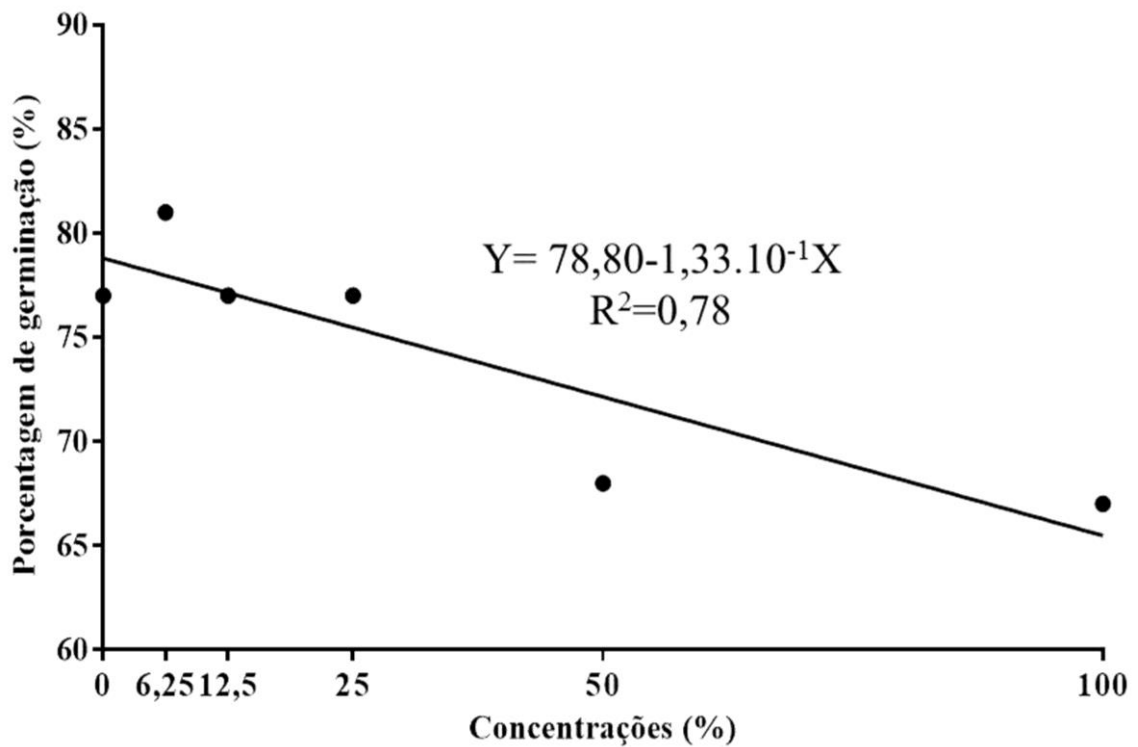


Figura 10: Germinação de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração acetato de etila.

As alterações no padrão da germinação, segundo Ferreira (2004) podem ser decorrentes da ação dos metabólitos secundários sobre a permeabilidade de membranas, da transcrição e tradução de DNA, da respiração, por sequestro de oxigênio (fenóis), da conformação de enzimas e de receptores ou, ainda, da combinação destes fatores. Souza Filho (1997) destaca que uma mesma substância pode desempenhar várias funções, dependendo de sua concentração e forma de translocação.

Pires (2010) ao testar a influência do extrato aquoso da casca de *C. arabica* (Rubiaceae), sobre sementes e plântulas de *L. sativa* verificou a ocorrência de efeitos negativos acentuados no percentual de germinação, no índice de velocidade de germinação, na contagem final das sementes germinadas e no peso da matéria seca, comprovando que a casca de café possui elementos que provocam uma inibição do crescimento de *L. sativa* e das espécies forrageiras *C. mucunoides* e *S. capitata*. Almeida (1988) trabalhando com casca de café observou que o extrato aquoso desse resíduo promoveu a inibição do crescimento de várias espécies de plantas silvestres inclusive o *Amaranthus retroflexus* L. (caruru-gigante).

A fração diclorometano foi o único tratamento que causou inibição no Índice de Velocidade de Germinação das sementes de alface, com significância ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$), nas concentrações de 6,25; 12,5; 25 e 100%, com expressão cúbica da equação de regressão (Figura 11).

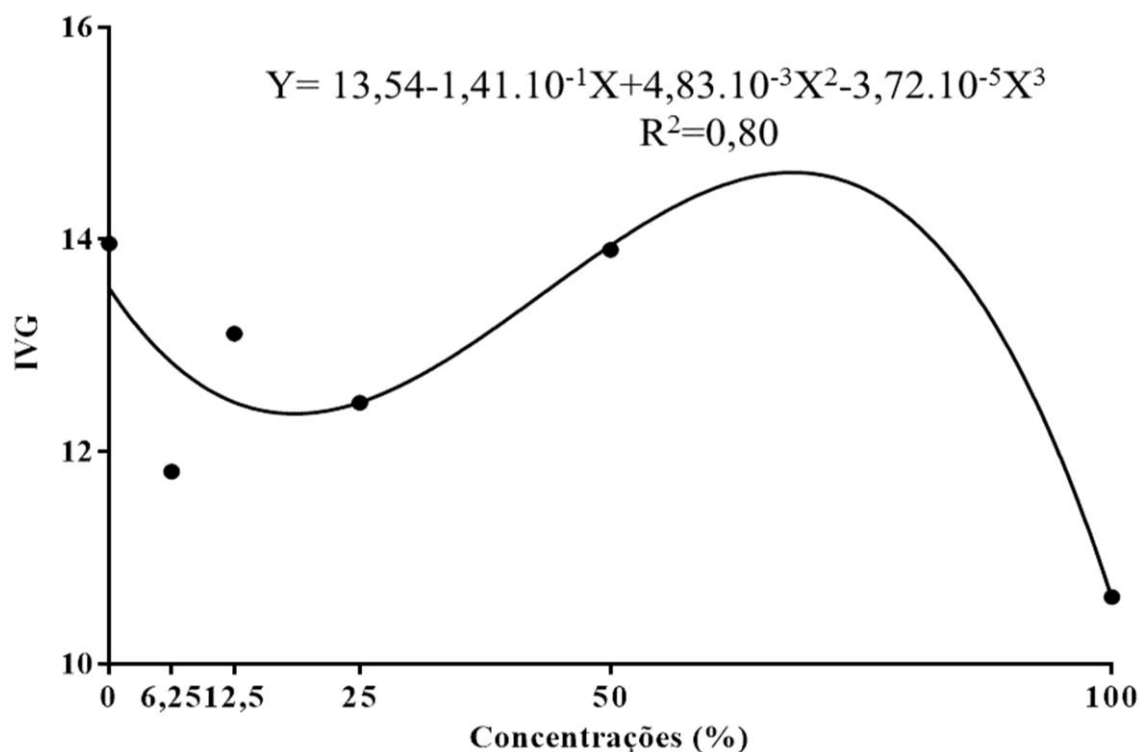


Figura 11: Índice de Velocidade de Germinação (IVG), de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração diclorometano de *Psychotria viridis*.

Frescura (2012) testou a influência alelopática de *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton e *Psychotria birotula* Smith sobre *Eruca sativa* M. e constatou que apenas o extrato de *P. brachypoda* na concentração 20 mg/L inibiu significativamente a porcentagem de germinação e o IVG de *E. sativa*, em consonância com os resultados obtidos no presente trabalho.

4.2.2. Biometria do caulículo e radícula

O comprimento do caulículo de *L. sativa* sofreu influência do EEB e das frações diclorometano e metanólica, já para comprimento das radículas todas as frações e o EEB causaram efeito alelopático.

Com relação ao comprimento do caulículo o EEB causou um efeito variável em seu desenvolvimento com um aumento em seu comprimento na concentração de 6,25%, seguida de um decréscimo nas concentrações de 12,5 e 25% e novamente um aumento nas concentrações de 50 e 100%, quando comparadas ao controle, com modelo linear de regressão dos dados (Figura 12). O estímulo no crescimento de plântulas vem sendo rotineiramente descrito em trabalhos relacionados à alelopatia e possivelmente, este processo pode estar relacionado à influência do extrato sobre a produção fito-hormonal da espécie alvo ou aumento na sensibilidade de seus tecidos (Rice, 1984). Segundo Hong et al. (2004), o maior crescimento das plântulas em menores concentrações de extratos pode ser um mecanismo de proteção.

Já para Goldfarb et al. (2009) isso pode estar relacionado ao fato que um dado composto químico tem efeito inibitório ou estimulante, dependendo da concentração do mesmo no ambiente.

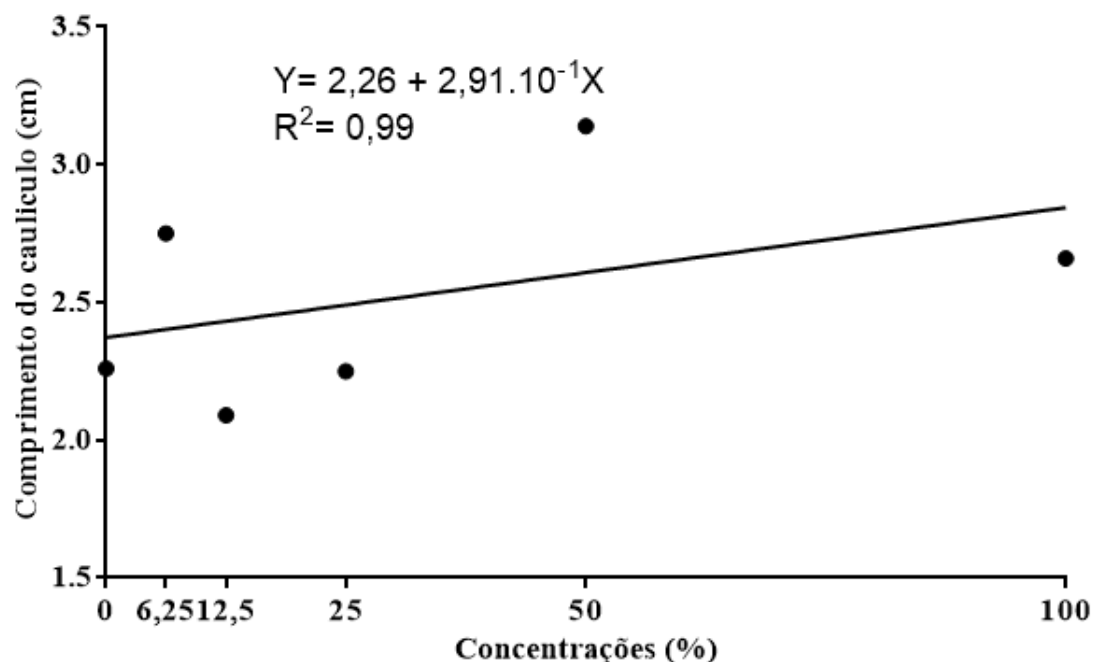


Figura 12: Comprimento do caulículo de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de *Psychotria viridis*.

Determinados extratos em baixas concentrações podem inibir o crescimento de determinadas espécies, mas não de outras, isso mostra que não há padrão de respostas quanto à concentração, necessitando sempre testes específicos envolvendo plantas teste e concentração do extrato (PREMASTHIRA; ZUNGSONTIPORN, 1996). Além disso, o efeito do tipo de extrato depende da sensibilidade da planta

teste para com o aleloquímico, sendo que, em determinadas espécies uma substância alelopática pode ser inibidora da germinação ou do crescimento e, em outra, esta mesma substância pode ser inócua ou estimulante (ALMEIDA, 1988).

Já as frações diclorometano e metanólica inibiram o comprimento do caulículo de *L. sativa* em todas as concentrações testadas, com significância ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$) e com expressão cúbica da equação de regressão (Figuras 13 e 14).

Maraschin-Silva e Aquila (2006) testaram o potencial alelopático de cinco espécies nativas, no entanto, para o parâmetro comprimento do caulículo, a espécie *P. leiocarpa*, foi à única capaz de reduzir o tamanho do hipocótilo das plântulas de alface, inibindo também o comprimento das radículas deixando-as com um aspecto frágil e quebradiço.

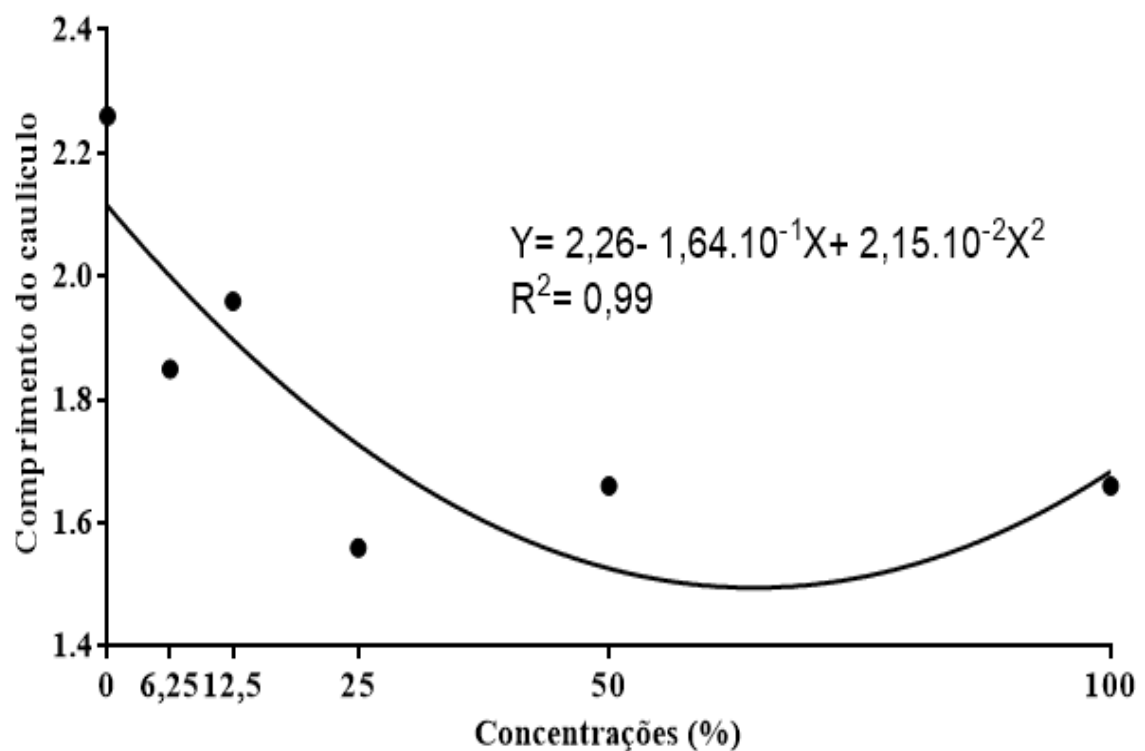


Figura 13: Comprimento do caulículo de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração diclorometano de *Psychotria viridis*

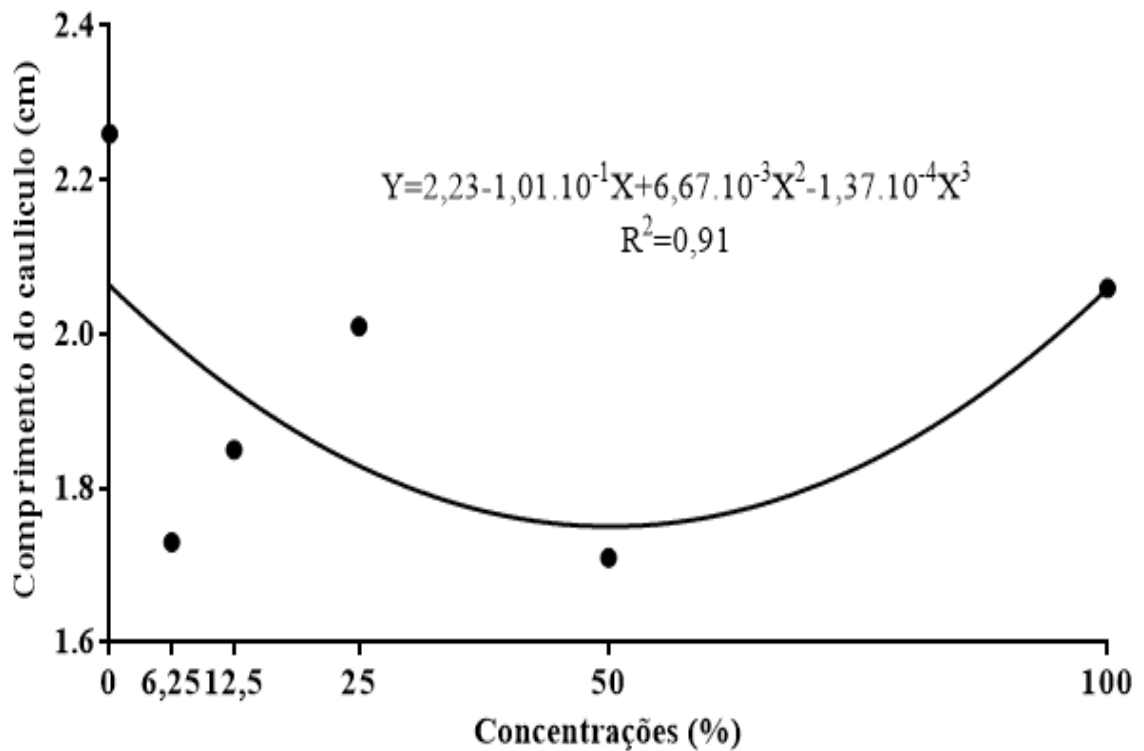


Figura 14: Comprimento do caulículo de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração Metanólica de *Psychotria viridis*.

O comprimento da radícula das plântulas de *L. sativa* foi inibido por todos os tratamentos testados, com significância ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$), para o EEB e fração diclorometano e ao nível de 5% de probabilidade para a fração de acetato de étila e metanólica (Figuras 15 e 16).

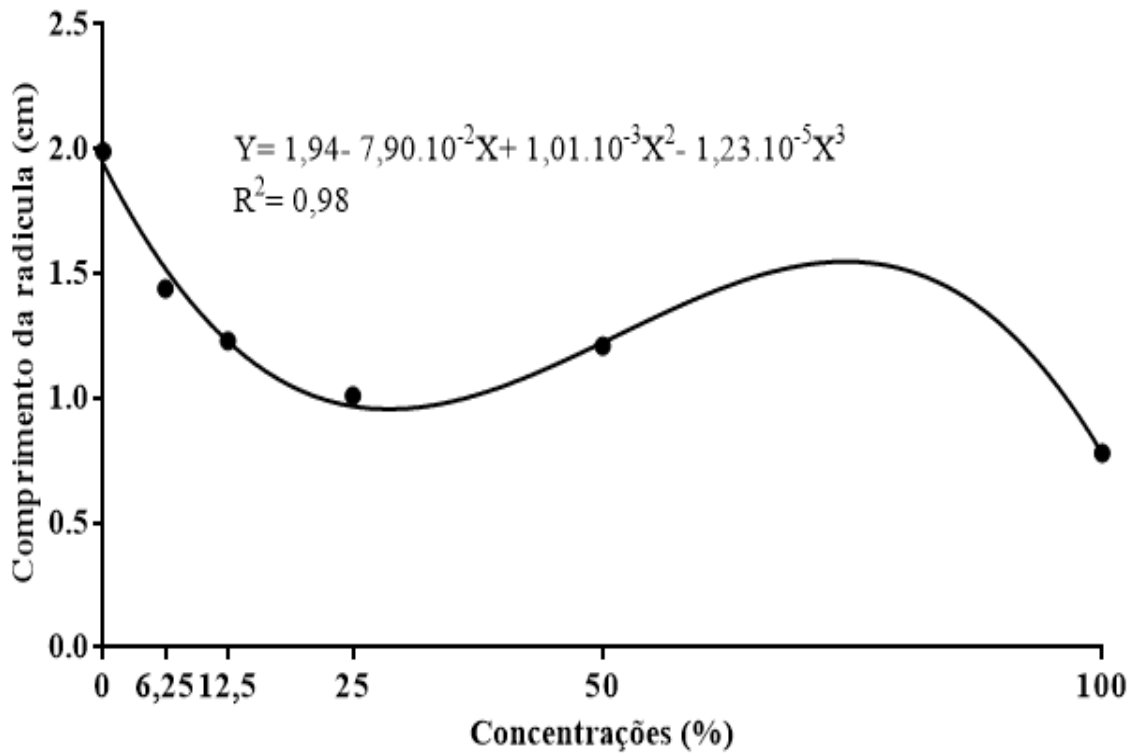


Figura 15: Comprimento da radícula de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de *Psychotria viridis*.

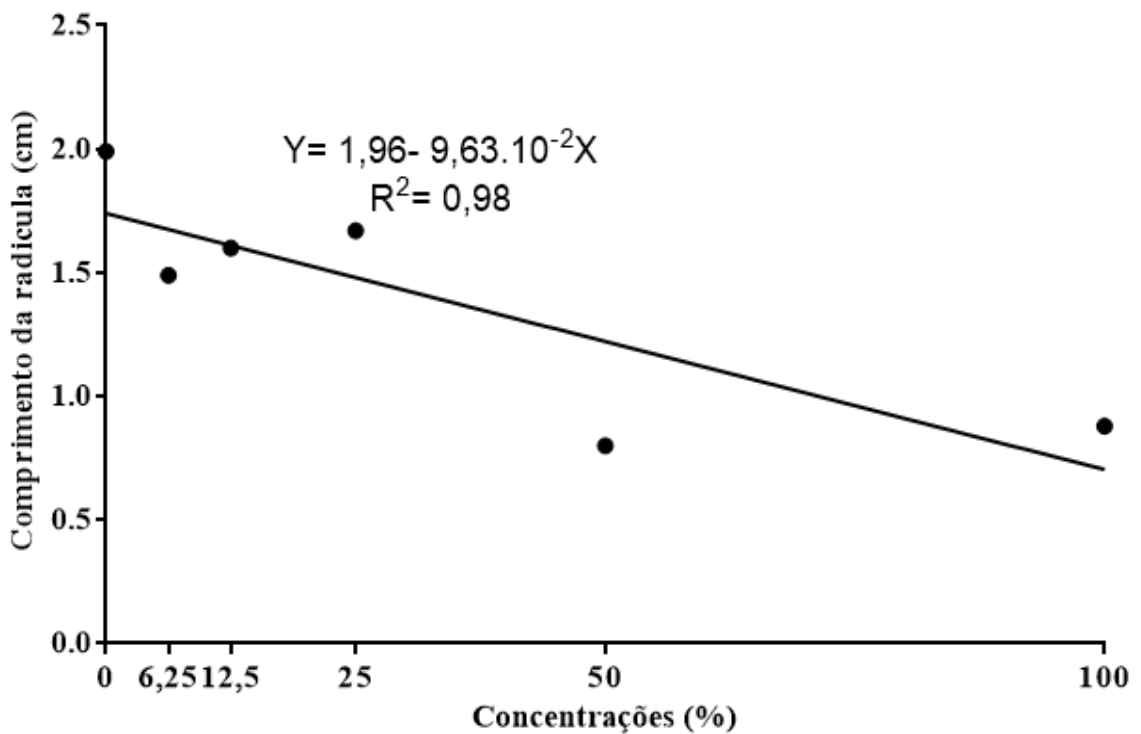


Figura 16: Comprimento da radícula de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações da fração acetato de etila de *Psychotria viridis*.

Resultados similares foram obtidos por Frescura (2012) para duas espécies de *Psychotria* com ambas inibindo o comprimento da radícula de *E. sativa*, de forma proporcional ao aumento da concentração dos extratos. E Rodrigues et al., (2011) que verificou que *C. arábica* inibiu a porcentagem de germinação, IVG, comprimento da radícula e o peso da biomassa radicular de *G. max* quando testada a influência de seu extrato aquoso foliar.

O crescimento inicial das plântulas é mais sensível que a germinação, pois para cada semente o fenômeno é discreto, germinando ou não (FERREIRA; AQUILA, 2000). Em geral, as raízes são mais sensíveis às substâncias presentes nos extratos quando comparadas com as demais estruturas das plântulas (CHON; COUTTS; NELSON, 2000). Isso se deve ao fato das raízes estarem em contato direto e prolongado com o extrato (aleloquímicos) em relação às demais estruturas das plântulas (CHUNG et al., 2001) e/ou a um reflexo da fisiologia distinta entre as estruturas (AQUILA et al., 1999).

Segundo Hoffmann et al. (2007) o alongamento da parte aérea e das raízes é dependente de divisões celulares, da formação do câmbio e dos vasos xilemáticos e essas estruturas são dependentes da partição de nutrientes pela plântula. Como as plântulas de *L. sativa* apresentaram redução das raízes, presume-se que as mesmas foram afetadas por fitoconstituintes presentes no extrato. O sistema radicular das plantas é sensível à ação de aleloquímicos porque o seu alongamento depende de divisões celulares que, se inibidas comprometem o desenvolvimento normal (HOFFMANN et al., 2007). Assim, quanto menor o IVG, maior a dificuldade para a planta se alongar, conforme o observado com a fração de diclorometano.

Todas as medias obtidas com germinação, IVG, Comprimento do caulículo e da radícula de *L. sativa* submetidas ao extrato etanólico e frações de *P. viridis* estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Médias \pm Desvio Padrão da germinação, IVG, comprimento dos caulículos e radículas de *Lactuca sativa* submetidas ao EEB e as frações diclorometano, acetato de étila e metanólica, de *Psychotria viridis*.

Etanólico	Germinação^{ns}	IVG^{ns}	Caulículo^{**}	Radícula^{**}
Controle	15,40 \pm 1,67	36,66 \pm 4,69	2,26 \pm 0,23	1,99 \pm 0,21
6,25%	16,0 \pm 1,87	38,48 \pm 3,83	2,75 \pm 0,31	1,44 \pm 0,06
12,5%	16,40 \pm 1,51	38,63 \pm 4,55	2,09 \pm 0,23	1,23 \pm 0,20
25%	16,20 \pm 2,58	39,39 \pm 7,48	2,25 \pm 0,29	1,01 \pm 0,29
50%	14,60 \pm 2,40	31,59 \pm 10,5	3,14 \pm 0,32	1,21 \pm 0,25
100%	14,60 \pm 2,30	35,38 \pm 5,70	2,66 \pm 0,23	0,78 \pm 0,10
Diclorometano	Germinação^{ns}	IVG[*]	Caulículo^{**}	Radícula[*]
Controle	15,40 \pm 1,67	36,66 \pm 4,69	2,26 \pm 0,23	1,99 \pm 0,21
6,25%	15,20 \pm 2,28	31,82 \pm 5,56	1,85 \pm 0,23	1,25 \pm 0,17
12,5%	16,0 \pm 1,22	34,70 \pm 5,40	1,96 \pm 0,21	1,70 \pm 0,21
25%	15,60 \pm 1,51	34,04 \pm 3,69	1,56 \pm 0,14	1,66 \pm 0,13
50%	17,60 \pm 1,94	36,85 \pm 4,82	1,66 \pm 0,16	1,59 \pm 0,31
100%	15,8 \pm 1,30	29,45 \pm 5,41	1,66 \pm 0,05	1,63 \pm 0,52
A. de Étila	Germinação[*]	IVG^{ns}	Caulículo^{ns}	Radícula^{**}
Controle	15,40 \pm 1,67	36,66 \pm 4,69	2,26 \pm 0,23	1,99 \pm 0,21
6,25%	16,20 \pm 1,30	35,33 \pm 2,40	2,02 \pm 0,32	1,49 \pm 0,26
12,5%	15,40 \pm 2,07	32,67 \pm 5,53	2,27 \pm 0,32	1,60 \pm 0,40
25%	15,40 \pm 2,30	32,92 \pm 7,91	2,26 \pm 0,34	1,67 \pm 0,29
50%	13,60 \pm 3,13	29,55 \pm 10,33	2,16 \pm 0,31	0,80 \pm 0,28
100%	13,40 \pm 2,70	31,17 \pm 9,95	2,12 \pm 0,26	0,88 \pm 0,40
Metanólico	Germinação[*]	IVG^{ns}	Caulículo[*]	Radícula[*]
Controle	15,40 \pm 1,67	36,66 \pm 4,69	2,26 \pm 0,23	1,99 \pm 0,21
6,25%	15,0 \pm 1,22	36,43 \pm 1,43	1,73 \pm 0,27	1,30 \pm 0,29
12,5%	14,60 \pm 0,54	34,60 \pm 1,05	1,85 \pm 0,07	1,33 \pm 0,15
25%	16,0 \pm 2,55	39,09 \pm 5,80	2,01 \pm 0,29	1,18 \pm 0,36
50%	14,20 \pm 0,83	33,62 \pm 3,23	1,71 \pm 0,39	1,29 \pm 0,54
100%	15,40 \pm 2,07	31,88 \pm 4,90	2,06 \pm 0,16	1,38 \pm 0,30

(*) significância ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

(**) indica diferença do controle a um nível de significância de 1% de probabilidade ($p < 0,01$).

4.2.3.pH

Os valores obtidos de pH do Extrato Etanólico Bruto (EEB) e das frações, estavam diferentes do ideal para a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas como pode ser observado na tabela 4, tendo sido necessária a correção do pH dos extratos e frações para 6,0 ou próximo a esse valor.

Tabela 4: Valores do pH para as concentrações dos extratos etanólico e frações das folhas frescas de *Psychotria viridis*.

Tratamentos	Concentração (%)	pH Normal	pH Corrigido
Etanólico	6,25	5,6	6,3
	12,5	6,0	-
	25	6,4	-
	50	5,2	6,5
	100	5,1	6,6
Diclorometano	6,25	6,1	-
	12,5	5,8	6,1
	25	5,9	6,1
	50	5,7	6,0
	100	5,4	6,3
Acetato de Étila	6,25	5,5	6,0
	12,5	5,8	6,0
	25	7,0	6,7
	50	6,2	-
	100	5,4	6,7
Metanólico	6,25	4,9	6,4
	12,5	4,9	6,3
	25	5,0	6,6
	50	5,3	6,3
	100	4,5	6,3

Macias et al. (2000) recomendam que o pH dos extratos aquosos seja ajustado para 6,0; pois esta é a faixa de pH ideal para a germinação de sementes e observação dos efeitos alelopáticos. Tanto a germinação como o crescimento das plântulas são afetados quando o pH é extremamente alcalino ou extremamente ácido (ROY, 1986), com efeitos deletérios observados em condições de pH abaixo de 4 e superior a 10 (EBERLEIN, 1987). Para Ferreira e Áquila (2000) os extratos podem conter solutos

como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que podem mascarar o efeito alelopático dos extratos por interferir no pH.

4.2.4. Quantificação de Compostos por CLAE

O método analítico de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) revelou no extrato aquoso de *P. viridis* como pode ser observado na Tabela 5, a presença do ácido gálico (tempo de retenção (tR) = 11,85 min ; pico 1), catequina (tR = 16,27 min; pico 2), o ácido clorogênico (tR = 20,63 min ; o pico 3), ácido cafeico (tR = 23,81 min ; pico 4), rutina (tR = 32,19 min ; pico 5) e quercetina (tR = 42,05 min ; pico 6) (Figura 17).

Tabela 5: Tabela 5: Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides presentes no Extrato Aquoso das folhas de *Psychotria viridis*.

Compostos	<i>P. viridis</i>		LOD	LOQ
	mg/mL	%	µg/mL	µg/mL
Ácido gálico	2,76 ± 0.03 a	0,27	0,031	0,102
Catequina	4,95 ± 0.01 b	0,49	0,009	0,029
Ácido clorogênico	4,54 ± 0.01 c	0,45	0,016	0,053
Ácido caféico	5,71 ± 0.02 d	0,71	0,008	0,024
Rutina	1,93 ± 0.03 e	0,19	0,023	0,083
Quercetina	0,47 ± 0.01 f	0,04	0,027	0,088

LOD: limite de detecção e LOQ: limite de quantificação.

Os resultados são expressos como médias ± desvio padrão (DP) de três determinações. Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo teste de Tukey a $p < 0,05$

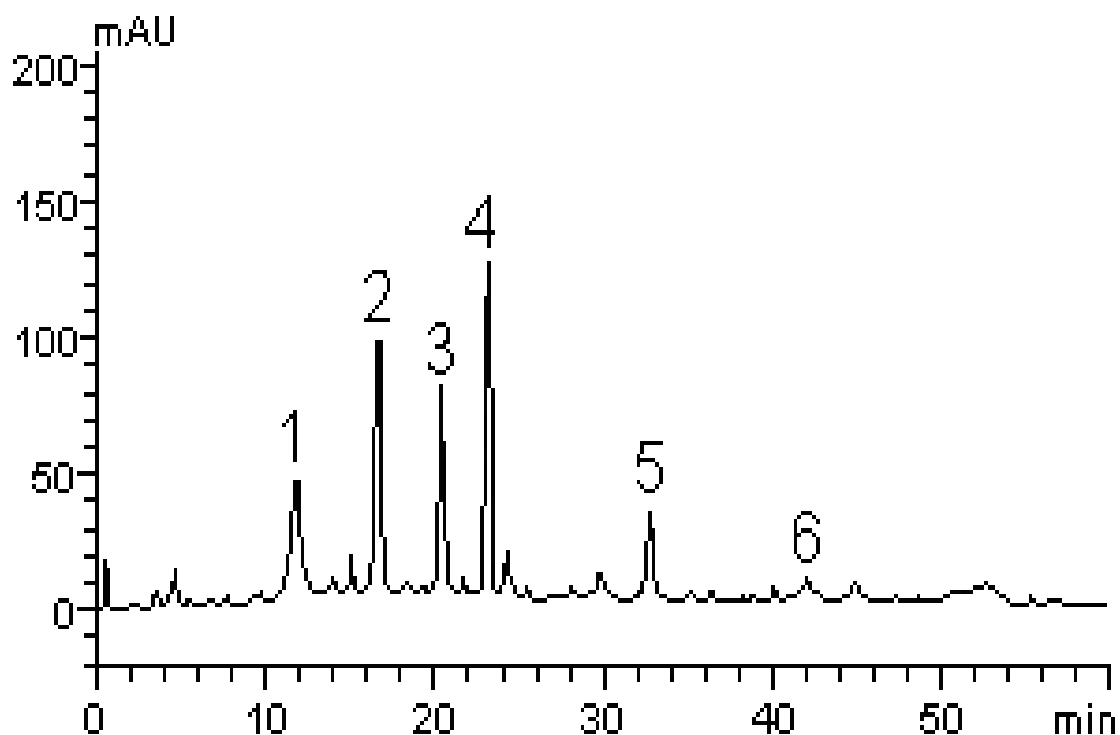


Figura 17: Compostos fenólicos e flavonoides presente no Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Psychotria viridis*. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), rutina (pico 5) quercetina (pico 6).

Para a amostra do EEB foi possível detectar e quantificar, ácido gálico (tR- 10,67 min, pico 1), o ácido cloro gênico (tR = 20,07 min, pico 2), ácido caféico (tR = 24,91 min, pico 3), orientina (tR = 27,86 min, pico 4), vitexina (tR = 43,27 min, 5 de pico), a quercetina (tR = 49,11 min, pico 6) e apigenina (tR = 62,73 min, pico 7) (Tabela 6). Tais resultados caracterizaram a presença de flavonóides (orientina e vitexina), grupo dos flavonóis (quercetina e catequina), flavonas (Apigenina) e compostos fenólicos ácidos (ácido gálico, ácido clorogênico, e ácido caféico) (Figura 18).

Tabela 6: Quantificação de compostos fenólicos e flavonoides presentes no Extrato Aquoso das folhas de *Psychotria viridis*.

Compostos	<i>Psychotria viridis</i>		<i>LOD</i>	<i>LOQ</i>
	mg/mL	%	µg/mL	µg/mL
Ácido Gálico	2,57 ± 0.03 a	0,25	0,011	0,037
Ácido Clorogênico	5,98 ± 0.01 b	0,59	0,025	0,083
Ácido Caféico	8,43 ± 0.01 c	0,84	0,009	0,029
Orientina	5,79 ± 0.02 b	0,57	0,018	0,059
Vitexina	13,06 ± 0.01 d	1,30	0,027	0,091
Quercetina	6,12 ± 0.03 b	0,61	0,030	0,099
Apigenina	8,53 ± 0.01 c	0,85	0,024	0,079

LOD: limite de detecção e LOQ: limite de quantificação.

Os resultados são expressos como média ± E.P. de três determinações. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey a $p < 0,01$.

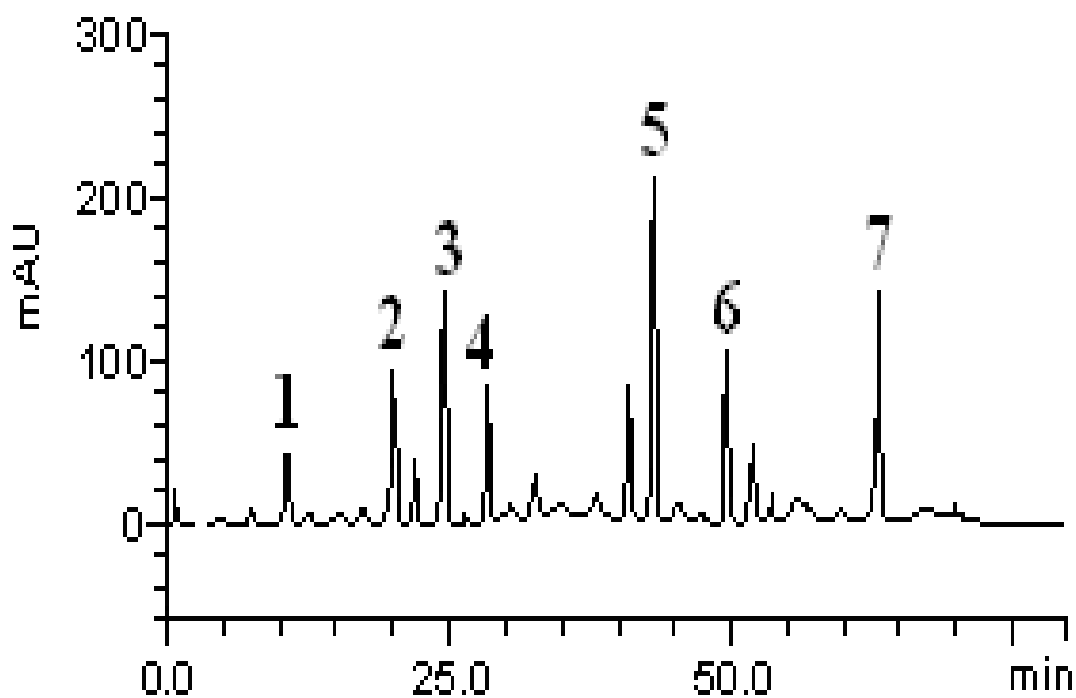


Figura 18: Compostos fenólicos e flavonoides presente no Extrato Etanólico das folhas de *Psychotria viridis*. Ácido gálico (pico 1), ácido clorogênico (pico 2), ácido caféico (pico 3), orientina (pico 4), vitexina (pico 5), quercetina (pico 6) e apigenina (pico 7).

Já para as frações (metanol, acetato de étila e diclorometano), observa-se na Tabela 7, a presença do ácido gálico (o tempo de retenção de TR-10,73 min, pico 1), catequina (tR = 17,04 min, pico 2), o ácido clorogênico (tR = 22,19 min, pico 3), ácido caféico (tR = 26,53 min, pico 4), ácido elágico (tR = 29,45 min, 5 de pico), a rutina (tR = 38,91 min, pico de 6), quercetina (tR = 49,11 min, pico 7), luteolina (TR = 54,30 min, pico de 8) e apigenina (tR = 59,78 min, pico de 9) (Figuras 19, 20 e 21).

Tabela 7: Quantificação de compostos fenólicos e flavonóides das frações diclorometano, acetato de étila e metanólica das folhas de *Psychotria viridis*.

Compostos	<i>Psychotria viridis</i>			LOD	LOQ
	Metanólica mg/mL	Acet. Étila mg/mL	Diclorometano mg/mL	µg/mL	µg/mL
Ácido Gálico	3,49 ± 0,01 a	1,07 ± 0,03 a	0,53 ± 0,03 a	0,018	0,059
Catequina	0,87 ± 0,03 b	1,83 ± 0,01 b	1,14 ± 0,02 b	0,027	0,091
Ácido Clorogênico	6,02 ± 0,01 c	9,36 ± 0,01 c	0,62 ± 0,03 a	0,030	0,099
Ácido Caféico	3,56 ± 0,01 a	11,29 ± 0,02 d	2,19 ± 0,01 c	0,009	0,029
Ácido Elágico	3,09 ± 0,02 d	11,05 ± 0,03 d	2,48 ± 0,01 c	0,011	0,037
Rutina	3,82 ± 0,03 e	1,76 ± 0,01 b	-	0,025	0,083
Quercetina	8,05 ± 0,03 f	8,12 ± 0,01 e	-	0,013	0,045
Luteolina	3,97 ± 0,01 g	6,04 ± 0,02 f	3,97 ± 0,03 e	0,008	0,026
Apigenina	2,86 ± 0,01 h	3,45 ± 0,03 g	2,15 ± 0,03 c	0,024	0,079

LOD: limite de detecção e LOQ: limite de quantificação.

Os resultados são expressos como média ± E.P. de três determinações. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey a p <0,05.

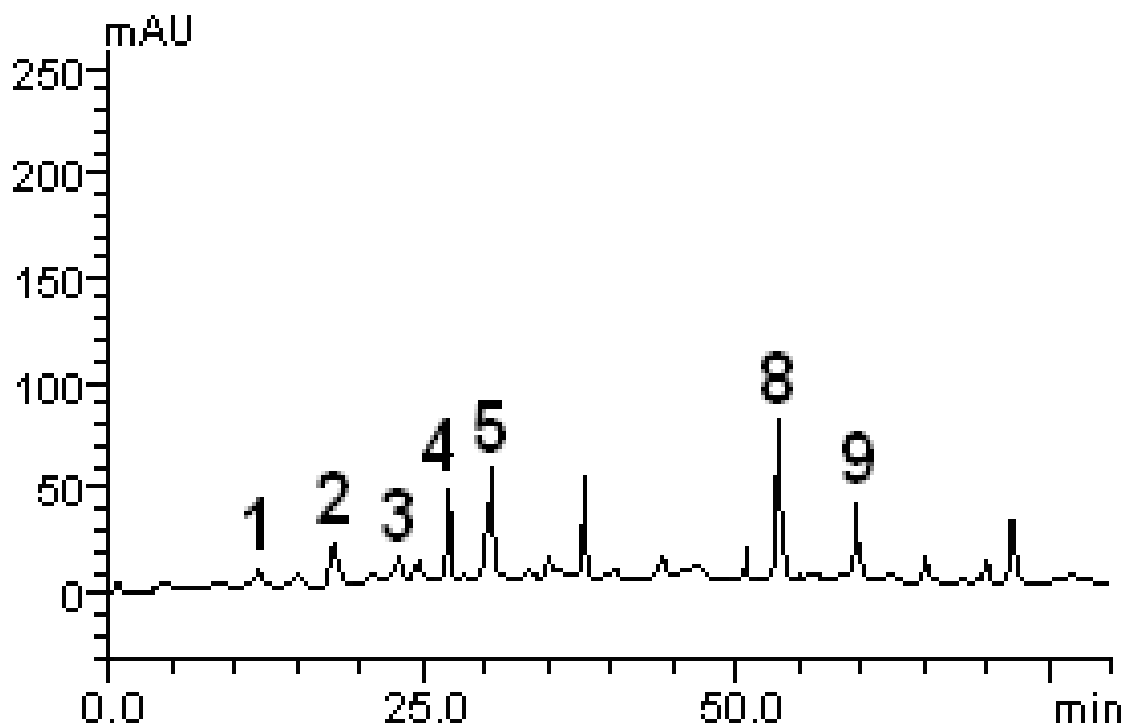


Figura 19: Compostos fenólicos e flavonoides presente na fração diclorometano das folhas de *Psychotria viridis*. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), ácido elágico (pico 5), a rutina (pico 6), quercetina (pico 7), luteolina (pico 8) e apigenina (pico 9).

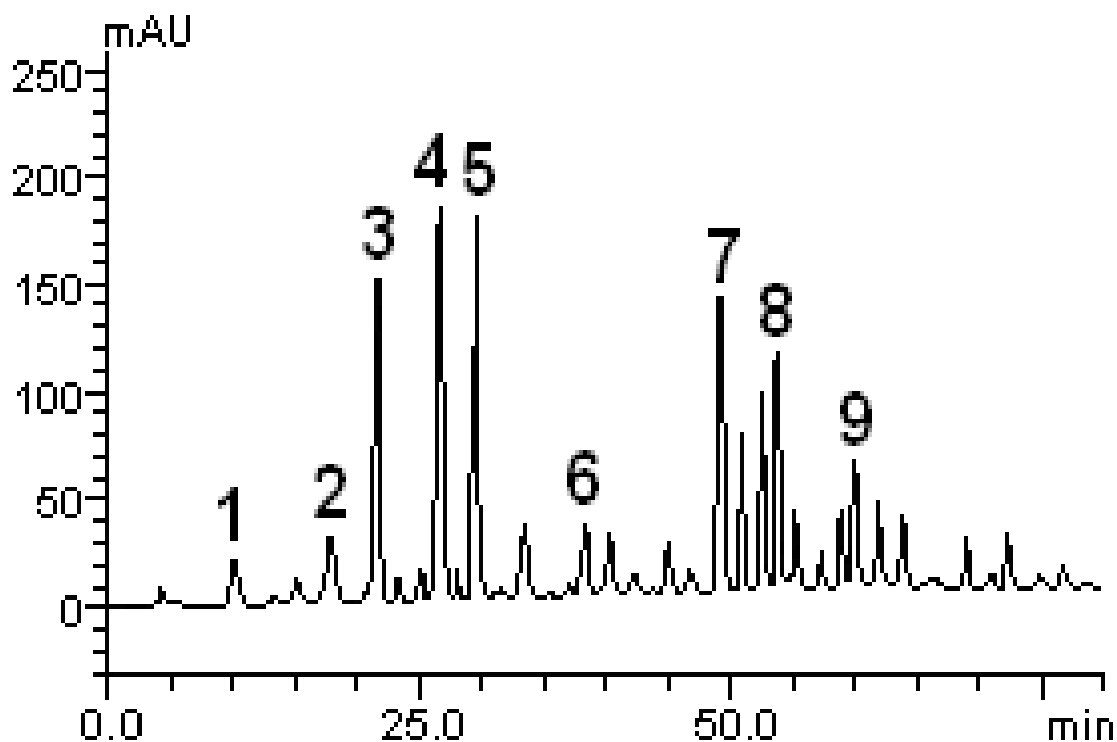


Figura 20: Compostos fenólicos e flavonoides presente na fração acetato de étila das folhas de *Psychotria viridis*. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), ácido elágico (pico 5), a rutina (pico 6), quercetina (pico 7), luteolina (pico 8) e apigenina (pico 9).

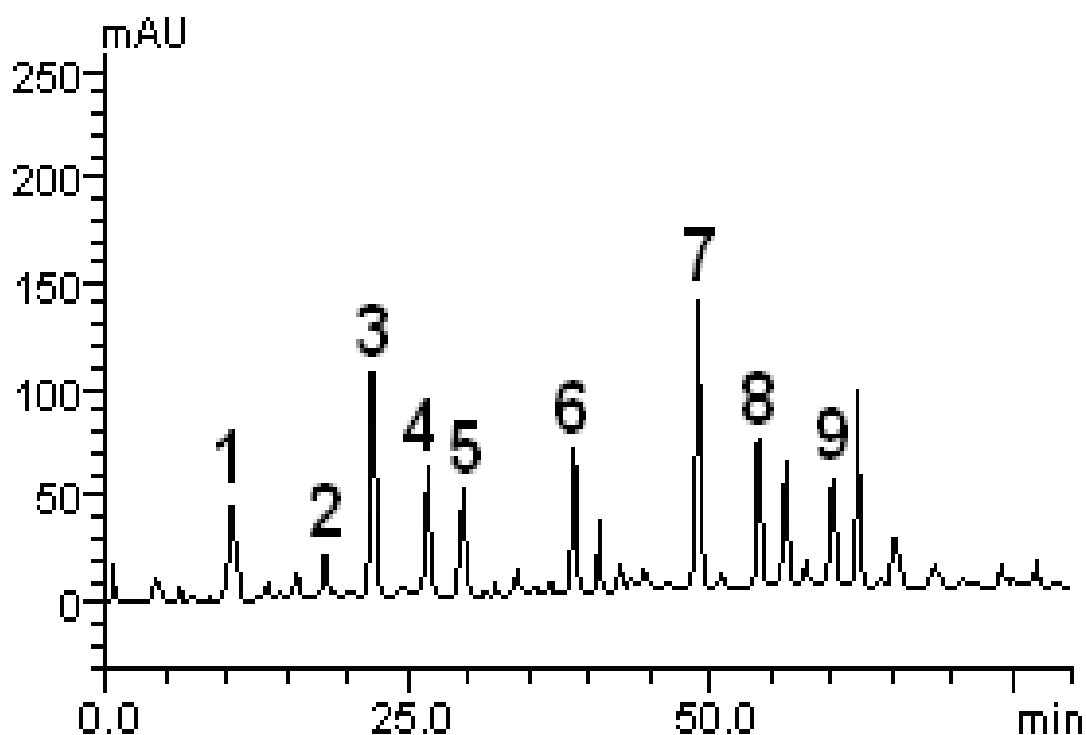


Figura 21: Compostos fenólicos e flavonoides presente na fração metanólica das folhas de *Psychotria viridis*. Ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido caféico (pico 4), ácido elágico (pico 5), a rutina (pico 6), quercetina (pico 7), luteolina (pico 8) e apigenina (pico 9).

Os ácidos gálicos, clorogênico e caféico, foram detectados em todos os extratos e frações analisadas. A orientina e a vitexina só foram encontradas no Extrato Etanólico Bruto de *P. viridis*, destacando também a catequina que só esteve ausente no extrato etanólico, a apigenina ausente apenas no extrato aquoso e a quercetina que só não foi detectada na fração diclorometano. De acordo com os resultados obtidos, observou-se que o teor de compostos fenólicos foi maior na fração acetato de étila, e para flavonoides foi maior no Extrato Etanólico Bruto, sendo observando também menores concentrações de compostos fenólicos na fração diclorometano e de flavonoides no extrato aquoso.

Na ecologia química, vem sendo ressaltada a participação de fenóis como a hidroquinona, o ácido elágico e ésteres de ácido gálico na defesa das plantas, além de participarem da inter-relação entre animais e vegetais, com atividades como a inibição da germinação de sementes, do crescimento de fungos e de plantas em geral (SIMÕES et al., 2010), o que caracteriza a ação alelopática, na fração acetato de

etila, que foi o tratamento que mais inibiu a germinação e o crescimento da radícula de *L. sativa*.

O ácido gálico que foi encontrado em todos os extratos e frações de *P. viridis* é considerado como um metabólito secundário especial, de ocorrência ampla no Reino Vegetal, o qual apresenta diversas atividades biológicas; dentre elas é confirmada sua atividade alelopática sobre outras plantas (WOODSON, 1983; SOUZA et al., 2006; ZHAO-UI LI et al., 2010).

O ácido caféico, identificado na presente pesquisa, é relatado por Inderjit et al. (1995), como um composto de ação alelopática que ocorre em abundância no solo, tendo sido comprovado em condições de laboratório seu efeito de inibição sobre a germinação e crescimento em diversas plantas. A toxicidade do ácido caféico inclui mudanças na absorção mineral, emergência das plântulas, crescimento da raiz, balanço hídrico e fotossíntese, evapotranspiração e expansão da folha, rizogênese e enzimas relacionadas, formação de raízes adventícias e geração de espécies reativas de oxigênio (BUBNA, 2009).

Os derivados dos ácidos cinâmicos, como ácido clorogênico e ácido caféico são amplamente distribuídos no reino vegetal e são inibidores de várias espécies. Muitas destas substâncias já foram identificadas como inibidoras da germinação vegetal. Os efeitos tóxicos destes compostos são pronunciados devido a sua grande persistência no solo (SAMPIETRO, 2014).

Estudos feitos por Santos (2004), utilizando compostos fenólicos (ácidos clorogênicos, ácido ferúlico, ácido p-anísico e genisteína), individualmente mostra que esses compostos apresentam atividades alelopáticas, porém o efeito é potencializado quando utilizado em uma solução mista, por tais compostos apresentarem comportamento sinérgico.

Diversas funções são atribuídas aos flavonoides, dentre essas estão à proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioletas e visíveis; além da proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (SIMÕES et al., 2010).

A vitexina presente apenas no Extrato Etanólico Bruto já foi descrita como detentora de potente atividade antiinflamatória e com efeito hipotensor (PRABHAKAR et al., 1981). A quercetina é um potente antioxidante amplamente presente em plantas comestíveis, principalmente sob a forma de glicosídeos como a rutina (MANACH et al., 1997).

Alguns flavonoides têm atividades farmacológicas a exemplo de: quercetina, (antitumoral, antiespasmódica, antiúlcera, antiinflamatória, antiviral e antioxidante) luteolina, (antioxidante, antiinflamatória e antiviral) rutina, (Antioxidante) apigenina, (antiviral e antiinflamatória). (SIMÕES et al., 2010)

5. CONCLUSÕES

- O Extrato Aquoso Bruto de *P. viridis* em suas diversas concentrações apresentou uma ação diferenciada em relação à estrutura e ao fenômeno observado. A porcentagem de germinação e o desenvolvimento dos caulículos de *L. sativa* foram estimulados em baixas concentrações e inibidos em altas concentrações. Já o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e o comprimento das radículas de *L. sativa* foram inibidos em todas as concentrações testadas do referido extrato.
- O Extrato Etanólico Bruto de *P. viridis* tanto estimulou como inibiu o comprimento do caulículo de *L. sativa*; já o comprimento da radícula foi inibido por todas as concentrações testadas.
- A fração diclorometano de *P. viridis* inibiu o IVG, o comprimento do caulículo e da radícula de *L. sativa*.
- A fração acetato de étila de *P. viridis* tanto estimulou como inibiu a porcentagem de germinação de *L. sativa*, causando inibição no comprimento da radícula em todas as concentrações testadas.
- A fração metanólica causou estímulo e inibição na porcentagem de germinação de *L. sativa*, acarretando um decréscimo no comprimento do caulículo e da radícula em todas as concentrações testadas.
- A identificação dos constituintes químicos do extrato e das frações de *P. viridis*, mostrou a presença dos seguintes compostos: ácido gálico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido elágico, catequina, orientina, vitexina, quercetina, apigenina, rutina, e luteolina.
- Essa foi a primeira quantificação química de compostos fenólicos e flavonoides para *P. viridis*, uma vez que a maioria dos estudos realizados com esta espécie aborda a ocorrência do alcaloide DMT na constituição da mesma. Considerando que o foco do presente trabalho foi conhecer o comportamento alelopático de *P. viridis*,

compreende-se serem tais resultados de grande valia para o conhecimento da ecologia da espécie e de suas potencialidades alelopáticas que podem subsidiar futuras pesquisas na busca por um bioherbicida como alternativa biológica de ação específica e menos prejudicial ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJIBADÉ, Y. **Pharmacognosia du *Psychotria forsteriana* A. Gray (Rubiaceae). Aspects Botanique Chimique et essais pharmacologiques preliminaires.** 1989. Tese (Doutorado) Paris: Université Louis Pasteur de Strasbourg.

ADOLPHO, L.; DALCOL, I.; SILVA, V. S.; STUCKER, C. Atividade antimicrobiana e antioxidante das frações de *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). In: **Anais Eletrônico**, XIV Jornada de Jovens Pesquisadores do AUGM. 2006.

ALMEIDA, A.R.P. **Efeito alelopático de espécies de Brachiárias Griseb, sobre algumas leguminosas forrageiras tropicais.** 1993. 73p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, ESALQ, 1993.

ALMEIDA, F.S. **Alelopatia e as plantas.** Londrina: IAPAR, Circular v.55. 1988. 62p.

ALVES, S.; ARRUDA, M.; SOUZA-FILHO, A. Biosíntese e Distribuição de Substâncias Alelopáticas. In: SOUZA-FILHO, A.; ALVES, S. **Alelopatia: Princípios básicos e aspectos gerais.** Belém: Embrapa Amazônia. 2002. p.79-102.

ALVES, S.; SANTOS, L. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: A. SOUSA-FILHO; ALVES, S. **Alelopatia: Princípios básicos e aspectos gerais** Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2002. p.25-47.

AMADOR, T. A.; VEROTTA, L.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Involvement of NMDA receptors in the analgesic properties of psychotridine. **Phytomedicine**, v.8, n.3, p. 2002-2006, 2001.

ANAYA, A. Allelopathy as a Tool in the Management of Biotic Resources in Agroecosystems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.6, p.697-739, 1999.

AQUILA, M.E.A.; UNGARETTI, J.A.C.; MICHELIN, A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, v.502, p.383-388, 1999.

ARANHA C.; TRAVANI, G.; CORREA, M. A. Aspectos botânicos e taxonômicos das plantas *Banisteriopsis* sp. e *Psychotria* sp. Symposium paper presented at **1º Congresso em Saúde, Centro de Estudos Médicos – União do Vegetal**. São Paulo, Brasil, 1991.

BAGCHI, G.D.; JAIN, D.C.; CIMAP, P.O. Arteether a potent plant growth inhibitor from *Artemisia annua*. **Phytochemistry**, v.45, n.6, p.1131-1133, 1997.

BAIS, H.; VEPACHEDU, R. G.; VIVANCO, J. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. **Science**, v.301, n.5638, p.1377-1380, 2003.

- BARBOSA FILHO, V.M.; WACZUK, E.P.; KAMDEM, J.P.; ABOLAJI, A.O.; LACERDA, S.R.; COSTA, J.G.M.; MENEZES, I.R.A.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; ROCHA, J.B.T.; POSSER, T. Phytochemical constituents, antioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of Caju (*Anacardium microcarpum*). **Industrial Crops and Products**, v.55, p. 280-288, 2014.
- BARBOSA, M.R.; TAYLOR, C.; CABRAL, E.; JARDIM, J.G.; PEREIRA, M.S.; CALIÓ, M.F.; PESSOA, M.C.R.; SALAS, R.; SOUZA, E.B.; DI MAIO, F.R.; MACIAS, L.; ANUNCIACÃO, E.A. DA; GERMANO FILHO, P.; OLIVEIRA, J.A.; BRUNIERA, C.P.; M. GOMES; DE TONI, K.; FIRENS, M.; ZAPPI, D. Rubiaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB210>>. Acesso em: 24 Set. 2014.
- BELZ, R. G.; HURLE, K. A novel laboratory screening bioassay for crop seedling allelopathy. **Journal of Chemical Ecology**, v.30,n.1, p.175-198. 2004.
- BLANCO, J. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. **Ecological Modeling**, v.209, n.2-4, p.65-77, 2007.
- BOLZANI, V.; YONG, M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A.; ARAÚJO, A.; SILVA, D.;VOLVIDO, M.N. Secondary Metabolites From Brazilian Rubiaceae Plant Species: Chemotaxonomical and Biological Significance. **Recent Research Development in Phytochemistry**, v.5, p.19-31, 2001.
- BUBNA G. A. **Crescimento e lignificação de raízes de soja (*Glycine max* L. Merr.) submetidas ao ácido cafeico**. 2009, 50p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Maringá, 2009.
- BURGER, W.; TAYLOR, C. Flora Costaricensis. **Fieldiana**.1993. 333p.
- CALLAWAY, R. A.; ASCHEHOUG, E.T. Invasive plants versus their new and old neighbors:a mechanism for exotic invasion. **Science**, v.290, n.5491, p.521-523, 2000.
- CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H.; YOUNG, M. C.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S. Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinata* DC Prodr.: a contribution to the chemotaxonomic studies of the Rubiaceae family. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.1, p.26-29, 2008.
- CASTRO, C.; OLIVEIRA, P. Pollination biology of distilous Rubiaceae in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. **Plant Biology**, v.4, n.5, p.640-646. 2002.
- CHON, S.U.; COUTTS, J.H.; NELSON, C.J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v.92, n.4, p.715-720, 2000.
- CHOU, C. H. The role of allelopathy in subtropical agroecosystems in Taiwan. In: PUTNAM, A R.; TANG, C. S. (Eds.) **The science of allelopathy**. New York: John Wiley & Sons, 1986. p. 57-73.

- CHOU, C. Introduction to allelopathy. In: REIGOSA, M. J. PEDROL, N.GONZÁLEZ, L. **Allelopathy: A physiological process with ecological implications**. Springer Science & Business Media. 2006, 619p.
- CHOU, C. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.609-630, 1999.
- CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v.20, n.10, p.921-928, 2001.
- COELHO, V.; AGRA, M.; BARBOSA, M. Estudo Farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham, e Schltdl.) K. Schum. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.170-177, 2006.
- COLPO, E., VILANOVA, C.D.D.A., REETZ, L.G.B., DUARTE, M.M.M.F., FARIAS, I.L.G., MEINERZ, D.F., MARIANO, D.O.C., VENDRUSCULO, R.G., BOLIGON, A.A., CORTE, C.L.D., WAGNER, R., ATHAYDE, M.L., ROCHA, J.B.T. Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**, v.30, p.459-465, 2014.
- CORRÊA, L. R.; SOARES, G.L. G.; FETT-NETO, A.G. Avaliação da fitotoxidez do extrato aquoso de *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schlecht sobre o desenvolvimento inicial de quatro espécies. **Revista Brasileira Agroecologia**, v.2, n.1, p.1202-1205, 2007.
- CORRÊA, M.A. Distribuição, cultivo, sustentabilidade e conservação das espécies utilizadas na preparação da bebida Hoasca. In: J. COSTA, **Hoasca: Ciência, Sociedade e Meio Ambiente** Campinas SP: Mercado de Letras. 2011. p.269-289.
- CRAAG, G. M.; NEWMAN, D. J.; YANG, S. S.. Natural product extracts of plant and marine origin having antileukemia potential. The NCI experience. **Journal of Natural Products**, v.69, n.3, p.488-498, 2006.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981, 1261p.
- DELACHIAVE, M. R. Efeitos alelopáticos de losna (*Artemisia absinthium* L.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.265-269, 1999.
- DELPRETE, P. **Progresso na classificação das Rubiaceae durante os últimos dez anos**. In: 55º Congresso Nacional de Botânica Viçosa MG.CD-ROM. 2004.
- DOURADO, R. **Isolamento de compostos secundários em extratos de caules e folhas de *Hypericum cordatum* (Vell Conc) N. Rolson (Clusiaceae)**. 2006. 97p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) Instituto de Botânica de São Paulo. São P'aulo, 2006.
- DUKE, S.; OLIVA, A. Mode of Action of Phytotoxic Terpenoids. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J. C.G.; MOLINILLO, J.M.G.;

- CUTLER, H.G. **Allelopathy: Chemistry and Mode of Action Allelochemicals** Boca Raton: CRC Press. p. 201-216, 2004.
- DURIGAN, J.; ALMEIDA, F. **Noções sobre alelopatia**. Jaboticabal: FUNEP. 1993. 28p.
- EBERLEIN, C.V. Germination of *Sorghum almum* seeds and longevity in soil. **Weed Science**, n.35, p.796-801, 1987.
- EINHELLIG, F. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, v.88, n.6, p.886-893, 1996.
- EINHELLIG, F. Mode of action of phenolic compounds. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J. C.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CUTLER, H.G. **Allelopathy: Chemistry and Mode of Action Allelochemicals** Boca Raton: CRC Press. 2004. p.217-238.
- FARIA, E.O. **Estudo fitoquímico das folhas da espécie *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerl (Rubiaceae)**. 2009. 131p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2009.
- FARIAS, F. ***Psychotria myriantha* Mull Arg. (Rubiaceae): caracterização dos alcalóides e avaliação das atividades anti-quimiotáxica e sobre o sistema nervoso central**. 170p. Tese (Doutorado em Ciência farmacêutica) UFRS, Porto Alegre. 2006.
- FERNANDES, L.A.V.; MIRANDA, D.L.C.; SANQUETA, C.R. Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze. **Revista Acadêmica**, v.5, n.2, p.139-146, 2007.
- FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Edição especial, v. 12, p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, A. Interferência: Competição e Alelopatia. In: A. FERREIRA, **Germinação: Do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 2004. p. 252-253.
- FERREIRA, A.; BORGHETTI, F.. **Germinação: Do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 2004, 323p.
- FERREIRA, M.; OLIVEIRA, A.; SANTOS, N.. Flavonas Flavonóis: Novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agroambiente On line**, v.2, n.2, p.57-60, 2008.
- FRESCURA, V.D.S. **Avaliação do potencial antiproliferativo, Genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae)**. 2012. 73p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Santa Maria, RS, Brasil. 2012.
- FUJII, Y.; HIRADATE, S. **Allelopathy: New concepts & methodology**. Enfield: Science Publishers. 2007. 398p.
- GABOR, W. E.; VEATCH, C. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. **Weed Science**, v.29, p.155-159, 1981.

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**, Porto alegre, v.5, p.174-176, 2007.

GATTI, A.; PEREZ, S.; LIMA, M.. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esmeralda* O. Kuntze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasílica**, v.18, n.3, p.459-472. 2004.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: UFRGS. 2000. 637p.

GLOBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influencia no conteúdo de metabolitos secundarios. **Quimica Nova**, v.30, n.2, p.374-382, 2007.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopátia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n.1. p.23-28. 2009.

GOTTLIEB, D.; KAPLAN, M.; BORIN, M. **Biodiversidade um enfoque Químio-Biológico**. UFRJ, 1996. 268 p.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; RUHSAM, M.; BRIDSON, D. M. e DAVIS, A. P. **World checklist & bibliography of Rubiaceae**. The Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. 2007.

HADACEK, F. Secondary Metabolites as Plants Traits: current assesment and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.21, n.4, p.272-322. 2002.

HAMILTON, C. Variation on a distylous Theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v.55, p.62-75. 1990.

HARBONE, J. P. Plant secondary metabolism. In: CRAWLEY, M. **Plant Ecology**. Blackwell Science Ltda. 1997. p. 132-155.

HIERRO, J.; CALLAWAY, R. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v.256, p.29-39, 2003.

HOFFMANN, C. E. F. das NEVES, L. A. S. BASTOS, C. F. WALLAU, G. da L. Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L. e *Dieffenbachia picta* schott em sementes de *Lactuca Sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.6, n.1, p.11-21, 2007.

HONG, N. H.; XUAN, T. D.; EIJI, T.; KHANH, T. D. Paddy weed control by higher plants from Southeast Asia. **Crop Prot.** v.23, p.255-261. 2004.

INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. **The Botanical Review**, v.62, n.2, p.186-202. 1996.

INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M. On laboratory bioassays in Allelopathy. **The Botanical Review**, v.61, n.1, p 28-44, 1995.

- JAVOID, A.; SHAFIQUE, S.; BAJWA, R.; SHAFIQUE, S. Effect of aqueous extracts of allelopathic crops on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. **South African Journal of Botany**, v.72, n.4, p.609-612, 2006.
- JEFFERSON, L.; PENNACCHIO, M.. Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. **Journal of Arid Environments**, v.55, n.2, p.275-285, 2003.
- KHANH, T. D. The exploitation of crop allelopathy in sustainable agricultural production. **Journal Agronomy and Crop Science**, v.191, n.3, p.172-184, 2005.
- KLIMACZEWSKI, C.V.; SARAIVA, R.A.; ROOS, D.H.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; KAMDEM, J.P.; BARBOSA, N.V.; ROCHA, J.B.T. Antioxidant activity of *Peumus boldus* extract and alkaloid boldine against damage induced by Fe(II)- citrate in rat liver mitochondria in vitro. **Industrial Crops and Products**, v.54, p.240-247, 2014.
- KIM, Y.; JOHNSON, J; LEE.E.J. Phytotoxicity of *Phytolacca americana* leaf extracts on the growth and physiological response of *Cassia mimosoides*. **Journal of Chemical Ecology**, v.31, n.12, p.2963-2974, 2005.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2004. 531p.
- LEAL, M.; ELISABETSKY, E. Oipoid-like activity of *Psychotria brachypoda*. **International Journal Pharmacognosy**, v.34, n.4, p.267-272, 1996.
- LEATHER, G.; EINHELLIG, F. Bioassay of naturally occurring allelochemical for phytotoxicity. **Journal of Chemical Ecology**, v.14, n.10, p.1821-1828, 1988.
- LIWIAZYC, G. Daime- A Ritual Herbal potion. **Journal Ethnopharmacol**, v.36, n.1 p.91-92, 1992.
- LOPES, L. **Biologia reprodutiva de *Psychotria suterella* (Rubiaceae): Efeitos da fragmentação de habitat e de conexão estrutural**. 2002. 62p. Dissertação de (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade de São Paulo. 2002.
- LOPES, S.; VON POSER, G. L.; KERBER, V. A.; FARIAS, F. M.; KORANTH, E. L.; MORENO, P.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J.A.S.; HENRIQUES, A.T. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe *Psychotria* e (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p.1187-1195, 2004.
- LORENZI, H. Manual de identificação e controle de plantas. In: LORENZI, H. **Plantio direto e convencional**. Nova Odessa: Plantarum. 2000 383p.
- MABBERLEY, D.J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. Cambridge University Press, Cambridge. 1997.
- MACÍAS, F.A.; MOLINILLO, J.M.; VARELLA, R.M.GALINDO, J.C. Allelopathy a natural alternative for weed Control. **Pest Management Science**, v.63, n.4, p. 327-348, 2007.

- MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CUTLER, H.G. 2003. **Allelopathy**: chemistry and mode of action of allelochemicals. Boca Raton: CRC Press, 392p.
- MACIAS, F.A.; GALLINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. Plant biocommunicators: Application of allelopathic studies. In: **2000 Years of Natural Products Research Past, Present and Future**, Ed Teus J.C. Luijendijk, Phytoconsult. 2000. p. 137-161.
- MALHEIROS, A.; PERES, M. Alelopatia: Interações químicas entre espécies. In: R. YUNES, & J. CALIXTO, **Plantas Medicinais**: sob a ótica da química medicinal moderna, Chapecó: Argos. 2001. p.503-521.
- MANACH,; MORAND,C.; DEMIGNÉ,C.; TEXIER,O.; RÉGÉRAT,F.;RÉMÉSY,C. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. **Federation of European Biochemical Societies Letter**, v. 409, n.1, p.12-16, 1997.
- MANO, A. R. O. **Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação e desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho**. 2006. 102f. Dissertação (Mestrado em agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
- MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M.E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e Crescimento inicial de *Lactuca sativa*. (Asteraceae). **Acta Botânica. Brasília**, v.20, n.1, p.61-69. 2006.
- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira Botânica**, v.26, n.2, p.231-238, 2003.
- MCKENNA, D. J.; TORRES, J.H.; ABBOTT, F. Monoamino Oxidase inhibitors in South American Hallucinogenic Plants: Tryptamine and β -Carboline constituents of Ayahuasca. **Journal Ethnopharmacol**, v.10, n.2, p.195-223, 1984.
- MEDEIROS, A. R. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Revista Hortisul**, v.1, p.27-32, 1990.
- MEDEIROS, A.R. **Determinação de potencialidade alelopáticas em agroecossistemas**. 1989. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1989.
- MELO, C.; BENTO, E.; OLIVEIRA, P. Frugivory and dispersal of *Faramea cyanea* (Rubiaceae) in Cerrado woody plant formations. **Brazilian Journal of Biology**, v.63, n.1, p.75-82, 2003.
- MENDONÇA, A. C. A. M. Rubiaceae na Floresta Nacional Araripe-Apodi, Crato, Ce. 2012. 124p. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular). Universidade Regional do Cariri. Crato- CE. 2012.
- MILLER, D.A. Allelopathy in forage crop systems. **Journal Agronomy**, v.88, n.6, p.854-859, 1996.

MORELLATO, L. P. C. Sazonalidade e dinâmica de ecossistemas florestais na Serra do Japi. In: L. P. C. Morellato (Org.), **História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil**. Editora da Unicamp, Campinas. 1992. p.98-110.

MULLER, C. Allelopathy as a factor in ecological process. **Vegetatio**, v.18, n.1-6, p.348-357, 1969.

NOLDIN, V. M.; YUNES, R. Compisição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultiada no Brasil. **Química Nova**, v.26, n.3, p.3331-334, 2003.

OLIVEIRA- BASTISDAS, A. J. El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. **Química Viva**, v.7, n.1, p.1-34, 2008.

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

OLIVEIRA, S.; FERREIRA, A.; BORGHETTI, F. Efeito alelopatico de folhas de *Solanum lycocarpum* St.Hill. (Solonaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.3, p.401-406, 2004.

OUDEN, J. The allelopathic nature of bracken. In: J. OUDEN, **The role of bracken (*Pteridium aquilinum*) in forest dunamics**. Molenaarsgraaf: Esveco. 2000. p.107-128.

PELLISSIER, F.; SOUTO, C. Allelopathy in northern temperate and boreal semi natural woodland. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.637-652, 1999.

PEPIN, G.; DUFFORT, G. Ayahuasca: liane de l'âme, chamanes et soumission chimique. **Annales de Toxicologie Analytique**, v. XVI, n.1, p.76-84, 2004.

PETERSEN, J. et al. Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rap mulch. **Agronomy Journal**, v.93, p.37-43, 2001.

PINTO, A. V.; BOLZANI,D.H.S.S.;LOPES,N.P.;EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais:Atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, n.1, p.145-61, 2002.

PINTO, D.; TOMAZ, A. C.; TAVARES, J. F.; TENORIO-SOUZA, F. H.; DIAS, C. S.; BRAZ-FILHO, R.; CUNHA, E.V.L. Secondary metabolite isolated from *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p.367-372, 2008.

PIRES, N.M.; PRATES, H.T.; PEREIRA FILHO, I.A.; OLIVEIRA.R.S.; FARIA, T.C.L. Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.61-65, 2001.

PIRES, R.M.O.; FRANÇA, A.C.; NERY,M.C.; SILVA, L.H.M.C.; SANTOS, S.R.; REIS, R.R.F.;REIS, L.A.C. **Potencial alelopático de cascas de café no crescimento**

de plantas. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. p.1082-1086, 2010.

POULI, B.; WRIGHT, S.; LEFEBVRE, G.; CALDERÓN, O. Interspecific synchrony and asynchrony in the fruiting phenologies of congeneric bird-dispersed plants in Panama. **Journal of Tropical Ecology**, v.15, n.2, p.213-227, 1999.

PRABHAKAR, M.C. BANO, H.; KUMAR, I.; SHAMSI, M.A.; KHAN, S.Y. Pharmacological Investigations on Vitexin. **Planta Medica**. v.43,n.4 p. 396-403, 1981.

PREMASTHIRA, C.; ZUNGSONTIPORN, S. bioeficácia de gergelim. In: CONGRESSO MUNDIAL DE alelopatia, 1996, Cádiz: International Society alelopatia, 1996. p.264. PUTNAM, A; DUKE, W.B. Allelopathic in agroecosystems. **Annual Reviews Phytopathol**, v.16, p.431-451, 1978.

QIMING, X.; CHEN, H.; ZOU, H.; YIN, D. Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on *Microcistina aeruginosa*. **Acta Ecologica Sinica**, v.26, n.11, p.3549-3554, 2006.

QUINTEIRO, M.M.C.; TEIXEIRA, D.C.; MORAES, M.G.; SILVA, J.G. Anatomia foliar de *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae). **Revista Universidade Rural**, v.26, p.30-41, 2006.

RAVEN, P., EVERT, R.; EICHHORN, S. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2010. 850p

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

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

RIZVI, S.G.H.; RIZVI, V. (Eds.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. Chapman and Hall, London. 1992.480p.

ROBBRECHT, E. National Botanic Garden of Belgium **Manographic and systematic studies in Rubiaceae Bélgica**. Disponível em: <http://www.br.fgov.be/RESEARCH/PROJECTS/rubiaceae.html> Acesso em: 22 Set.de 2014.

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

RODRIGUES, M.S.; PERON, F.; BIDO, G.S. LÚCIO, L.C. Avaliação do efeito alelopático do extrato aquoso de *Coffea arabica* L. Sobre o desenvolvimento inicial de soja (*Glycine max* (L.) Merr.). **Anais Eletrônicos VIII EPCC – Encontro I Internacional de Produção Científica Cesumar CESUMAR – Centro Universitário de Maringá Editora CESUMAR Maringá – Paraná – Brasil, 2011.**

ROY, M.M. Effects of pH on germination of *Dichrostachys cineria* (L.). Wegth e Arn. **Journal Tree Science**, v.5, p.62-64, 1986.

SALIS, S. M.; ZICKEL, C. S.; TAMASHIRO, J. Y. Fitossociologia do sub-bosque da mata da Reserva Municipal de Santa Genebra, Campinas (Estado de São Paulo). **Naturalia**, v.21, p.171-180, 1996.

SAMPIETRO, D.A. Alelopatía. Hipertextos del área de la biología. Disponível em:<http://fai.unne.edu.ar/biologia/plantas/alelopatia.htm>. Acesso em: 25 Set.de 2014.

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

SANTOS, S. **Potencial Alelopático e Avaliação Sistemática de Compostos Secundários em Extratos Provenientes de *Canavalia ensiformis* Utilizando Eletroforese Capilar**. 2004. 185f. Tese (Doutorado em química analítica) Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Carlos 2004.

SCHULTES, R. E.; HOFMANN, A. **Plantas de los Dioses**: orígenes del uso de los alucinógenos. México: Fondo de Cultura Económica, 1993. 192p.

SÉRPICO, R.; CAMURÇA, D. **Ayahuasca: Revisões teoricas e considerações botânicas spbre as espécies de *Banisteriopsis caapi* Morton e *Psychotria viridis* Ruiz & Pavon**. 37p. Guarulhos SP: Monografia (Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas). Universidade de Guarulhos, Guarulhos SP, 2006.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZZ, L.A.; PETROVICK P.R. **Farmacogogia: Da planta ao medicamento**. 6ª edição, Porto Alegre. UFRGS, 2010, 1104p.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Allelopathy in agroecosystems: a overview. **Journal of Crop Production**, v.4, n.2, p.1-41, 2001.

SOUZA- FILHO, A.; ALVES, S. Mecanismo de liberação e comportamento de aleloquímicos no ambiente. In: SOUZA- FILHO, A.; ALVES, S. **Alelopatia: princípios basicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazonia Oriental. 2002. p. 131-154.

SOUZA FILHO, A.P.S.; RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D. Efeito do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.2, p.165-170, 1997.

SOUZA FILHO, A.P.S.; SANTOS, R.A.; SANTOS, L.S.; GUILHON, G.M.P.; SANTOS, A.S.; ARRUDA, M.S.P.; MULLER, A.H.; ARRUDA, A.C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta daninha**, v.24, n.4, p.649-656, 2006.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MAIOMONI-RODELLA, R.C.S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, v.21, n.3, p.343-354, 2003.

SOUZA, S. A. M.; CATTELAN, L. V.; VARGAS, D. P.; PIANA, C. F. de B.; BOBROWSKI, V. L.; ROCHA, B.H.G. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul sobre a germinação de sementes de alface. **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, v.11, n.3, p. 29-38, 2005.

SOUZA, V.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. Nova Odessa- SP: Instituto Plantarum. 2008,704p.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 2009. 820p.

TAYLOR, C. M. *Psychotria* L. In: Wanderley, M. das G. L. (Coord.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. FAPESP: Rima, São Paulo, v. 5, p. 259-460, 2007.

TAYLOR, C.; M. GOMES; ZAPPI, D. *Psychotria* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB24581>>. Acesso em: 20 Set. 2014

TAYLOR, C.M. Overview of Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Botanica Belgica**, v.7, p.261-270, 1996.

THARAYIL, N.; TRIEBWASSER, D. Elucidation of a diurnal pattern of catechin exudation by *Centaurea stoebe*. **Journal of Chemical Ecology**, v.36, n.2, p.200-204, 2010.

TROPICOS. *Psychotria*. Disponível em: <http://www.tropicos.org/MapsCountry.aspx?maptype=4&lookupid=27902202>
Acesso em: 12 Set.de 2014.

VETTER, J. Plant cyanogenic glycosides. **Toxicon**, v.38, n.1, p.11-36, 2000.

VIEGAS-JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para controle químico de insetos. **Química Nova**, v.26, n.3, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, M.; PEREIRA, Z.; CARVALHO-OKANO, R. Fenologia da floração, morfolgia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distilicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, n.3, p.471-480, 2006.

ZHAO, H.L.; QIANG, W.; XIAO, R.; CUN-DE, P.; DE-AN J. Phenolics and Plant Allelopathy. **Molecules**, v.15, p.8933-8952, 2010.

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

WHITTAKER, R.H.; FEENY, P.P. Allelochemicals: chemical interactions between species. **Science**, v.71, n.3973, p.757-770, 1971.

WOODSON, L.C.; AMES, M. M.; SELASSIE, C. D.; HANSCH, C.; WEINSHILBOUM R. M. Thiopurine methyltransferase. Aromatic thiol substrates and inhibition by benzoic acid derivatives. **Molecular Pharmacology** v.24, n.3, p.471-478, 1983.

YANG, C.; ZHANG, Y.; JACOB, M.; KHAN, S.; ZHANG, Y.; LI, X. Antifungal Activity of C-27 Steroidal Saponins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.50, n.5, p.1710-1714, 2006.