

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA
E RECURSOS NATURAIS – PPGDR

PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE
ESPÉCIES DE *Cordia* A. RICH. ex. DC. (RUBIACEAE) SOBRE
Cenchrus echinatus L. (POACEAE)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MARCIO PEREIRA DO NASCIMENTO

CRATO-CE

2022

MARCIO PEREIRA DO NASCIMENTO

**PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE
ESPÉCIES DE *Cordia* A. RICH. ex. DC. (RUBIACEAE) SOBRE *Cenchrus
echinatus* L. (POACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais da Universidade Regional do Cariri, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva

CRATO-CE

2022

Ficha Catalográfica elaborada pelo autor através do sistema
de geração automático da Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri - URCA

Do Nascimento, Marcio PEREIRA

244p PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE ESPÉCIES
DE Cordiera A. RICH. ex. DC. (RUBIACEAE) SOBRE Cenchrus echinatus L.
(POACEAE) / Marcio PEREIRA Do Nascimento. CRATO-CE, 2022.

73p. il.

Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos
Naturais da Universidade Regional do Cariri - URCA.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a MARIA ARLENE PESSOA DA SILVA

1.ALELOPATIA, 2.CITOTOXICIDADE, 3.CITOGENÉTICA; I.Título.

CDD: 571

MARCIO PEREIRA DO NASCIMENTO

**PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE
ESPÉCIES DE *Cordia* A. RICH. ex. DC. (RUBIACEAE) SOBRE *Cenchrus
echinatus* L. (POACEAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada e aprovada pela Banca Examinadora em:
02/12/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Universidade Regional do Cariri – URCA
(Orientadora)

Prof. Dr. Luiz Marivando Barros
Universidade Regional do Cariri - URCA
(Membro Avaliador Interno)

Prof. Dr. Thales Silva Coutinho
Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT
(Membro Avaliador Externo)

Prof.^a Dra. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues
Universidade Regional do Cariri – URCA
(Membro Suplente Interno)

Prof.^a Dra. Cláudia Araújo Marco
Universidade Federal do Cariri – UFCA
(Membro Suplente Externo)

*Á minha irmã Lucineide por todo apoio e
companheirismo e à minha mãe Jaci, que
não teve as mesmas oportunidades que eu,
mas que soube ser forte, batalhar pelos
filhos e fez o possível para que eu estivesse
onde estou. Pelo exemplo de vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir realizar essa etapa da minha formação! Por sempre estar comigo me fortalecendo e me enchendo com sua proteção e misericórdia.

À Universidade Regional do Cariri – URCA pelo espaço cedido durante esse tempo.

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais – LPPN, em especial o professor Dr. Galberto Martins da Costa, à Dra. Débora Odília e à doutoranda Janaine Camilo, por suas orientações e auxílio com a parte química desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR) pela oportunidade de realização do mestrado e à todos os professores pelos ensinamentos transmitidos e contribuição para o meu crescimento pessoal e profissional.

Especialmente agradeço à minha orientadora Prof^a. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva, pelo acolhimento e por muitas vezes, mesmo sem saber, atuar como uma pessoa protetora a quem serei eternamente grato. Obrigado pelas valiosas contribuições para o desenvolvimento deste trabalho!

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas sugestões dadas para aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e apoio financeiro para a realização da pesquisa.

À minha mãe Jaci, por ser a melhor mãe do mundo e a pessoa mais importante da minha vida. A ti de toda minha gratidão!

Às minhas irmãs, Edneide e Ivaneide, principalmente Lucineide por todo apoio que me deram no decorrer do curso e da vida.

Ao prof. Marcos Aurélio pela grande ajuda com os testes e campos, pelos conselhos e pelos momentos de descontração. Muito obrigado, meu amigo! Que Deus possa lhe pagar tudo que já fez por mim.

À minha amiga Luciana Fernandes pela grande e valiosa amizade de milhões. You are my person!

À Natalia Barbosa por ter sido tão presente e me ajudado bastante descascando os carrapichos, com os testes, mapas, entre outras coisas. Obrigado, amiga!

Agradeço à Flaudilane Pereira, amiga recente que a vida me deu, mas que eu confio de todas as maneiras, parceira de muitos momentos. Admiro sua força demais!

Ao Bruno, Anderson e Mariana por terem ajudado nos testes, a ajuda de vocês foi de grande importância neste trabalho.

À secretária do mestrado Francisca Brito (Francy) por sempre me receber com muito carinho.

Por fim, não menos importante, ao quinteto que faço parte, pelas confidências vividas nesses dois anos de mestrado, pelos escapamentos psicológicos e descontração. Walber, Joice, Roberta e Renatinha, adoro vocês!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 ALELOPATIA	18
3.2 FITOTOXICIDADE: MECANISMO, MODO DE AÇÃO E VIAS DE LIBERAÇÃO DOS ALELOQUÍMICOS.....	19
3.3 CITOGENÉTICA	20
3.4 PLANTAS DANINHAS E <i>Cenchrus echinatus</i> L. (POACEAE).....	21
3.5 FAMÍLIA RUBIACEAE JUSS E O GÊNERO <i>Cordia</i> A. Rich. ex DC..	23
3.5.1 <i>Cordia rigida</i> (K.SCHUM.) KUNTZE	24
3.5.2 <i>Cordia myrciifolia</i> (K.SCHUM.) C.H.PERSS. & DELPRETE	25
3.5.3 <i>Cordia sessilis</i> (VELL.) KUNTZE.....	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO.....	29
4.2 EXTRATO AQUOSO POR INFUSÃO (EAI).....	30
4.3 EXTRATO AQUOSO BRUTO (EAB).....	30
4.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS (PH E OSMOLARIDADE).....	31
4.5 BIOENSAIOS DE GERMINAÇÃO.	31
3.6 ÍNDICE MITÓTICO	32
4.7 ANÁLISES QUÍMICAS	33
4.7.1 TESTES QUALITATIVOS.....	33
4.7.2 QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL.....	33
4.7.3 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR TOTAL DE FLAVONOÍDES	34
4.7.4 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECTOR DE MATRIZ DE DIODOS (HPLC-DAD).....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1 ANÁLISES QUÍMICAS	35

5.2 ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	40
5.3 EFEITOS CITOTÓXICOS DO EXTRATO AQUOSO BRUTO (EAB) DE <i>Cordia</i> spp. SOBRE <i>C. echinatus</i>	42
5.4 EFEITOS CITOTÓXICOS DO EXTRATO AQUOSO POR INFUSÃO (EAI) DE <i>Cordia</i> spp. APLICADOS AO CARRAPICHO.....	46
5.5 ÍNDICE MITÓTICO	50
5.5.1 ÍNDICE MITÓTICO E ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS DAS CÉLULAS DAS RADÍCULAS DE <i>Cenchrus echinatus</i> SUBMETIDAS AO EXTRATO AQUOSO BRUTO DE <i>C. myrciifolia</i> , <i>C. sessilis</i> e <i>C. rigida</i>	50
5.5.2 ÍNDICE MITÓTICO E ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NAS CÉLULAS DAS RADÍCULAS DE <i>Cenchrus echinatus</i> SUBMETIDAS AO EXTRATO POR INFUSÃO DE <i>C. myrciifolia</i> , <i>C. sessilis</i> e <i>C.</i> <i>rigida</i>	54
6. CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS	60
APÊNDICES	69
ANEXOS	70

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

σ	Sigma (Desvio Padrão)
%	Porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
\leq	Maior ou Igual
\geq	Menor ou Igual
°	Graus
*	Asterisco
=	Igual
X	Vezes
Π	Pí
μL	Microlitros
g	Gramas (s)
HCDAL	Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima
EAI	Extrato Aquoso por Infusão
rpm	Rotações por minuto
mg	Miligramas
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro (s)
n°	Número
°C	Grau Celsius
MPa	Megapascal
IM	Índice Mitótico
CE	Ceará
pH	Potencial Hidrogeniônico
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
URCA	Universidade Regional do Cariri
HCL	Ácido clorídrico
NaOH	Hidróxido de sódio
Tabs	Temperatura absoluta em graus Kelvin.
LOD	Limite de Detecção
LOQ	Limite de Quantificação
nm	Nanômetro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Espécies de <i>Cordia</i> utilizadas com os respectivos locais de coleta, coletor e número de registro	30
Tabela 2- Prospecção fitoquímica qualitativa do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) e do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de <i>Cordia myrciifolia</i> , <i>Cordia sessilis</i> e <i>Cordia rigida</i>	36
Tabela 3- Quantificação de fenóis totais e flavonóides totais das folhas de <i>Cordia myrciifolia</i> , <i>Cordia sessilis</i> e <i>Cordia rigida</i>	37
Tabela 4- Quantificação por HPLC/DAD de ácidos fenólicos e flavonoides de extratos aquosos das espécies do gênero <i>Cordia</i>	39
Tabela 5- Valores do pH do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) e do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de <i>Cordia myrciifolia</i> , <i>Cordia sessilis</i> e <i>Cordia rigida</i>	41
Tabela 6- Valores do potencial osmótico do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) e do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de <i>Cordia myrciifolia</i> , <i>Cordia sessilis</i> e <i>Cordia rigida</i> nas diversas concentrações.	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mecanismo de interferência das plantas (competição e alelopatia) e das vias de liberação dos aleloquímicos.....	20
Figura 2- <i>Cenchrus echinatus</i> L. - Crato - CE, Brasil. (A) Hábito (B) Frutos.....	23
Figura 3- <i>Cordia rigida</i> (K.Schum) Kuntze - Crato - CE, Brasil. (A) Hábito; (B) Frutos.....	24
Figura 4- <i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete -Crato - CE, Brasil. (A) Hábito; (B) Folhas; (C) Flor; (D) Fruto.	26
Figura 5- <i>Cordia sessilis</i> K.Schum. - Crato - CE, Brasil. (A) Hábito; (B) Frutos	28
Figura 6- Localização dos pontos de coleta de <i>Cordia myrciifolia</i> , <i>Cordia sessilis</i> e <i>Cordia rigida</i> em Crato, Ceará, Brasil	29
Figura 7- Perfil representativo de cromatografia líquida de alta eficiência dos extratos aquosos de espécies do gênero <i>Cordia</i>	38
Figura 8- Número de sementes germinadas de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	43
Figura 9- Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetido ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	44
Figura 10- Comprimento das radículas de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	45
Figura 11- Comprimento dos caulículos de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	46
Figura 12- Comprimento dos folíolos de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	46
Figura 13- Número de sementes germinadas de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	47

Figura 14- Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	48
Figura 15- Comprimento das radículas de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	49
Figura 16- Comprimento dos caulículos de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	50
Figura 17- Comprimento dos folíolos de <i>Cenchrus echinatus</i> L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia rigida</i> e (C) <i>Cordia sessilis</i>	51
Figura 18- Índice Mitótico das células meristemáticas radiculares de carrapicho submetidas ao Extrato Aquoso Bruto de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia sessilis</i> e (C) <i>Cordia rigida</i>	52
Figura 19- Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso Bruto de <i>Cordia myrciifolia</i> nas concentrações de 25% (A - I); 50% (J - Q); 75% (R - U) e 100% (V).....	54
Figura 20- Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso Bruto de <i>Cordia sessilis</i> nas concentrações de 25% (A - D); 50% (E - F); 75% (G - H); 100% (I).....	55
Figura 21- Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso Bruto de <i>Cordia rigida</i> nas concentrações de 25% (A - C); 50% (D - I); 75% (J - M); 100% (N - R)	56
Figura 22- Índice Mitótico médio das células meristemáticas de carrapicho submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) <i>Cordia myrciifolia</i> , (B) <i>Cordia sessilis</i> e (C) <i>Cordia rigida</i>	57
Figura 23- Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso por Infusão de <i>Cordia myrciifolia</i> nas concentrações de 25% (A - E); 50% (F - I); 75% (J - N) e 100% (O - S)	58
Figura 24- Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso por Infusão de <i>Cordia sessilis</i> nas concentrações de 25% (A - H); 50% (I - P); 75% (Q - S) e 100% (T - X)	60

Figura 25- Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia rigida* nas concentrações de 25% (A - B); 50% (C - G); 75% (H - J) e 100% (K - L)..... 61

RESUMO

Alguns compostos químicos produzidos através do metabolismo secundário das plantas, são responsáveis pela ação alelopática observada em várias espécies, entre as quais, as pertencentes a família Rubiaceae. As plantas que germinam e crescem de forma espontânea em locais indesejados são consideradas como daninhas. Dentre essas espécies, destaca-se *Cenchrus echinatus* L; (carrapicho) considerada altamente nociva por apresentar um elevado potencial competitivo, podendo causar danos diretos e indiretos em diversas culturas. Dentro deste contexto com o presente trabalho objetivou-se avaliar o perfil fitoquímico e atividade alelopática de *Cordia myrciifolia* (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete, *Cordeira sessilis* (Vell.) Kuntze e *Cordia rigida* (K.Schum.) Kuntze sobre a germinação de sementes e crescimento da espécie invasora *Cenchrus echinatus* L. (Poaceae). O perfil químico foi identificado qualitativamente a partir da metodologia proposta por Matos (1997) e quantitativamente analisando os fenóis totais e flavonóides totais e também pelo processo de cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Matriz de Diodos (HPLC-DAD). Os tratamentos constaram do Extrato Aquoso Bruto (EAB) e do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) das folhas das três espécies de *Cordia*. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação do tipo BOD a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas por cinco dias. Avaliaram-se, a porcentagem de germinação, o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), os comprimentos das radículas, dos caulículos e folíolos, o Índice Mitótico e a ocorrência de aberrações cromossômicas. As espécies de *Cordia* foram caracterizadas quimicamente por HPLC apresentando em sua composição ácido gálico, ácido citrogênico, ácido cafeico, vanilina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina e quercetina. Dentre as três espécies doadoras, *Cordia myrciifolia* foi a que apresentou um efeito alelopático, mais expressivo interferindo de forma negativa sobre todos os parâmetros analisados junto as sementes e plântulas de *Cenchrus echinatus* submetidas aos dois extratos utilizados. O Extrato Aquoso Bruto das três espécies de *Cordia* apresentou um efeito mais expressivo que o Extrato Aquoso por Infusão na germinação e desenvolvimento de *Cenchrus echinatus*. Quanto a análise citotóxica, tanto o Extrato Aquoso Bruto quanto o Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida* estimularam o Índice Mitótico e promoveram a proliferação de células em divisões, em sua maioria contendo aberrações cromossômicas o que influenciou na inibição do desenvolvimento da radícula de *Cenchrus echinatus*. Os resultados podem subsidiar pesquisas futuras com vistas ao uso das espécies de *Cordia* como herbicida natural no controle do carrapicho e possivelmente de outras espécies daninhas.

Palavras-chave: Alelopatia; Citotoxicidade; Citogenética.

ABSTRACT

Some chemical compounds produced through the secondary metabolism of plants are responsible for the allelopathic action observed in several species, including those belonging to the Rubiaceae family. Plants that germinate and grow spontaneously in unwanted locations are considered weeds. Among these species, *Cenchrus echinatus* L stands out; (butterbur) considered highly harmful because it has a high competitive potential and can cause direct and indirect damage to several crops. Within this context, the present work aimed to evaluate the phytochemical profile and allelopathic activity of *Cordia myrciifolia* (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete, *Cordia sessilis* (Vell.) Kuntze and *Cordia rigida* (K.Schum.) Kuntze on seed germination and growth of the invasive species *Cenchrus echinatus* L. (Poaceae). The chemical profile was identified qualitatively from the methodology proposed by Matos (1997) and quantitatively by analyzing the total phenols and total flavonoids and also by the process of High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector (HPLC-DAD). The treatments consisted of the Crude Aqueous Extract (EAB) and the Aqueous Extract by Infusion (EAI) of the leaves of the three species of *Cordia*. The experiments were carried out in a BOD-type germination chamber at 25 °C and a 12-hour photoperiod for five days. The percentage of germination, the Germination Speed Index (GVI), the lengths of the radicles, stems and leaflets, the Mitotic Index and the occurrence of chromosomal aberrations were evaluated. The *Cordia* species were chemically characterized by HPLC showing in their composition gallic acid, citrogenic acid, caffeic acid, vanillin, p-coumaric acid, ferulic acid, rutin and quercetin. Among the three donor species, *Cordia myrciifolia* was the one that presented the most expressive allelopathic effect, interfering negatively on all the parameters analyzed with the seeds and seedlings of *Cenchrus echinatus* submitted to the two extracts used. The Crude Aqueous Extract of the three species of *Cordia* showed a more expressive effect than the Aqueous Extract by Infusion on the germination and development of *Cenchrus echinatus*. As for the cytotoxic analysis, both the Crude Aqueous Extract and the Infusion Aqueous Extract of *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* and *Cordia rigida* stimulated the Mitotic Index and promoted the proliferation of cells in divisions, most of them containing chromosomal aberrations, which influenced the inhibition of the radicle development of *Cenchrus echinatus*. The results can support future research with a view to the use of *Cordia* species as a natural herbicide in the control of butterflies and possibly other weed species.

Keywords: Allelopathy; Cytotoxicity; Cytogenetics.

1. INTRODUÇÃO

A alelopatia é definida como um fenômeno promovido por compostos químicos produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais e que, quando liberados no ambiente, influenciam o desenvolvimento de outras plantas podendo se manifestar de forma benéfica ou prejudicial (RICE, 1984; XAVIER *et al.*, 2019). Essas substâncias são denominadas aleloquímicos, os quais estão divididos em diferentes categorias de compostos tais como, fenóis, terpenos, alcaloides, polietilenos, ácidos graxos, peptídeos, entre outros (PEREIRA *et al.*, 2018).

Os aleloquímicos são encontrados em diversas partes da planta, sendo que sua distribuição não é uniforme, com registros de sua ocorrência em folhas, raízes, frutos, cascas e sementes onde são encontrados em concentrações distintas segundo o ciclo de vida do vegetal (CARVALHO, 1993; ALVES; SOUSA, 2002).

Tais compostos são liberados no ambiente em sua volta por várias vias, com a exsudação das raízes no solo; lixiviação provenientes da parte aérea das plantas; Pela decomposição dos resíduos vegetais ou também pela volatilização das substâncias no ar (SOUSA FILHO, 2006), que podem comprometer o processo germinativo, interferir no desenvolvimento inicial, nos processos fisiológicos e também nos fatores genéticos de plantas circunvizinhas (HARUN *et al.*, 2014), como consequência, podem afetar drasticamente tanto os ambientes naturais e artificiais (diversidade vegetal, lavouras, sistemas agroflorestais entre outros).

Quando as plantas germinam e crescem espontaneamente de forma indesejadas são consideradas daninhas. Dentre essas espécies, destaca-se *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho) pertencente à família Poaceae, gramínea anual, que se desenvolve espontaneamente em todo território nacional. Essa espécie é considerada altamente nociva por apresentar um elevado potencial competitivo, podendo causar danos diretos e indiretos às culturas (LORENZI, 2014; FMCAGRÍCOLA, 2011; DAN *et al.*, 2011).

Espécies invasoras são consideradas uma grande ameaça à biodiversidade, por sua capacidade de modificar os sistemas naturais em vários fatores (ZILLER, 2006). Quando em uma determinada cultura existe a presença de plantas daninhas, estabelece-se uma influência dessas diretamente no crescimento e desenvolvimento das raízes da cultura, interferindo na utilização dos recursos do solo (BRAGA, 2018). É necessário,

portanto, combatê-las quer nos ambientes agrícolas quer nos ambientes naturais, o que tem sido feito exaustivamente com o uso indiscriminado de agrotóxicos.

O uso de agrotóxicos no controle de plantas daninhas ocasiona diversos prejuízos ao ambiente, logo, a alelopatia oferece uma nova perspectiva, uma vez, que compostos químicos liberados por plantas que podem atuar como bioherbicidas e causar menos impactos ao meio. Assim, pesquisas voltadas para esse fenômeno têm recebido cada vez mais atenção da classe científica nas últimas décadas (REIGOSA, 2013; HIERRO; CALLAWAY, 2003; NEGI *et al.*, 2016).

A alelopatia é um fenômeno inerente à diversas espécies do Cerrado (MARCHI *et al.*, 2017; GATTI *et al.*, 2014) e isso ocorre ao fato de estarem frequentemente expostas a constantes variações ambientais, o que propicia o aumento na produção de metabólitos secundários nas plantas. Dentro desse bioma destaca-se Rubiaceae que é considerada uma das principais famílias da flora brasileira, estando entre as dez maiores, sendo classificada como a sexta maior do grupo das Angiospermas, com ocorrência em todos os domínios fitogeográficos do país, englobando cerca de 128 gêneros e 1.415 espécies (BARBOSA *et al.*, 2015; FLORA DO BRASIL, 2020).

Dentre as espécies pouco exploradas em relação a alelopatia estão as pertencentes ao gênero *Cordia* A. Rich ex DC., as quais apresentam frequentemente em sua constituição compostos químicos de comprovada ação alelopática a exemplo terpenos, fenóis entre outros (CANELHAS, 2012).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o perfil fitoquímico e atividade alelopática de extratos obtidos de *Cordia myrciifolia* (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete, *Cordia sessilis* (Vell.) Kuntze e *Cordia rigida* (K.Schum.) sobre a espécie invasora *Cenchrus echinatus* L. (Poaceae).

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar os aleloquímicos presentes nos extratos das espécies do gênero *Cordia*;
- Verificar a ação dos extratos das folhas das espécies de *Cordia* sobre o processo germinativo das sementes e desenvolvimento de plântulas de *C. echinatus*;
- Observar o efeito dos extratos das espécies de *Cordia* sobre o índice mitótico das radículas das espécies receptoras.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Alelopatia

Em 1937 o pesquisador alemão Hans Molish estudando as interferências que as plantas causavam umas sobre as outras, atribuiu a este fenômeno o nome de Alelopatia, termo advindo da junção das palavras gregas *allelon* (mútuo) e *pathos* (prejuízo). Para o referido estudioso, tal fenômeno abrangia tanto influências positivas quanto negativas que uma planta, através da produção de compostos químicos liberados no ambiente, exercia sobre outras em seu entorno. Tal conceito foi reformulado em 1974 por Rice, para quem a Alelopatia correspondia a todo efeito dos aleloquímicos produzidos pelas plantas e microorganismos que ao serem liberados no ambiente exerciam influências sobre outras, de forma direta ou indireta, danosa ou benéfica (MOLICH, 1937; RICE, 2012).

Essa definição foi ampliada pela International Allelopathy Society, para a qual esse processo natural se deve aos metabólitos secundários, por plantas, algas fungos e bactérias os quais influenciam o crescimento e o desenvolvimento de sistemas florestais, agrícolas e/ou biológicos (SILVA *et al.*, 2018).

Os compostos químicos responsáveis pela alelopatia (aleloquímicos), estão presentes em várias partes dos vegetais (ZENG *et al.*, 2010), eles são provenientes principalmente do metabolismo secundário das plantas (LIMA *et al.*, 2018). A sua atividade biológica depende, na maioria dos casos, das condições ambientais e fisiológicas das plantas, da sua concentração e mobilidade na mesma, muitas vezes mais que da sua composição química, pois um aleloquímico que as vezes é tóxico para uma espécie vegetal pode ser inofensivo para outra planta (PUTNAM; DUKE, 1974).

Os efeitos alelopáticos observados nos indivíduos de uma comunidade são, frequentemente, mais intensos durante a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas. Mas também, outras partes das plantas podem ser afetadas, como flores, lâminas foliares, talos, hastes, cascas, raízes e solo (PEREIRA *et al.*, 2018).

Estudos em alelopatia são bastante evidentes, pois a mesma atua de forma direta na sucessão vegetal primária e secundária, influencia também na estrutura e composição das plantas, pode propiciar meios mais ecológicos ao controle de plantas daninhas auxiliando na preservação dos ambientes, causando grande impacto sobre a biodiversidade e a agricultura (SILVA; AQUILA, 2006; TAVEIRA, 2011).

3.2 Fitotoxicidade: Mecanismo, modo de ação e vias de liberação dos aleloquímicos

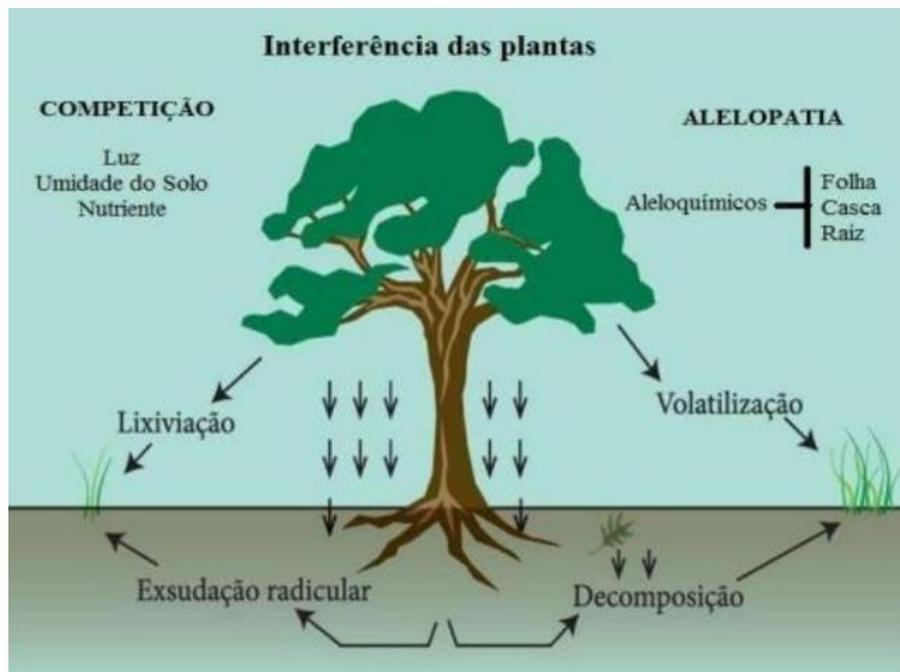
A produção de aleloquímicos nos vegetais é influenciada por diversos fatores, como temperatura, umidade, índice de precipitação, radiação e variação sazonal (TAIZ; ZEIGER, 2004). Cada espécie que apresente efeito fitotóxico produz um conjunto variado desses compostos com ações diferenciadas dependendo da comunidade em que ela se encontra, principalmente, do tipo de solo, da população microbiana e das condições climáticas (OLIVEROS-BATIDAS *et al.*, 2009).

Os aleloquímicos, podem interferir nas atividades consideradas vitais nas plantas, tais como: fotossíntese, respiração, assimilação de nutrientes, síntese de proteínas, atividades enzimáticas, permeabilidade da membrana e também no desenvolvimento vegetal (SIQUEIRA *et al.*, 1991). Sendo que o processo de germinação é menos sensível aos aleloquímicos. Em contrapartida, o desenvolvimento inicial da raiz primária, quando testada e observada em laboratório demonstra ser a variável mais sensível, podendo receber influências tanto benéficas como prejudiciais (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Em muitas ocasiões a competição e a alelopatia embora sejam fenômenos distintos (Figura 1) são considerados como coisas semelhantes, no entanto, a primeira consiste na retirada ou redução de um recurso natural do ambiente, já a segunda resulta na liberação de compostos químicos no ambiente os quais ao serem absorvidos por outros indivíduos pode ou não interferir na germinação e ou desenvolvimento do mesmo (RICE, 1980; SAMPIETRO, 2003).

Os mecanismos de liberação dos aleloquímicos (Figura 1) envolvem a lixiviação, a volatilização, a exsudação de raízes e a decomposição (CHENG, 2015). O processo de lixiviação envolve a remoção de substâncias químicas de plantas vivas ou mortas, decorrente da ação de chuvas, orvalhos e neblina. Na volatilização, tais compostos são liberados na forma volátil, sendo um processo bastante comum nas plantas aromáticas (SOUZA FILHO; ALVES, 2002; HIJANO *et al.*, 2021). Na exsudação, os exsudatos radiculares são simplesmente degradados e usados para produzir carbono por organismos decompositores (BERTIN; YANG; WESTON, 2003), o qual é posteriormente liberado no solo através das raízes vivas (RICE, 1984). Já na decomposição os organismos vegetais mortos decompostos são na maioria das vezes, adicionados ao solo (SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

Figura 1: Mecanismo de interferência das plantas (competição e alelopatia) e das vias de liberação dos aleloquímicos.



Fonte: Adaptado de Chou (2016).

3.3 Citogenética

É de extrema importância que substâncias potencialmente citotóxicas e genotóxicas sejam detectadas, bem como entender seus prováveis efeitos nos organismos para contribuir nos estudos do impacto que eles podem trazer às populações vegetais (SOUZA, 2005).

A citogenotoxicidade é um fenômeno que a partir de sua interferência na célula vegetal, pode apresentar vários resultados, dentre eles, a má evolução e até mesmo a morte das células devido às mudanças que geralmente ocorrem em suas divisões, ploidias e estruturas cromossômicas por meio de mutações (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

O efeito genotóxico pode ser caracterizado por compostos que afetam provocando danos ao DNA da célula vegetal resultando em quebras cromossômicas e deleções nos nucleotídeos, essas substâncias intoxicam o DNA nuclear de forma direta ou atuam de forma indireta afetando o metabolismo celular acarretando divisões celulares incorretas nas plantas (MATSUMOTO, *et al.*, 2006).

Cada vez mais os trabalhos científicos, no intuito de confirmar a ocorrência de toxicidade ao nível celular, realizam diferentes testes de mutagenicidade, genotoxicidade e citotoxicidade, através de análises de alguns parâmetros comuns nesse tipo de estudo, como investigando a regularidade dos micronúcleos, as alterações cromossômicas e Índice Mitótico (IM) (PEDREIRO, 2016). Esse último pode sofrer alterações provenientes do potencial citotóxico de compostos ou substâncias químicas, o que pode resultar no aumento ou redução das células em divisões mitóticas pertencentes aos tecidos que são expostos a esses agentes (SALES; SANTOS; PERON, 2017).

Através de bioensaios é possível avaliar efeitos citogenotóxicos gerados por compostos existentes nos produtos naturais, especialmente em extratos vegetais e suas derivações (VERRI; MOURA; MOURA, 2017).

Inexistem outras pesquisas científicas direcionadas a aplicação de estudos citogenéticos, bem como Índice Mitótico na planta daninha *Cenchrus echinatus* (carrapicho), artigos que com análises desses parâmetros voltados para plantas consideradas bioindicadoras por vários autores, como *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L. são mais comuns (MORALES, 2017; DO CARMO; LEAL; RIBEIRO, 2020).

3.4 Plantas Daninhas e *Cenchrus echinatus* L. (carrapicho)

Segundo Pitelli (2015) algumas plantas são nomeadas com o termo “planta-daninha”, por melhor expressar o conceito de interferência nas atividades humanas. Ressaltando que a vegetação que infesta áreas agrícolas e de pecuária recebe o nome na ecologia de comunidade infestante por se tratar de um conjunto de plantas daninhas que habitam determinado ambiente.

As plantas daninhas podem proporcionar alguns benefícios, como a proteção do solo contra erosão, fixação de nitrogênio no solo, valor ornamental, uso medicinal, importância agrícola, óleos essenciais, entre outros (SILVA *et al.*, 2021). Porém, os efeitos negativos causados pelas mesmas são bastante alarmantes e se mostram de forma direta ou indireta. Sendo diretos: a competição por recursos naturais, tais como: água, luz, nutrientes e espaço, alelopatia e outros; redução da produtividade vegetal e/ou animal; não certificação de sementes; demanda adicional de água e menor qualidade do produto colhido. Como indiretos: hospedeiras de pragas, doenças e nematoides; impedem tratamentos culturais ou a colheita; causar ferimentos em trabalhadores, causar intoxicações; obstrução de equipamentos e canais de irrigação e aumento dos

custos com controle de doenças e pragas (SILVA *et al.*, 2010; CONCENÇO *et al.*, 2014).

Em relação aos prejuízos diretos, a redução em produtividade de cultivos comerciais, devido à competição por recursos do meio como também pela liberação de compostos alelopáticos estão em bastante evidência (Silva *et al.*, 2021). Considerados como fatores preponderantes na perda de produtividade agrícola, geram um prejuízo anual de bilhões de dólares (BRIGHENTI *et al.*, 2018).

Cenchrus echinatus L., Poaceae (Figura 2), apresenta em sua fase vegetativa um aspecto de grama e evolui para uma planta com haste longa cujos de frutos do tipo cariopse cobertos por espinhos (USDA, 2013). É uma planta anual, herbácea, ereta ou eventualmente semiprostrada, com nós pigmentados, com altura entre 20-60 cm. (LORENZI, 2000).

Apresenta elevado potencial competitivo com as culturas principalmente por água, nutrientes e luz. Invadem culturas de algodão, amendoim, arroz de sequeiro, café, cana-de-açúcar, feijão, frutíferas, fumo, mandioca, milho, entre outros. E pode ser indicadora de campos agrícolas erodidos e adensados, surgindo em pastagens onde o pisoteio foi intenso (SANTOS, 2007; DAN *et al.*, 2011).

No estado atual, a alelopatia apresenta novas perspectivas na pesquisa, com estudos de compostos químicos liberados por plantas, os aleloquímicos, que podem vir a ser utilizados como herbicidas naturais e conseqüentemente causar menos impactos ao meio ambiente (REIGOSA, 2013).

Estudos nessa área têm norteado a busca por plantas com potencial alelopático, capazes de interferir no ciclo de vida das plantas daninhas apresentado fundamentos nos estudos interdisciplinares da atualidade e um importante caminho a se seguir (SILVA, *et al.*, 2017).

Figura 2: *Cenchrus echinatus* L. - Crato - CE, Brasil. (A) Hábito; (B) Frutos



Fonte: De autoria própria.

3.5 Família Rubiaceae Juss e o Gênero *Cordia* A. Rich. ex DC.

Rubiaceae ocupa a sexta posição entre as Angiospermas quanto a sua diversidade (DELPRETE; JARDIM, 2012; ROBBRECHT, 2018). Segundo Govaerts *et al.* (2016) essa família conta aproximadamente com 13.765 espécies distribuídas em 611 gêneros. No Brasil é constituída por cerca de 128 gêneros e 1.415 espécies (BARBOSA, *et al.*, 2015; FLORA DO BRASIL, 2020). Dentre as famílias da flora brasileira, é uma das mais importantes por seu valor econômico, ornamental e fitoterapêutico (VALLI, *et al.*, 2016; SOUZA; LORENZI, 2008).

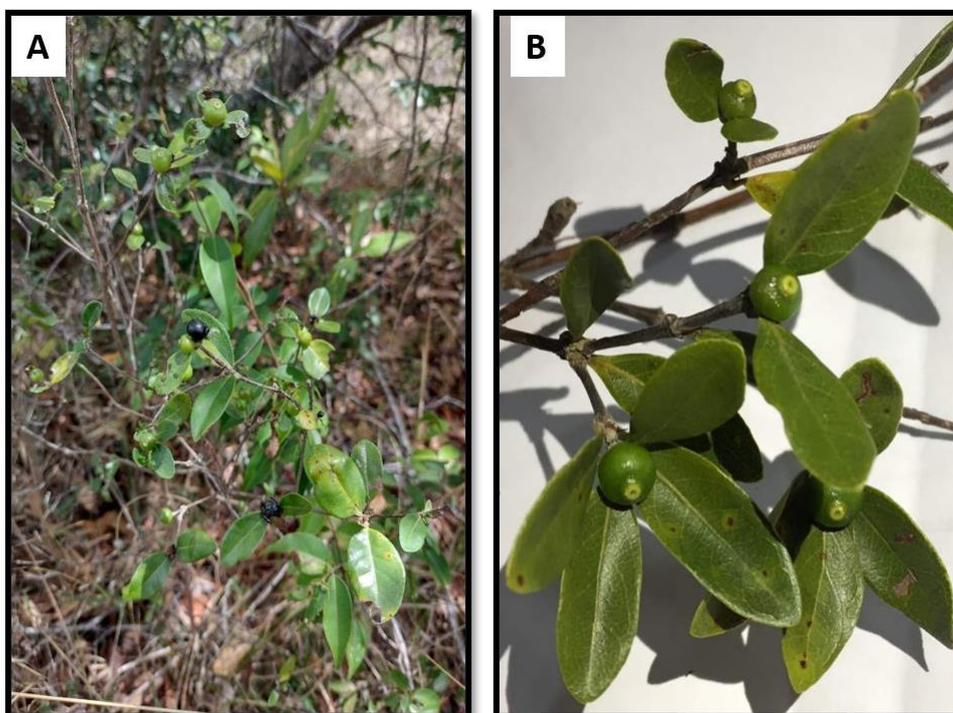
Do ponto de vista químico, plantas da família Rubiaceae demonstram ser bastante fitotóxicas, em razão de possuírem grande diversidade de metabólitos secundários. Considera-se que as antraquinonas, iridoides e alcaloides indólicos são marcadores quimiotaxonômicos das subfamílias Rubioideae, Ixoroideae e Cinchonoideae, respectivamente (MARTINS; NUNEZ, 2015).

3.5.1 *Cordia rigida* (K.Schum.) Kuntze

Cordia rigida é uma espécie endêmica do Brasil que se distribui apenas em poucos estados do país, inserida nos domínios fitogeográficos da Caatinga e Cerrado das regiões Centro-oeste, Sudeste, Norte e Nordeste (BARBOSA *et al.*, 2015).

Morfologicamente, espécies de *Cordia rigida* caracterizam-se por serem arbustos com variação de tamanho entre 0,5 e 6,0 m de altura, (Figura 3), de folhas opostas cruzadas, coriáceas e sésseis; venação com nervuras secundárias e terciárias conspícuas em ambas as faces, 4-8 pares. Compostas de flores unissexuadas, as masculinas, em inflorescências de 3-5-flores, apresentando estigma não receptivo e as femininas, unifloras, apresentando anteras sem pólen. Os indivíduos femininos dessa espécie podem ser identificados em campo mediante do hipanto turbinado e na ausência das flores pela presença dos frutos. Os frutos são do tipo baga (Figura 3) e quando maduros são adocicados e comestíveis. Floresce de agosto a janeiro e frutifica de novembro a janeiro (VARJÃO; JARDIM; CONCEIÇÃO. 2013).

Figura 3: *Cordia rigida* (K.Schum) Kuntze - Crato - CE, Brasil. (A) Hábito; (B) Frutos.



Fonte: De autoria própria.

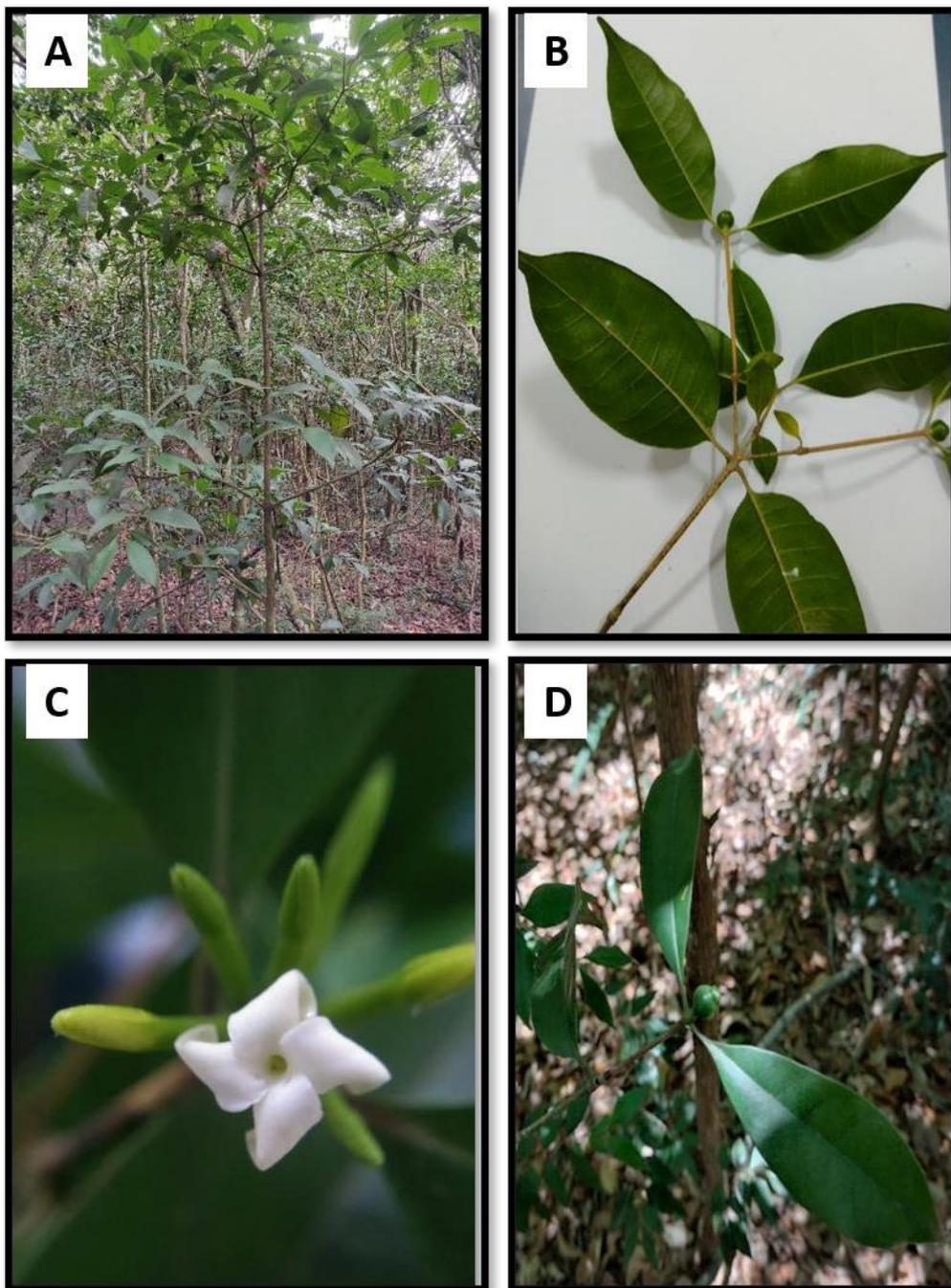
3.5.2 *Cordia myrciifolia* (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete

Cordia myrciifolia, conhecida como café-bravo, é uma árvore nativa de pequeno porte que ocorre abundantemente no Nordeste do Brasil (GADELHA MILITÃO, *et al.*, 2005; LUCIANO *et al.*, 2010).

Estruturalmente *C. myrciifolia* (Figura 4) caracteriza-se por ser um arbusto ca. 1,2 m de altura. Ramos glabros, cilíndricos; entrenós 2-5 cm de comprimento; estípulas truncadas. Folhas opostas decussadas, pecíolo glabro; lâmina foliar obovada; glabra em ambas as faces; nervuras obliquivênias, 5-8 pares. Inflorescência estaminada em cimas fasciculadas terminais; flores pistiladas solitárias. Flor estaminada; cálice truncado; corola tetrâmera; estames 4, inclusos, inseridos na base do tubo ou próximos a ela, filiformes; antera dorsifixa, rimosa. Flor pistilada não observada. Fruto baga, globosa, 9 x 7 mm, pubérula; sementes achatadas, ovais, 3 x 2 mm (PERSSON; DELPRETE; STEYERMARK, 2004)

Figura 4: *Cordia myrciifolia* (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete -Crato - CE, Brasil.

(A) Hábito; (B) Folhas; (C) Flor; (D) Fruto.



Fonte: De autoria própria.

Estudos fitoquímicos voltados para *C. myrciifolia* apontam isolamento de D-manitol, escopoletina, ácido pomólico, ésteres metílicos de ácidos ursólico e oleanólico e os flavonoides citotóxicos corimboquina, letedocina, apometzgerina, acetina e apigenina (LUCIANO, *et al.*, 2005; ZANI, *et al.*, 1995). Iridóide: ácido 10-O Vaniloilgeniposídico (LUCIANO, *et al.*, 2010). Triterpenos: éster metílico do ácido pomólico; éster metílico

de ácido ursólico; éster metílico de ácido oleanólico (AHMAD, 1556). Flavonas: 5-hidroxi-7,3',4',5'-tetrametoxiflavona; 5,5'-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona; 5,7,5'-trihidroxi-3',4'-dimetoxiflavona; 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona; 5,7,4'-trihidroxiflavona (MILITÃO, 2005).

3.5.3 *Cordia sessilis* (Vell.) Kuntze

Cordia sessilis sinônimo de *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Zappi *et al.*, 2014), é uma espécie que apresenta um porte arbustivo podendo chegar em 4m ca. (LORENZI, 2002), popularmente conhecido como marmelinho ou marmelo-do-cerrado, apresenta frutos saborosos que são frequentemente procurados pelas aves regionais e pode ser utilizado na confecção de geleias e tortas (WALTER, CARVALHO; RIBEIRO, 2008).

Normalmente, sua madeira é bastante utilizada como lenha e carvão, as folhas consumidas por bovinos e, além do mais, popularmente podem ser usadas para tratamento de infecções cutâneas através de compressas ou o próprio banho contendo a aplicação dessa parte da planta (SILVA *et al.*, 2013).

Cordia sessilis (Figura 5) morfológicamente caracteriza-se pelas inflorescências terminais, frutos carnosos e com muitas sementes, suas folhas são simples e opostas e coriáceas com bordas curvas e onduladas. Apresenta um caule ramificado, curto, fino e rugoso (LORENZI, 2002; MATHEUS *et al.*, 2008).

Nas folhas de *C. sessilis* são encontrados compostos como triterpenos, iridóides, flavonóides e ésteres de ácido cafeico (OLEA; ROQUE; BOLZANI, 1997; SILVA *et al.*, 2006). Em estudo realizado por Olea, Roque e Bolzani (1997) foram isolados os flavonóides: quercetina-3-O- β -D-(2''-O-trans-p-coumaroyl)-rutinosídeo; kaempferol-3-O- β -D-(2''-O-trans-p-coumaroyl)-rutinosídeo; os triterpenos: ácido oleanólico; ácido ursólico; ácido epi-betulínico; os iridóides: jardinósidos; deacetilasperulósido; 10-desidrogardenósido; β -gardiol; α -gardiol; ácido geniposídico; geniposídeo; 6 α -hidroxigeniposídeo; 6 β -hidroxigeniposídeo e os compostos fenólicos: 3,4,5-trimetoxifenil-1-O- β -D-(5-O-siringoil)-apiofuranosil-glucopiranosídeo (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosídeo; Glicosídeos de lignanas: (+)-lyoniresinol-3 α -O- β -D-glucopiranosídeo; (-)-lyoniresinol-3 α -O- β -D-glucopiranosídeo (LUCIANO *et al.*, 2004).

Figura 5: *Cordia sessilis* K.Schum. -Crato - CE, Brasil. (A) Hábito; (B) Frutos.



Fonte: De autoria própria.

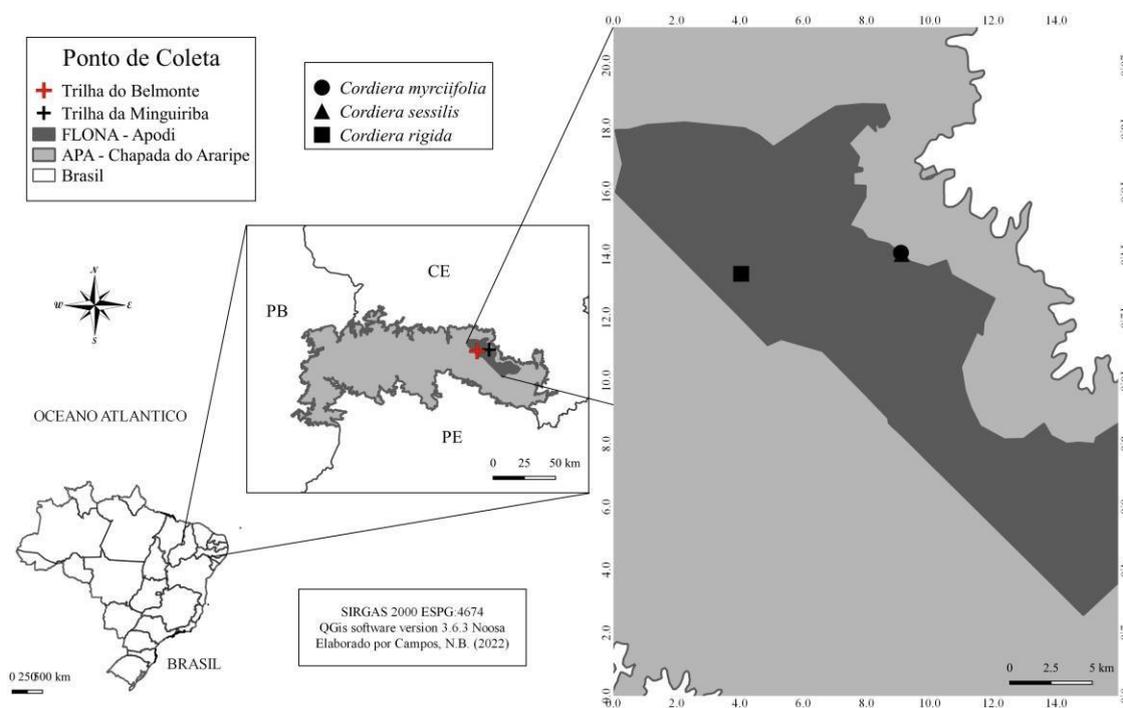
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material botânico

O material vegetal das espécies doadoras foi coletado na Chapada do Araripe em áreas de Cerrado, Cerradão e Mata úmida na cidade de Crato-CE (Figura 6) no período de junho a setembro de 2021. Os frutos maduros de *Cenchrus echinatus* (espécie receptora) foram coletados durante o mesmo período, nas redondezas da Universidade Regional do Cariri Campus do Pimenta e Parque de Exposição Pedro Felício Cavalcante em Crato-CE. Eles passaram pelo processo de descasque para utilização das sementes.

As coletas foram autorizadas pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob o número: 80398-1 emitido em 13 de outubro de 2021 (Anexo A).

Figura 6: Localização dos pontos de coleta de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida* em Crato, Ceará, Brasil.



Fonte: De autoria própria.

As espécies do gênero *Cordia* foram coletadas e tratadas segundo os métodos usuais de herborização. A identificação foi feita por comparação com amostras do

acervo do Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) e confirmada pelo Dr. Elnatan Bezerra de Souza (UVA), especialista em Rubiaceae. As exsicatas foram incorporadas ao acervo do HCDAL (Tabela 1).

Tabela 1- Espécies de *Cordia* utilizadas com os respectivos locais de coleta, coletor e número de registro.

Espécie	Família	Local de Coleta	Coletor	Nº HCDAL
<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete	Rubiaceae	Trilha do Belmonte	NASCIMENTO, M.P. et al.	14.988
<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze	Rubiaceae	Trilha do Belmonte	NASCIMENTO, M.P.	14.989
<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze	Rubiaceae	Trilha de Minguiribas, estrada Crato/Exú	NASCIMENTO, M.P.	14.990

Fonte: De autoria própria.

4.2 Extrato Aquoso por Infusão (EAI)

O Extrato Aquoso por Infusão (100%) das espécies de *Cordia* foi produzido a partir de 30 mg/mL de folhas frescas de cada espécie, imersas em 1.000 mL de água destilada a 100 °C contidos em Beckeres que foram vedados até completo resfriamento evitando a liberação de vapores e volatilização dos aleloquímicos. Após o resfriamento, os Extratos Aquosos por Infusão (100%) foram diluídos em água destilada nas concentrações de 75%, 50% e 25% consistindo nos quatro tratamentos distintos. O grupo controle (0%) constou somente de água destilada.

4.3 Extrato Aquoso Bruto (EAB)

Para obtenção do Extrato Aquoso Bruto (100%) foram utilizadas 200 mg/mL de folhas frescas de cada uma das espécies de *Cordia* separadamente, em seguida trituradas em um liquidificador com 1000 ml de água destilada durante 5 minutos. Após a trituração o conteúdo obtido foi filtrado para separação de partículas maiores. Em seguida essa solução foi centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos. Na sequência, o

extrato foi diluído em água destilada nas concentrações de 25%, 50%, e 75% consistindo tais diluições nos tratamentos. O grupo controle (0%) constou somente de água destilada.

4.4 Parâmetros físico-químicos (PH e Osmolaridade)

O Extrato Aquoso Bruto e Aquoso por Infusão das espécies de *Cordia* foram avaliados individualmente quanto ao pH através de um pHmetro. Sempre que necessário foi feito o ajuste com HCl (ácido) e NaOH (base) de forma que o pH ficasse entre 4 e 6, de modo a evitar a interferência dessa variável nos testes alelopáticos. A avaliação da osmolaridade foi realizada com auxílio de um osmômetro, onde os valores obtidos em mOsm/kg foram convertidos para pressão osmótica (MPa) através da equação abaixo proposta por Larcher (1993):

$$\pi = -W \times 0,00832 \times \text{tabs}$$

Onde:

π = Pressão osmótica em Mpa;

W = Potencial Osmótico em Osm/Kg;

Tab = Temperatura absoluta em graus Kelvin.

4.5 Bioensaios de Germinação

O bioensaio constou de oito tratamentos compostos pelos dois tipos de extratos mais um grupo controle constando somente de água destilada (0%) para cada uma das espécies doadoras estudadas nesse trabalho. Cada tratamento contou com cinco repetições de 20 sementes da espécie receptora (carrapicho), totalizando 100 sementes por tratamento. O bioensaio foi conduzido em caixas Gerbox esterilizadas tendo por substrato duas folhas de papel filtro umedecidas com 3 ml dos extratos.

O experimento foi conduzido em câmara de germinação do tipo BOD a uma temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas por cinco dias. As sementes da espécie receptora foram consideradas germinadas quando as radículas se apresentaram com cerca de 2 mm de comprimento.

Os parâmetros analisados foram: percentual de germinação das sementes; Índice de Velocidade de Germinação (IVG), médias dos comprimentos de radícula, caulículo e folíolo. O percentual de germinação foi determinado segundo fórmula proposta por Labouriau (1997).

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

Onde:

N: Número de total de sementes germinadas;

A: Número total de sementes colocadas para germinar.

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi avaliado a cada 24 h por um período de cinco dias. Sua determinação se deu através do somatório da razão entre o número de sementes germinadas no dia *i* (*n_i*) e o número de dias (*i*), de acordo com a fórmula: $IVG = G1/N2 + \dots + Gn/Nn$; em que: *G*₁, *G*₂, *G_n* = número de sementes germinadas na primeira, segunda e última contagem; *N*₁, *N*₂, *N_n* = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem (FERNANDES; MIRANDA; SANQUETA., 2007).

4.6 Índice Mitótico

Para a análise do Índice Mitótico as radículas foram coletadas e preparadas através da técnica de esmagamento seguida de coloração proposta por Guerra e Sousa (2002), as mesmas foram coletadas a cada 24 horas do primeiro ao terceiro dia de germinação. As radículas foram postas em solução de Carnoy (3 partes etanol: 1 parte de ácido acético glacial) por 2 horas para a fixação das células em divisão mitótica, em seguida, estocadas em freezer no próprio fixador até a análise. Após esse período as radículas foram submetidas a duas lavagens com água destilada por 5 minutos cada, para retirada do Carnoy, na sequência foram colocadas em lâminas imersas em uma gota da enzima celulase/pectinase suficiente para cobrir as radículas e estocadas em câmeras úmidas, e em seguida colocadas em estufa a 37 °C durante 1h:40 m a fim de digerir as paredes celulares. Em seguida os meristemas das radículas foram separados e esmagados sobre as lâminas em ácido acético a 45%, com auxílio de seringas e sob estereomicroscópio, cobertas com uma lamínula e congeladas em nitrogênio líquido durante 2 minutos para a remoção da lamínula. Posteriormente foram secas ao ar,

coradas com Giemsa a 2%, secas ao ar novamente e por fim, montadas em verniz vitral (Adaptado de GUERRA; SOUSA 2002).

As células foram contadas em um microscópio óptico com um aumento de 400X observando o número de células que estavam nas fases da mitose, fotografadas em todos os tratamentos. O Índice Mitótico foi obtido dividindo o número de células que estavam em mitose (prófase + metáfase + anáfase + telófase) pelo número total de células (interfase + mitose) multiplicando por 100 segundo equação proposta por Pires *et al.*, (2001):

$$IM = (m/T) \times 100$$

Onde:

m = Número de células em mitose;

T = Número total de células observadas.

4.7 Análises Químicas

A análise fitoquímica foi realizada no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais - LPPN da Universidade Regional do Cariri - URCA.

4.7.1 Testes qualitativos

Os ensaios químicos para detecção das classes de metabólitos secundários foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997), baseada em leituras colorimétricas ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

4.7.2 Quantificação do conteúdo fenólico total

A quantificação dos fenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu baseado na metodologia de Singleton, Orthofer & Lammela-Ranvenson (1999). Foram adicionados 25 µL dos extratos das espécies de *Cordia* diluídos em água destilada a 625 µL de reagente Folin-Ciocalteu a 10% e 500 µL de carbonato de sódio a 7,5% seguido de incubação por 15 min no escuro a 45 °C, a absorbância foi medida a 765 nm usando o solvente como branco. O ácido gálico foi usado como padrão para a curva de calibração. Os resultados foram expressos em µg de equivalente de ácido gálico por mg de extrato. A análise foi realizada em triplicata.

4.7.3 Quantificação do teor total de flavonóides

O teor total de flavonóides foi determinado pela colorimetria de cloreto de alumínio de acordo com o método proposto por Kosalec et al, (2004). Alíquotas de 1000 μL dos extratos das espécies de *Cordia* foram adicionadas a 760 μL de solvente (Etanol), 40 μL de cloreto de alumínio a 10% e 40 μL a 0,1 M de acetato de potássio. Após incubação por 30 min sob a luz em temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 415 nm usando solvente como branco. A quercetina foi usada como padrão para curva de calibração. Os resultados foram expressos em μg de equivalente de quercetina por g de extrato. A análise foi realizada em triplicata.

4.7.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Matriz de Diodos (HPLC-DAD)

Foram realizadas análises cromatográficas de fase reversa em condições de gradiente utilizando coluna C18 (4,0 mm x 250 mm x 5 μm). A fase móvel constituída por uma mistura de solventes: A (água acidificada com ácido fórmico 0,1 %) e B (Metanol) utilizando o seguinte gradiente de eluição linear: 0-3,2 min: 5% B em A; 3,2-3,7 min: 10% B em A; 3.7-50 min: 50% B em A, se mantendo nessa composição até 70 min. Os comprimentos de onda utilizados foram de 250 nm para o ácido gálico, ácido cafeico e rutina; 290 nm para a vanilina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido cinâmico, e naringenina; e 360 nm para o ácido clorogênico e a quercetina. O fluxo da fase móvel foi de 1,00 mL/min e o volume de injeção de 20 μL . As amostras e a fase móvel foram filtradas através de um filtro de membrana de 0,22 μm (millipore). As frações orgânicas dos extratos aquosos foram dissolvidos em metanol HPLC (5 mg/mL). Com metanol HPLC foram preparadas soluções de referência de normas em stock, numa gama de concentrações de 2-50 ppm. A quantificação foi realizada integrando os picos utilizando o método padrão externo. Os picos foram confirmados comparando o seu tempo de retenção com os das normas de referência e por espectros DAD (190 a 400 nm). Todas as operações cromatográficas foram realizadas com a temperatura da coluna ajustada para 30°C e em triplicata. As quantificações dos compostos foram baseadas em curvas analíticas das normas referenciais. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados com base no desvio padrão das respostas e na inclinação, utilizando três curvas analíticas independentes. LOD e LOQ foram calculadas como 3,3 e 10 σ/S , respectivamente, onde σ é o desvio padrão da resposta e S é o declive da curva de calibração.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análises químicas

As classes de metabólitos secundários presentes no Extrato Aquoso Bruto de *Cordia sessilis* foram Taninos Flababênicos, Flavonas, Flavonóis, Xantonas, Flavononóis, Leucoantocianidinas e Catequinas (Tabela 2), já o Extrato Aquoso por Infusão dessa espécie revelou a presença das classes citadas anteriormente, além da classe de Flavononas (Tabela 2). Os Extratos Aquosos Bruto e por Infusão de *Cordia myrciifolia* revelaram a presença de Taninos Piralogálicos, Flavonas, Flavonóis, Xantonas, Flavononóis, Catequinas e Flavonononas (Tabela 2). Os Extratos Aquoso Bruto e por Infusão de *Cordia rigida* apresentaram em suas composições as classes de Taninos Piralogálicos, Flavonas, Flavonóis, Xantonas, Flavononóis e Flavononas (Tabela 2).

É comum encontrar na literatura trabalhos envolvendo o gênero *Cordia* que são em sua maioria, específicos em áreas farmacêuticas ou químicas, devido à presença de diferentes metabólitos secundários, como triterpenos, alcalóides e flavonóides em *C. macrophylla* (K. Schum.) Kuntze (BOLZANI et al., 1991; YOUNG et al., 1992), *C. myrciifolia* (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete (LUCIANO et al., 2004; LUCIANO et al., 2010) e *C. sessilis* (Vell.) Kuntze (OLEA et al., 1997; SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2007). Souza Filho e Alves (2002) afirmaram que esses compostos estão relacionados aos fenômenos alelopáticos observados nas plantas.

Tabela 2- Prospecção fitoquímica qualitativa do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) e do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida*

Constituintes Químicos	<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze		<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete		<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze	
	EAI	EAB	EAI	EAB	EAI	EAB
Fenóis	-	-	-	-	-	-
Taninos Piralogálicos	-	-	+	+	+	+
Taninos Flababênicos	+	+	-	-	-	-
Antocianinas	-	-	-	-	-	-
Antocianidinas	-	-	-	-	-	-
Flavonas	+	+	+	+	+	+
Flavonóis	+	+	+	+	+	+
Xantonas	+	+	+	+	+	+
Chalconas	-	-	-	-	-	-
Auronas	-	-	-	-	-	-
Flavononóis	+	+	+	+	+	+
Leucoantonianidinas	+	+	-	-	-	-
Catequinas	+	+	+	+	-	+
Flavononas	+	-	+	+	+	+

(+) presente (-) ausente

Os resultados mostram valores significativamente maiores para fenóis totais no Extrato Aquoso Bruto de *Cordia sessilis* e *Cordia myrciifolia*, $10,34 \pm 0,41 \mu\text{g EAG}/10 \text{ mg}$ e $13,8 \pm 0,26 \mu\text{g EAG}/10 \text{ mg}$ respectivamente (Tabela 3), já em *Cordia rigida* o Extrato Aquoso por Infusão apresentou um valor relativamente maior, $3,84 \pm 0,69 \mu\text{g EAG}/10 \text{ mg}$ (Tabela 3).

Silva e *et al.* (2010), investigaram o potencial alelopático da parte aérea e subterrânea de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae) em laboratório e evidenciaram a presença de compostos químicos a partir do considerável teor de fenóis totais que promoveram atividades fitotóxicas na germinação e crescimento de alface, tomate, cebola e trigo.

Quanto a quantidade de flavonoides totais presentes nos extratos das espécies de *Cordia*, verificou-se que os Extratos Aquosos Brutos de *Cordia rigida* e *Cordia sessilis*, apresentaram maiores quantidades de flavonoides totais, $1,47 \pm 0,69 \mu\text{g EQ}/10 \text{ mg}$ e $0,57 \pm 0,07 \mu\text{g EQ}/10 \text{ mg}$ respectivamente (Tabela 3), ao contrário do observado para *Cordia myrciifolia*, onde a maior quantidade desses compostos esteve presente no Extrato Aquoso por Infusão com $0,69 \pm 0,26 \mu\text{g EQ}/10 \text{ mg}$ (Tabela 3).

Tabela 3- Quantificação de fenóis totais e flavonóides totais das folhas de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida*.

		<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze	<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete	<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze
Fenóis Totais $\mu\text{g EAG}/10 \text{ mg}$	EAI	$3,24 \pm 0,74$	$4,91 \pm 0,06$	$3,84 \pm 0,69$
	EAB	$10,30 \pm 0,41$	$13,80 \pm 0,26$	$2,65 \pm 0,49$
Flavonóides Totais $\mu\text{g EQ}/10 \text{ mg}$	EAI	$0,15 \pm 0,10$	$0,69 \pm 0,26$	$0,78 \pm 0,39$
	EBA	$0,57 \pm 0,07$	$0,43 \pm 0,27$	$1,47 \pm 0,69$

Esses resultados são expressos como média \pm DP (n = 3). Valores do $p < 0,05$.

Os compostos identificados no perfil químico por HPLC dos extratos de *Cordia* são apresentados na tabela 4. De acordo com a análise, houve variação entre o número de compostos, segundo o método de extração utilizado. Os compostos que se apresentaram como constituintes principais foram o ácido gálico no Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia sessilis* (4,8 mg/g) e ácido cafeico no Extrato Aquoso Bruto de *Cordia sessilis* (12,8 mg/g); *Cordia myrciifolia* (4,6 mg/g); *Cordeira rigida* (7,4 mg/g) e também no Extrato Aquoso por Infusão de *Cordeira myrciifolia* (6,8 mg/g). No Extrato Aquoso por Infusão de *Cordeira rigida* não foram encontrados nenhum dos compostos químicos analisados (Tabela 4).

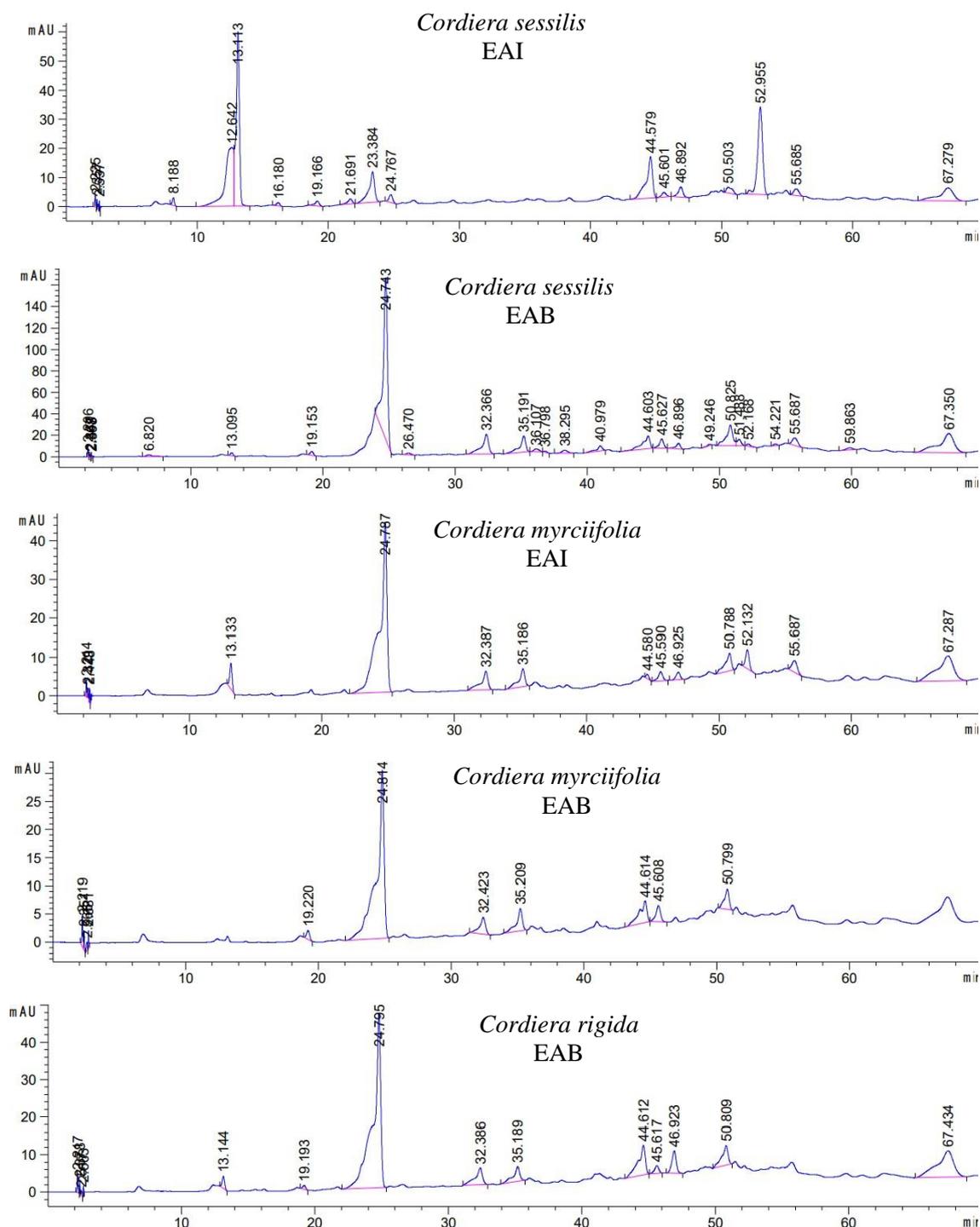


Figura 7 - Perfil representativo de cromatografia líquida de alta eficiência dos Extratos Aquosos de espécies do gênero *Cordia*. Ácido gálico (tR= 8,1 min), ácido clorogênico (tR = 23,3 min), ácido cafeico (tR = 24,7 min), vanilina (tR = 26,4 min), ácido *p*-cumárico (tR = 32,3 min), ácido ferúlico (tR = 35,1 min), rutina (tR = 44 min) e quercetina (tR = 55.6 min). Curva de calibração para ácido gálico: $Y = 9780X + 2.96$ ($r = 0,96$); ácido clorogênico: $Y = 19181X - 143.4$ ($r = 0,981$); ácido cafeico: $Y = 52739X - 71.48$ ($r = 0,98$); vanilina: $Y = 118289X + 45.65$ ($r = 0,99$); ácido *p*-cumárico: $Y = 746499X + 168.8$ ($r = 0,99$); ácido ferúlico: $Y = 104446X + 104.16$ ($r = 0,98$); rutina: $Y = 39243X + 23.16$ ($r = 0,99$) e quercetina: $Y = 78142X - 51.68$ ($r = 0,99$).

Tabela 4. Quantificação por HPLC /DAD de ácidos fenólicos e flavonoides de extratos aquosos das espécies do gênero *Cordia*.

	<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze		<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete		<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze	
	EAI mg/g	EAB mg/g	EAI mg/g	EAB mg/g	EAI mg/g	EAB mg/g
Ácido Gálico	4,8 ± 0,002	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido Clorogênico	2,8 ± 0,000	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido Cafeico	4,4 ± 0,001	12,6 ± 0,023	6,8 ± 0,0015	4,6 ± 0,0005	ND	7,4 ± 0,001
Vanilina	ND	0,22 ± 0,000	ND	ND	ND	ND
Ácido p-cumárico	ND	1,6 ± 0,000	0,44 ± 0,0001	0,24 ± 0,000	ND	0,4 ± 0,0001
Ácido Ferúlico	ND	0,9 ± 0,002	0,38 ± 0,0001	0,24 ± 0,0002	ND	0,128 ± 0,0007
Rutina	2,2 ± 0,000	1,74 ± 0,003	FLQ	0,62 ± 0,0009	ND	1,00 ± 0,0016
Quercetina	0,24 ± 0,000	1,00 ± 0,0002	0,3 ± 0,0000	ND	ND	ND

Resultados dos valores são expressos como média (mg/g do extrato) ± DP (n = 3). ND: Não detectado; FLQ: Fora do limite de quantificação.

O ácido cafeico presente nos extratos das espécies de *Cordia* é descrito na literatura como um importante metabólito secundário. Bubna et al. (2011) verificaram que esse aleloquímico estimula a formação dos monômeros de ligninas e solidifica a parede celular inibindo o crescimento radicular de *Glycine max*. Loffredo, Monaci e Senesi (2005) descrevem o ácido cafeico como um aleloquímico com efeito alelopático que propicia a inibição da germinação das sementes e o crescimento do tomateiro.

Extrato do caule e folhas de *Eragrostis plana* Nees (Poaceae) inibiu a germinação de sementes, o índice de velocidade de germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas de *Zea mays* L., *Avena sativa* L., *Lolium multiflorum* Lam., *Trifolium pratense* L., *Lotus corniculatus* L. e identificou-se a presença de ácido cafeico, ácido clorogênico e rutina, tais compostos podem ter sido os causadores desse efeito alelopático (FIORENZA, et al., 2016). Esses resultados são semelhantes aos índices de inibição que as espécies de *Cordia* estudadas nessa pesquisa causaram no carrapicho e também aos compostos identificados no presente estudo, confirmando que esses efeitos podem ser decorrentes da presença de tais metabólitos secundários.

Flavonoides (rutina e quercetina) e ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido gálico) foram identificados em *Fagopyrum esculentum* (Polygonaceae) e promoveram um efeito alelopático inibitório no crescimento das plântulas de *Lactuca*

sativa, a rutina foi o composto químico com maior concentração e que mais contribuiu para esse efeito (GOLISZ *et al.*, 2007).

5.2 Análise dos parâmetros físico-químicos

A variação observada no potencial osmótico e no pH dos extratos utilizados mostram que os valores apresentados não são capazes de exercer influência sobre a germinação e o desenvolvimento das plântulas (Tabela 5) o que sugere que os efeitos observados se devem a presença dos compostos químicos presentes nos extratos. Os valores do pH dos Extratos Aquoso Bruto e Aquoso por Infusão das folhas de *C. myrciifolia*, *C. sessilis* e *C. rigida* variaram de 4,09 e 6,30. Pinto e Kolb, (2016), afirmaram que os efeitos do pH sobre testes alelopáticos são verificados apenas quando ele se encontra abaixo de 3 e acima de 11.

A quantificação do pH e do potencial osmótico em qualquer pesquisa de alelopatia é fundamental, pois valores extremos de ambos podem atuar sobre a germinação das sementes e no desenvolvimento das plântulas, dessa forma podem dificultar a identificação dos efeitos ocasionados por substâncias alelopáticas (CARMO, *et al.*, 2007).

Tabela 5- Valores do pH do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) e do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida*.

Espécie	Concentração	EAI		EAB	
		pH inicial	pH ajustado	pH inicial	pH ajustado
<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze	25%	3,77	4,64	3,96	4,13
	50%	4,16	4,16	4,97	4,97
	75%	3,75	4,18	4,43	4,43
	100%	4,09	4,09	4,44	4,44
<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete	25%	3,58	6,30	3,72	4,17
	50%	3,75	4,66	3,95	4,15
	75%	3,62	5,55	4,15	4,15
	100%	3,23	4,10	4,17	4,17
<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze	25%	3,81	4,12	2,91	4,41
	50%	3,24	4,53	3,42	4,46
	75%	4,40	4,40	3,32	4,51
	100%	3,65	5,46	3,11	4,52

Fonte: De autoria própria.

Os extratos podem conter solutos como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos capazes de camuflar o efeito alelopático, isso porque eles interferem no pH e são osmoticamente ativos. Um potencial osmótico elevado pode interferir na germinação das sementes e atrasar sua velocidade (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Os valores do potencial osmótico dos Extratos Aquosos Bruto e por Infusão das folhas de *C. myrciifolia*, *C. sessilis* e *C. rigida* variaram de -0,000 a -0,164 (Tabela 6). Segundo Grisi e colaboradores (2011), potenciais osmóticos abaixo de -0,3Mpa não interferem na germinação de sementes ou no crescimento inicial de plântulas. Gatti, Peres e Lima (2004), afirmaram que os valores do potencial osmótico não devem ultrapassar -0,2 Mpa.

Tabela 6- Valores do potencial osmótico do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) e do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida* nas diversas concentrações.

Osmolaridade (Mpa)			
Espécie	Concentração	EAI	EAB
<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze	25%	-0,000	-0,016
	50%	-0,007	-0,064
	75%	-0,023	-0,107
	100%	-0,041	-0,150
<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss & Delprete	25%	-0,000	-0,023
	50%	-0,000	-0,070
	75%	-0,089	-0,025
	100%	-0,036	-0,034
<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze	25%	-0,000	-0,023
	50%	-0,000	-0,000
	75%	-0,000	-0,100
	100%	-0,000	-0,000

Fonte: De autoria própria.

5.3 Efeitos citotóxicos do Extrato Aquoso Bruto (EAB) de *Cordia* spp. sobre *Cenchrus echinatus*

O Extrato Aquoso Bruto das folhas de *C. sessilis*, *C. myrciifolia* e *C. rigida* a 75% e 100%, e também a 50% desta última, interferiram de forma negativa na germinação de sementes de *C. echinatus* (Figura 8). Para as demais concentrações não houve efeito significativo quando comparados ao controle para este parâmetro.

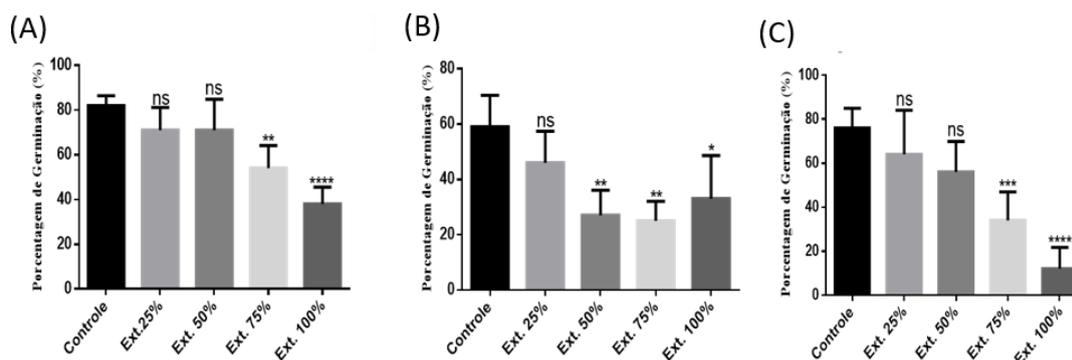


Figura 8- Número de sementes germinadas de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(****) ($p < 0,01$); (***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (**) e (*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades iguais de asteriscos não diferem estatisticamente entre si.

Em algumas ocasiões as plantas liberam no ambiente compostos químicos que são produzidos pelo seu metabolismo secundário, muitas vezes para sua própria defesa, diante disso, a inibição da germinação de sementes quimicamente sensíveis a substâncias alelotóxicas, liberadas por indivíduos de sua própria espécie (autotoxicidade) ou não, pode resultar na redução da densidade de seus indivíduos, que a médio ou longo prazo pode levar à extinção local da espécie, ocasionando perdas para a biodiversidade local (HUANG, *et al.*, 2019).

Santos e colaboradores (2011), testaram o potencial alelopático de *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae), sobre a germinação das plantas invasoras *Cassia tora* (mata-pasto), *Mimosa pudica* (malícia) e *Cassia occidentalis* (fedegoso) e observaram que a planta doadora provocou uma inibição na germinação de todas as receptoras. *C. mucunoides* apresenta alguns dos mesmos compostos químicos presentes

em *C. myrciifolia* e *C. sessilis* a exemplo de quercetina e ácido cafeico os quais pode ser atribuído o efeito inibitório observado para a germinação da espécie receptora.

O Extrato Aquoso Bruto de *C. rigida* em todas as concentrações testadas promoveu redução no Índice de Velocidade de Germinação (IVG) das sementes de carrapicho. Similarmente ao observado para *C. myrciifolia* e *C. sessilis*, exceto a 25% de concentração, sem efeito significativo, ao contrário dos demais, os quais a medida que aumentaram as concentrações, maior foi a redução do IVG em comparação ao grupo controle (Figura 9).

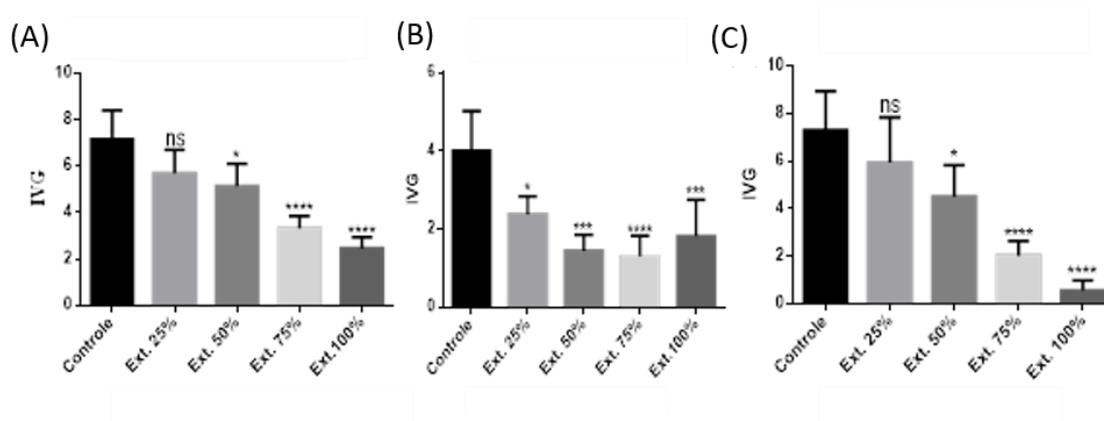


Figura 9- Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *Cenchrus echinatus* L. submetido ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(****) ($p < 0,01$); (***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (*) ($p > 0,01$); (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si.

Esses resultados confirmam que os Extratos Aquosos Brutos das folhas de todas as espécies de *Cordia* trabalhadas nesta pesquisa possuem compostos químicos, que afetam o IVG de *Cenchrus echinatus*. É importante chamar a atenção para o fato de que é mais frequente os aleloquímicos atuarem inibindo o IVG do que na germinação das sementes (LEANDRO *et al.*, 2019).

Cordia myrciifolia e *C. sessilis* apresentam em sua composição a apigenina e ácido cafeico respectivamente (LUCIANO, *et al.*, 2005; ZANI, *et al.*, 1995; OLEA; ROQUE; BOLZANI, 1997; SILVA *et al.*, 2006), ambos também presentes nos extratos das folhas de *Senna cearensis* Afr. Fern. (Fabaceae), que em pesquisa realizada por Torquato e colaboradores (2020), foram responsáveis por promover a redução do IVG de *C. echinatus*.

O Extrato Aquoso Bruto de todas as espécies de *Cordia* em todas as concentrações testadas inibiram o desenvolvimento das radículas das plântulas de carrapicho (Figura 10). Esta atividade pode estar associada a presença de ácido cafeico encontrado por Olea, Roque e Bolzani e Silva, et al., (2006) nas folhas das referidas espécies.

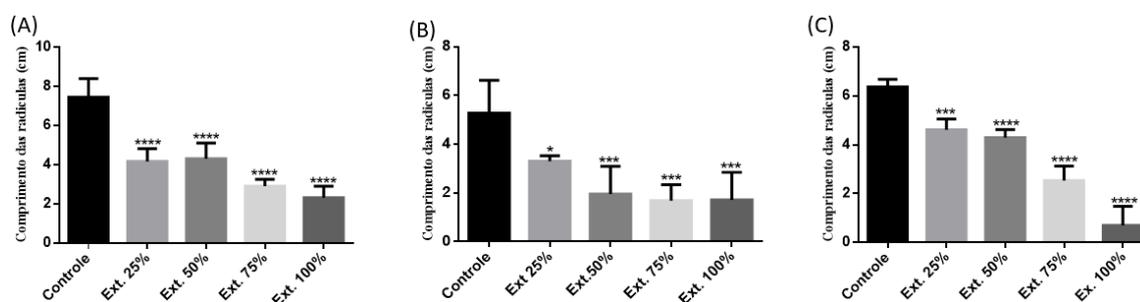


Figura 10- Comprimento das radículas de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(****) ($p < 0,01$); (***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (*) ($p > 0,01$); (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si.

Os extratos das cascas do caule *Guettarda uruguensis* Cham. & Schldl. (Rubiaceae) apresentam em sua composição química os triterpenos: ácido oleanólico e ácido ursólico e, quando utilizados na germinação das sementes de alface, promoveram redução no comprimento das radículas de suas plântulas (DUARTE, 2012). De acordo com Golisz *et al.* (2007), o ácido cafeico, possui um efeito inibitório sobre crescimento da radícula de plântulas de alface, desse modo, considerando que esta substância também é encontrada em espécies de *Cordia* pode-se supor que o efeito alelopático observado pode também ser atribuído a presença do composto.

Possíveis efeitos causados por vários compostos químicos sobre o crescimento já foram apontados, com destaque para as alterações de membranas, na síntese proteica, na respiração, na conformação de moléculas, no alongamento celular e na ultraestrutura de ápices radiculares (FERREIRA, 2004)

Em relação aos caulículos de carrapicho, pôde-se observar que seu comprimento foi inibido em todos os tratamentos de *C. myrciifolia*. Por outro lado, apenas os extratos de *C. sessilis* a 100% afetou o comprimento dos caulículos de carrapicho, ao passo que

o Extrato Aquoso Bruto de *C. rigida* inibiu o comprimento dos caulículos submetidos aos extratos a partir de 50% de concentração (Figura 11).

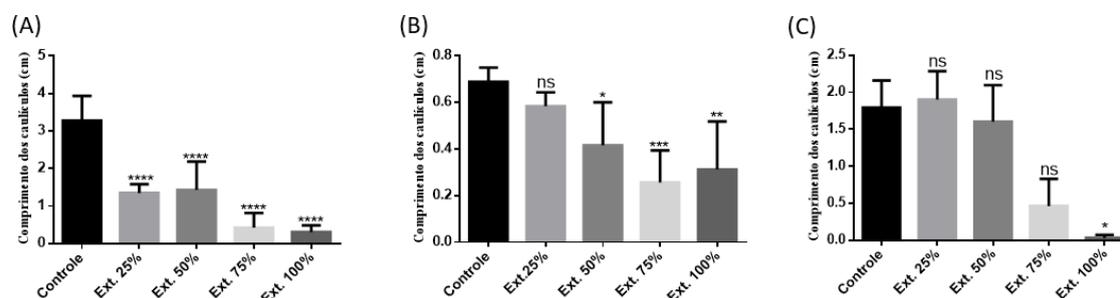


Figura 11- Comprimento dos caulículos de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(****) ($p < 0,01$); (***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (**) e (*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si. Em (A) e (C) foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Tais resultados podem ser devidos à presença de aleloquímicos encontrados nas plantas os quais podem interferir de forma negativa no desenvolvimento vegetal, atuando na divisão celular, permeabilidade de membranas, ativação de enzimas, sequestro de oxigênio, entre outros (ROSADO, 2009; FERREIRA; ÁQUILA, 2000).

Em relação ao desenvolvimento dos folíolos de carrapicho, o Extrato Aquoso Bruto de *C. rigida* não surtiu efeito em qualquer concentração. Já os Extratos Aquosos Brutos de *C. sessilis* a 100% e de *C. myrciifolia* a 75% e 100% de concentração interferiram de forma negativa no desenvolvimento dos folíolos promovendo a redução de seu desenvolvimento (Figura 12).

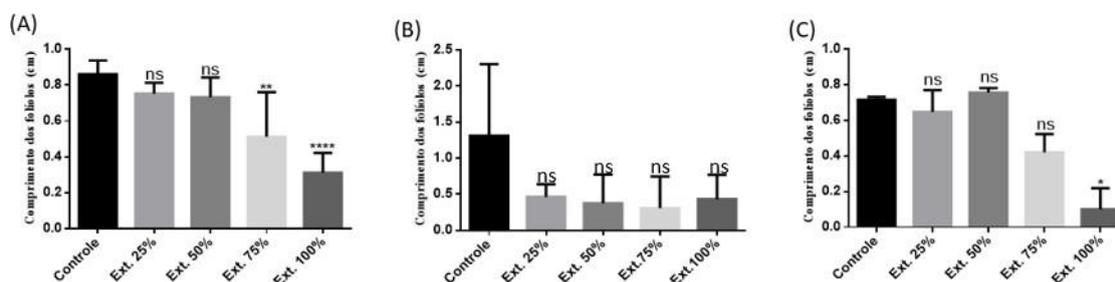


Figura 12: Comprimento dos folíolos de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em diversas concentrações de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*

(****) ($p < 0,01$); (**) e (*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si. Em (B) e (C) foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Fiorenza *et al.* (2016) em pesquisa realizada com o Extrato Aquoso por infusão do caule e folhas de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni - Poaceae) em diversas concentrações, cuja composição química apresenta compostos semelhantes aos das espécies estudadas nesta pesquisa, verificaram que ele interferiu no crescimento inicial do milho, aveia-branca, azevém-anual, trevo-vermelho e cornichão, com redução e/ou inibição no comprimento da parte aérea (cm) das mesmas.

Observa-se que os extratos de *C. myrciifolia*, *C. sessilis* e *C. rigida* apresentaram mais interferências negativas quando se refere as raízes de carrapicho do que das partes aéreas do mesmo. Estruturas distintas podem responder de formas diferentes aos aleloquímicos (DE CONTI; FRANCO, 2011) os quais podem atuar de forma isolada ou conjunta. Esta diferença entre o crescimento da radícula e parte aérea das plantas pode inviabilizar o desenvolvimento, gerando plântulas anormais (FERREIRA; AQUILA, 2000).

5.4 Efeitos citotóxicos do Extrato Aquoso por Infusão (EAI) de *Cordia* spp. aplicados ao carrapicho.

Para a germinação de carrapicho, o Extrato Aquoso por Infusão de *C. myrciifolia* demonstrou interferências inibitórias em todas as concentrações, sendo 50% e 75% mais expressivos. Por outro lado, os EAI de *C. rigida* e *C. sessilis* não causaram interferência significativa em relação a este parâmetro (Figura 13).

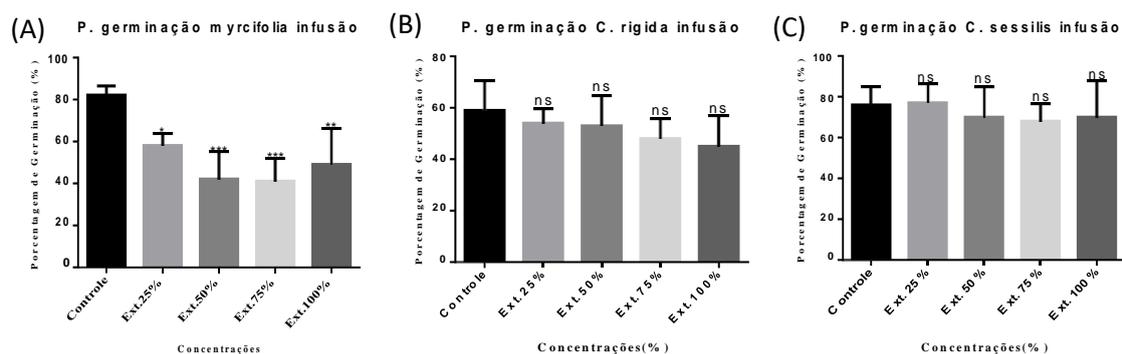


Figura 13: Número de sementes germinadas de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (**) e (*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si.

O extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) na concentração de 10.000 mg L⁻¹ afetou o percentual de sementes germinadas de *Lactuca sativa* L., *C. coriaceum* apresenta em sua composição química alguns dos mesmos compostos que são encontrados em espécies de *Cordia*, como por exemplo a quercetina, ácido cafeico e ácido gálico (MIRANDA *et al.*, 2021).

Segundo Ferreira e Áquila (2000), muitas vezes o efeito alelopático não é expressivo sobre a porcentagem de germinação final, mas podem atuar em outros parâmetros do processo germinativo, esse pode ser um dos motivos para os Extratos Aquosos por Infusão de *C. sessilis* e *C. rigida* não terem apresentados resultados significativos para tal variável.

No índice de velocidade de germinação, os resultados foram similares ao número de sementes germinadas, pois o EAI de *C. myrciifolia* reduziu o IVG de carrapicho a partir da concentração de 50% (Figura 14). Ao contrário desta, todos os extratos de *C. sessilis* e *C. rigida*, não demonstraram nenhum tipo de interferência em relação a esse parâmetro.

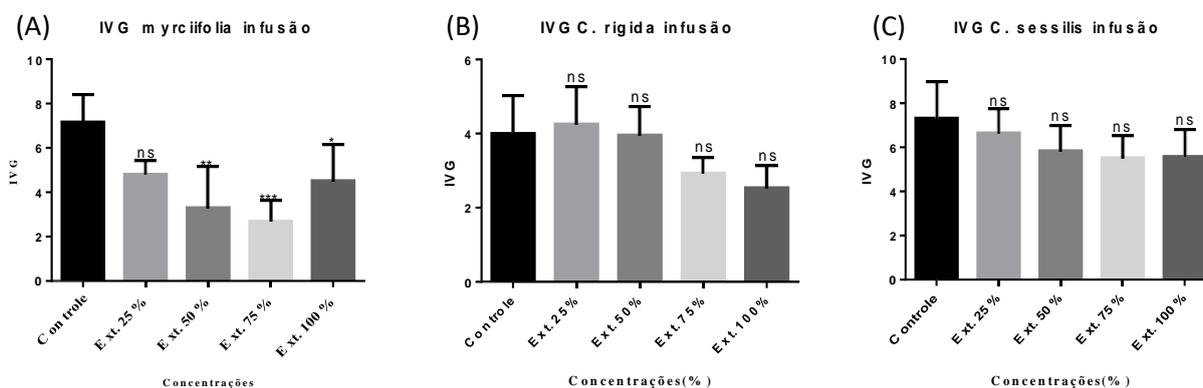


Figura 14: Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (**) e (*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si.

Na literatura são encontrados estudos de atividades biológicas com outras espécies pertencentes a família Rubiaceae ao qual são atribuídos efeitos alelopáticos sobre outras plantas (MOREIRA 2018; GONÇALVES, 2007; ANDRADE *et al.*, 2015). Gonçalves, 2007, estudou a atividade alelopática de *Alibertia edulis* Rich. (Rubiaceae) em relação ao Índice de Velocidade de Germinação quando aplicado nas sementes de alface, observou uma interferência prejudicial afetando o mesmo.

Os comprimentos das radículas das plântulas de carrapicho, submetidas aos Extratos Aquosos por Infusão a 50% e 75% de concentração de *C. myrciifolia* e *C. sessilis* sofreram interferência negativa (Figura 15). O oposto foi observado no EAI de *C. rigida*, que não promoveu nenhuma atividade alelopática significativa.

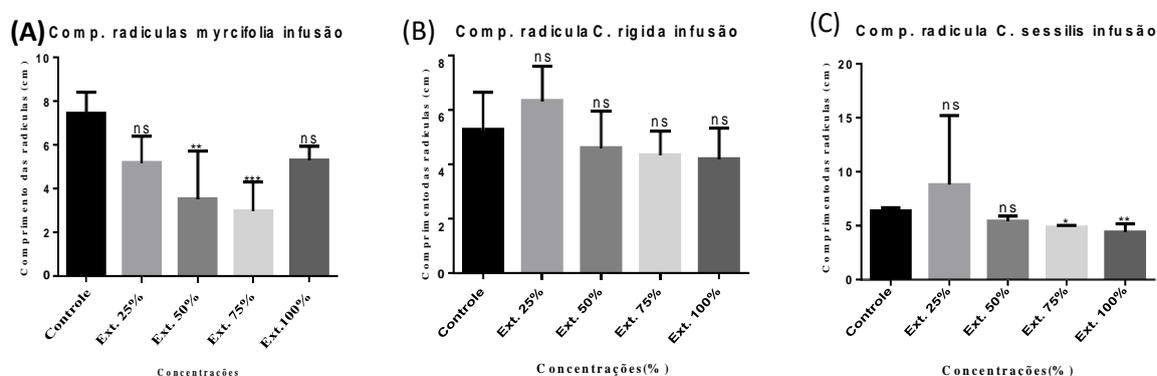


Figura 15: Comprimento das radículas de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (**) e (*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si. Em (C) foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Moreira, 2018, mostrou que os extratos das folhas e caule de *Borreria latifolia* (Aub.) K. Schum.) (Rubiaceae) não interferiram na germinação das sementes de trigo, por outro lado, afetaram prejudicialmente o desenvolvimento das plântulas. Em trigo e couve os extratos induziram a redução do desenvolvimento do sistema radicular e aumento da parte aérea. Enquanto em azevém, os extratos da mesma espécie doadora reduziram tanto o desenvolvimento das raízes quanto da parte aérea.

Os Extratos Aquosos por Infusão de *C. sessilis* e *C. rigida* também não interferiram no desenvolvimento dos caulículos do carrapicho, ao contrário de *C. myrciifolia* que a partir de todas as concentrações, interferiu negativamente reduzindo o comprimento da referida estrutura (Figura 16).

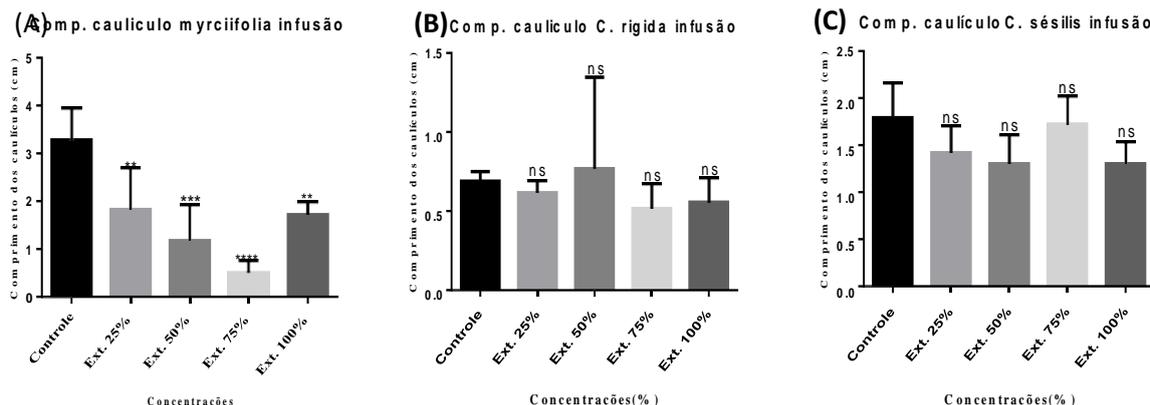


Figura 16: Comprimento dos caulículos de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(****) ($p < 0,01$); (***) ($0,01 \leq p < 0,05$); (**) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si. Em (B) foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Andrade e colaboradores, 2015, relataram que os extratos das folhas de *Palicourea rigida* Kunth (Rubiaceae) reduziram o desenvolvimento da parte aérea de *Lycopersicon esculentum* Mill em todas as concentrações testadas, atribuindo tal efeito a presença de aleloquímicos, os quais atuam de forma isolada ou conjuntamente.

Em relação ao desenvolvimento dos folíolos, os Extratos Aquosos por Infusão das espécies doadoras não interferiram em nenhuma concentração testada, exceto no extrato a 75% de *C. myrciifolia*, que promoveu uma redução no tamanho da estrutura (Figura 17).

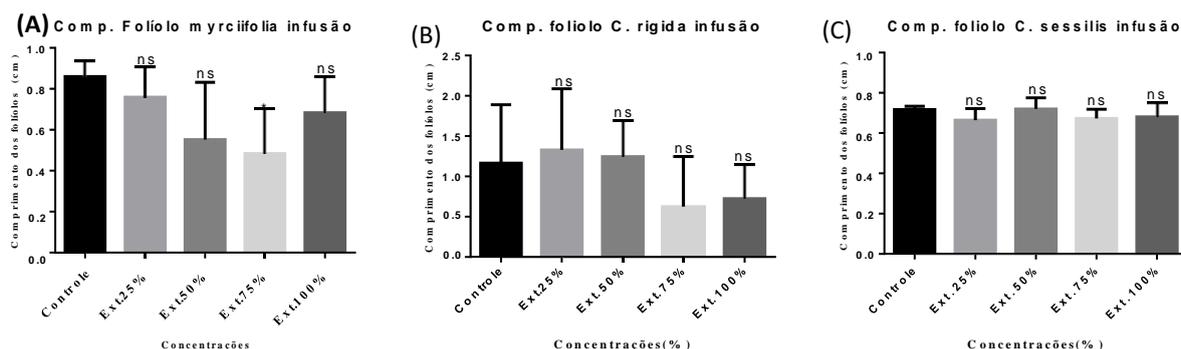


Figura 17: Comprimento dos folíolos de *Cenchrus echinatus* L. submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia rigida* e (C) *Cordia sessilis*.

(*) ($p > 0,01$), (ns) não significativo ($p \geq 0,05$). Quantidades de asteriscos iguais não diferem estatisticamente entre si. Em (B) foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Dessa forma pode-se observar que os compostos químicos presentes em *C. myrciifolia* interferiram negativamente, tanto na germinação quanto no desenvolvimento radicular e da parte aérea das plântulas de *Cenchrus echinatus*.

5.5 Índice Mitótico

5.5.1 Índice Mitótico e Aberrações Cromossômicas das células das radículas de *Cenchrus echinatus* submetidas ao Extrato Aquoso Bruto de *C. myrciifolia*, *C. sessilis* e *Cordia rigida*.

O Extrato Aquoso Bruto de *Cordia myrciifolia* a 25% de concentração causou uma diminuição do Índice Mitótico das células de carrapicho e a partir de 50% de concentração provocou um aumento do mesmo (Figura 18A). Dentre as curvas de regressões, o modelo cúbico foi o que mais se adequou aos dados obtidos.

O Extrato Aquoso Bruto de *C. sessilis* nas diversas concentrações não interferiu estatisticamente nos valores do Índice Mitótico das células meristemáticas do carrapicho, porém observa-se no gráfico da figura 18 um aumento a partir da concentração de 25%, mas de forma não significativa em comparação ao controle (Figura 18B).

Houve um estímulo no Índice Mitótico das células meristemáticas de carrapicho sob aplicação do Extrato Aquoso Bruto das folhas de *Cordia rigida* em todas as concentrações quando comparados com a amostra controle. O modelo quadrático foi o que melhor explicou esse estímulo (Figura 18C).

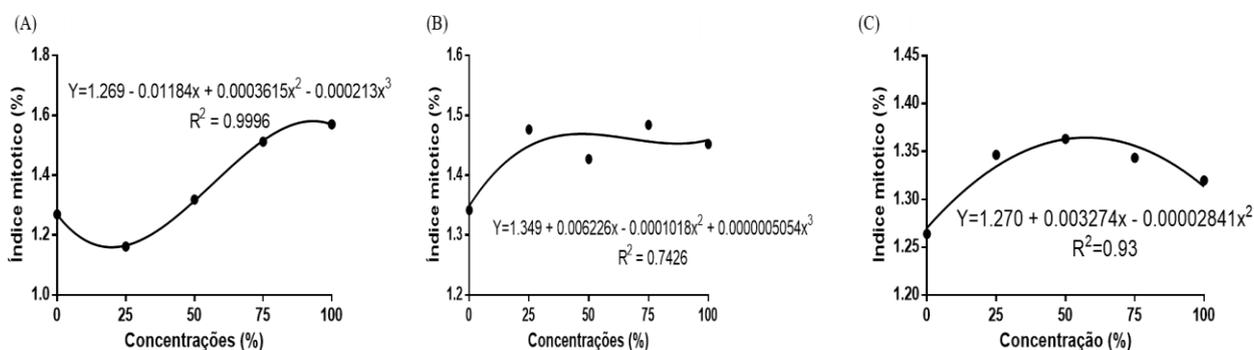


Figura 18: Índice Mitótico das células meristemáticas radiculares de carrapicho submetidas ao Extrato Aquoso Bruto de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia sessilis* e (C) *Cordia rigida*.

O Extrato Aquoso Bruto de *Cordia myrciifolia* estimulou a proliferação celular de carrapicho, porém boa parte dessas células encontrava-se com anomalias em suas divisões, essas deformidades foram observadas nas células radiculares das plântulas submetidas ao Extrato Aquoso Bruto em todas as concentrações testadas de ambas as espécies doadoras.

Existem na literatura trabalhos de diferentes autores onde são relatadas a ocorrência de proliferação celular causada por extratos contendo compostos químicos das plantas doadoras, a exemplo de estudo realizado por Solano et al. (2015), o Extrato Aquoso Bruto das cascas de *Hymenea coubaril* L. (Fabaceae) estimulou as divisões celulares das células meristemáticas das raízes de *Lactuca sativa*.

Alterações (anomalias) nas divisões celulares foram observadas, principalmente na prófase sendo essa a fase mais encontrada nas amostras. Tais alterações podem ser prejudiciais às células, pois podem levar a uma proliferação celular desordenada e formação de calos em raízes (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Foi possível observar em *C. myrciifolia*, células apresentando anomalias a partir da concentração de 25% com percas cromossômicas na metáfase (Figura 19A), prófases anormais (Figura 19B), adesão cromossômica na metáfase (Figura 19C), prófases com ausência da membrana (Figura 19D), ponte anafásica (Figura 19E), célula apoptótica (Figura 19F), adesão cromossômica na telófase (Figura 19G), prófase rompida (Figura 19H), adesão cromossômica na anáfase (Figura 19I). Nas células das radículas das plântulas submetidas ao extrato a 50% observaram-se perda do material genético (Figura 19J), perda cromossômica na metáfase (Figura 19K), adesão cromossômica na anáfase (fig. 19L) e telófase (fig. 19M), ponte anafásica (fig. 19N), célula binucleada (Figura 19O), aderência e perda cromossômica na metáfase (Figura 19P), anáfase com perda cromossômica (Figura 19Q). Na concentração de 75% verificou-se a ocorrência de célula com adesão do núcleo e perda cromossômica (fig. 19R), anáfase com perda cromossômica (Figura 19S), metáfase invertida (Figura 19T), célula apoptótica (Figura 19U). E a 100% observou-se células com núcleos altamente condensados (Figura 19V).

Uma divisão uniforme em todos os componentes celulares permite um crescimento equilibrado do organismo da planta. O crescimento e morfogênese da planta dependem de progressão adequada do ciclo celular e o número de células em divisão, diante disso, qualquer mudança no tempo e ordem desses eventos, pode contribuir como desequilíbrio em seu desenvolvimento (SÁNCHEZ-MOREIRAS; DE LA PEÑA; REIGOSA., 2006).

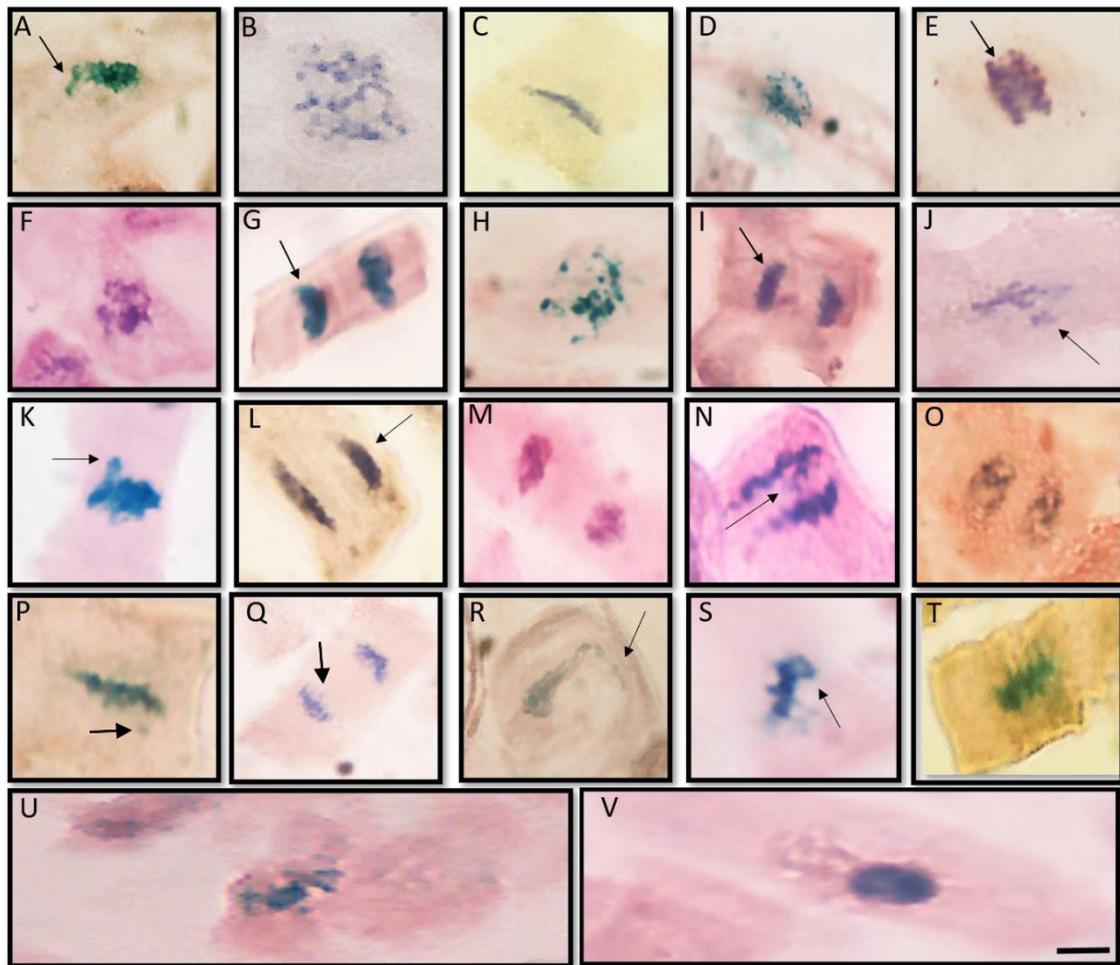


Figura 19: Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso Bruto de *Cordia myrciifolia* nas concentrações de 25% (A - I); 50% (J - Q); 75% (R - U) e 100% (V). A. Perda cromossômica na metáfase; B. Prófase anormal; C. Aderência cromossômica na metáfase; D. Prófase com ausência da membrana; E. Ponte anafásica; F. Célula apoptótica; G. Adesão cromossômica na telófase; H. Prófase rompida; I. Adesão cromossômica na anáfase; J. Perda de material genético; K. Perda cromossômica na metáfase; L. Adesão cromossômica na anáfase; M. Aderência telofásica; N. Ponte anafásica; O. Célula binucleada; P. Aderência e perda cromossômica; Q. Anáfase com perda cromossômica; R. Célula com adesão do núcleo e perda cromossômica; S. metáfase com perca cromossômica; T. Metáfase invertida; U. Célula apoptótica; V. Núcleo altamente condensado.

Os critérios utilizados para confirmar a presença das alterações cromossômicas observadas, estão de acordo com Picker e Fox (1986), que relacionaram os seguintes tipos de alterações: quebras cromatídicas equivalentes a perda de cromátides do cromossomo ou por fragmentação, que ocorrem nas cromátides durante a divisão celular; não disjunção dos cromossomos no final da metáfase, formando estruturas denominadas de pontes telofásicas, alterações essas observadas no início ou final de

telófase; fuso acromático desestabilizado, o qual pode provocar perda de cromossomos inteiros durante o processo de divisão celular e morte celular (apoptose celular).

O Extrato Aquoso Bruto de *C. sessilis* a 25% de concentração promoveu a formação de células com perdas cromossômicas na metáfase (Figura 20A), C-metáfase (fig. 20B), prófase rompida sem membrana (Figura 20C), e telófase com aderência cromossômica (Figura 20D). A 50% foram observadas metáfase com aderência cromossômica (Figura 20E) e metáfase multipolar (Figura 20F). No extrato a 75% verificou-se a ocorrência de célula apoptótica na metáfase (Figura 20G), célula em apoptose com núcleo condensado (Figura 20H). E a 100%, célula com núcleo condensado (Figura 20I).

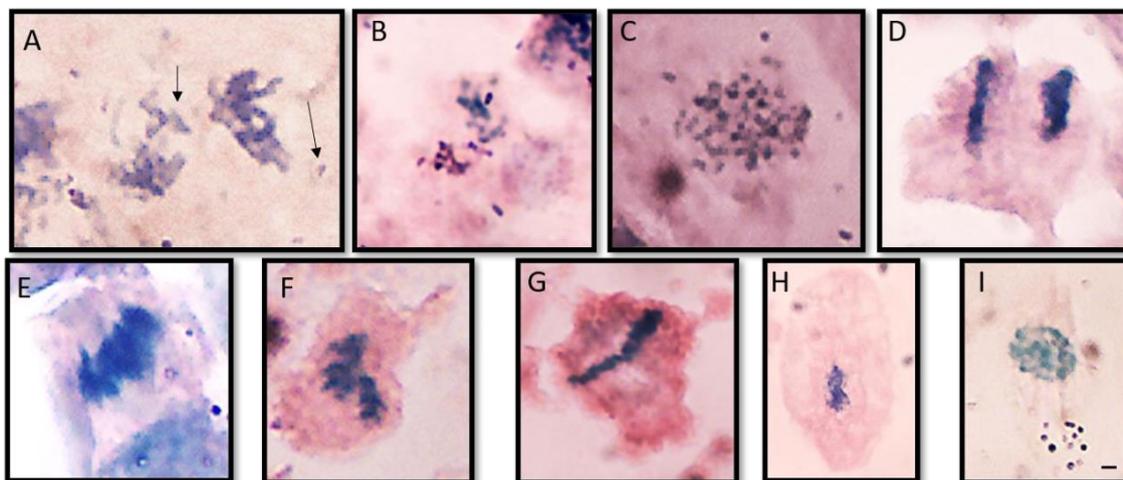


Figura 20: Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso Bruto de *Cordia sessilis* nas concentrações de 25% (A - D); 50% (E - F); 75% (G - H); 100% (I). A. Perdas cromossômicas na metáfase; B. C-metáfase; C. Prófase rompida sem membrana; D. Telófase com aderência cromossômica; E. Metáfase com aderência cromossômica; F. metáfase multipolar; G. Célula apoptótica na metáfase; H. Célula em apoptose com núcleo condensado; I. Célula com núcleo condensado.

Lubini et al, (2008), analisando o índice Mitótico e as irregularidades nas células meristemáticas de *Allium cepa*, quando aplicado o Extrato Aquoso por Infusão das folhas de *Psychotria myriantha* (Rubiaceae), constatou a presença de algumas anomalias como quebras cromossômicas, retardos cromossômicos, pontes anafásicas e micronúcleos na telófase.

Células meristemáticas do carrapicho apresentando anomalias foram observadas quando submetidas ao EAB de *C. rigida* em suas concentrações, em 25%: Aderência cromossômica na metáfase (Figura 21A); Perca cromossômica na metáfase (Figura

21B); Telófase com aderência (Figura 21C); em 50%: Célula apoptótica (Figura 21D); Metáfase com aderência (Figura 21E); Micronúcleo na interfase (Figura 21F); Núcleo anômalo (Figura 21G); Ponte telofásica (Figura 21H); Perca cromossômica na anáfase (Figura 21I), em 75%: Célula em apoptose (Figura 21J); Metáfase com aderência e perca cromossômica (Figura 21K); Metáfase com aderência cromossômica (Figura 21L); Prófase com perca cromossômica (Figura 21M), em 100%: Célula em apoptose (Figura 21N); Metáfase com aderência cromossômica (Figura 21O); Metáfase com perca cromossômica (figura 21P); Ponte telofásica (Figura 21Q); Telófase com aderência (Figura 21R).

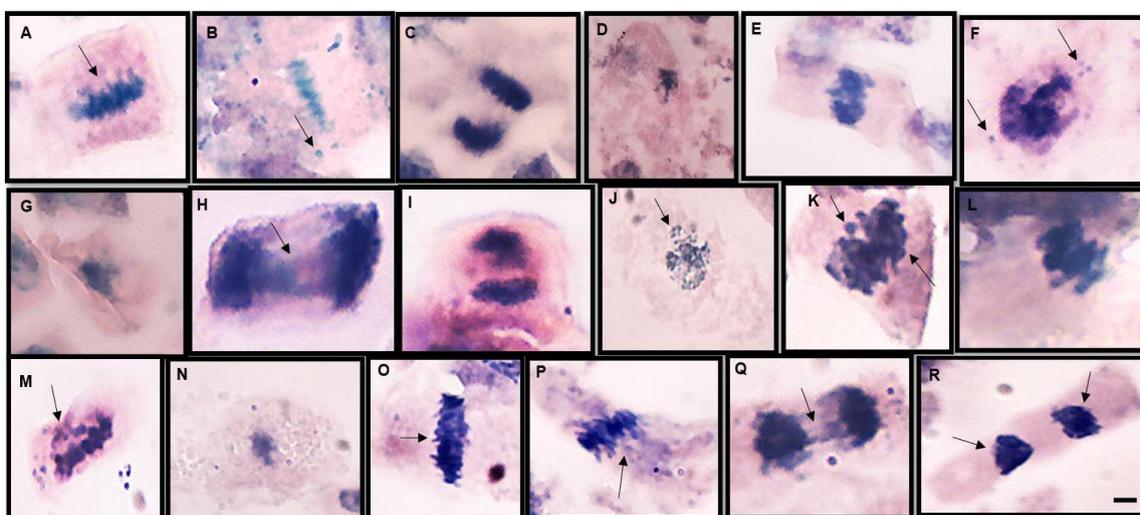


Figura 21: Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso Bruto de *Cordia rigida* nas concentrações de 25% (A - C); 50% (D - I); 75% (J - M); 100% (N - R). A. Aderência cromossômica na metáfase; B. Perca cromossômica na metáfase; C. Telófase com aderência; D. Célula apoptótica; E. Metáfase com aderência; F. Micronúcleo na interfase; G. Núcleo anômalo; H. Ponte telofásica; I. Perca cromossômica na anáfase; J. Célula em apoptose; K. Metáfase com aderência e perca cromossômica; L. Metáfase com aderência cromossômica; M. Prófase com perca cromossômica; N. Célula em apoptose; O. Metáfase com perca cromossômica; P. Metáfase com perca cromossômica; Q. Ponte telofásica; R. Telófase com aderência.

5.5.2 Índice Mitótico e Aberrações Cromossômicas nas células das radículas de *Cenchrus echinatus* submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia myrciifolia*, *Cordia sessilis* e *Cordia rigida*

O Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia myrciifolia* em todas as concentrações testadas promoveram um aumento do Índice Mitótico das células

radiculares das plântulas da espécie receptora quando comparado ao grupo Controle (Figura 22A). No entanto, verificou-se uma redução do referido índice em relação a ação do extrato a 50% quando comparado a do extrato a 25% e uma redução da ação do extrato a 100% em comparação a do extrato a 75%. Os extratos de *C. sessilis* provocaram um estímulo no IM das células radiculares das plântulas de carrapicho em todas as concentrações, sendo a de 50% mais expressiva, quando comparadas com o grupo controle (Figura 22B). O Extrato Aquoso por Infusão de *C. rigida* também estimulou o Índice Mitótico de carrapicho em todas as concentrações quando comparadas a solução controle, a concentração 25% foi a mais expressiva (Figura 22C).

Após testar o efeito alelopático dos extratos foliares de três espécies de boldo aplicados nas sementes de cebola, Iganci e colaboradores, 2006, verificaram um aumento no Índice Mitótico das células da raiz da espécie receptora, submetidas a tais extratos, o que indica que eles podem conter aleloquímicos responsáveis pelo aumento na divisão celular.

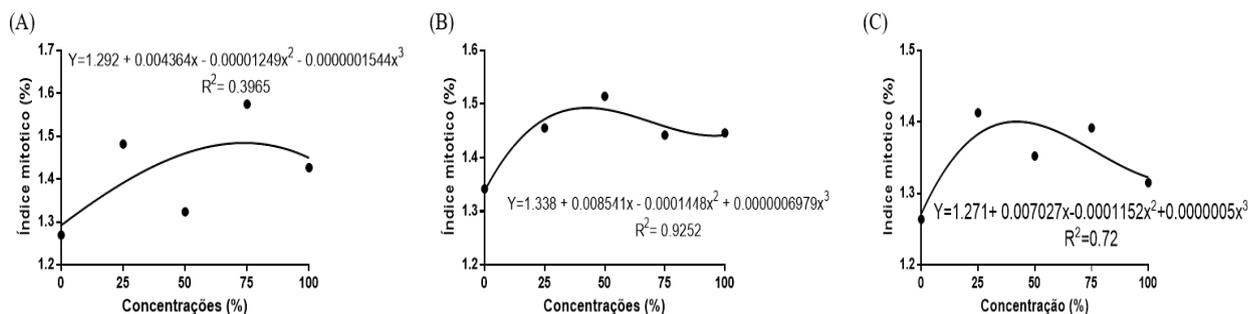


Figura 22: Índice Mitótico médio das células meristemáticas de carrapicho submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de (A) *Cordia myrciifolia*, (B) *Cordia sessilis* e (C) *Cordia rigida*.

Os Extratos Aquosos por Infusão das três espécies doadoras provavelmente foram responsáveis pela ação positiva observada em relação ao Índice Mitótico das células meristemáticas de carrapicho, porém com a ocorrência de muitas anomalias em todos os estágios da divisão celular.

Em *Cordia myrciifolia* observou-se anomalias na concentração de 25%, como anáfase com adesão cromossômica (Figura 23A), célula apoptótica (Figura 23B), perda e aderência cromossômica na metáfase (Figura 23C), prófase sem membrana nuclear (Figura 23D), ponte anafásica (Figura 23E). Em 50% foram visualizadas células com aderência cromossômica na metáfase (Figura 23F), metáfase invertida (Figura 23G), prófase sem membrana (Figura 23H) e telófase com aderência cromossômica (Figura

23I). A 75% verificou-se a presença de células com aderência cromossômica na anáfase (Figura 23J), metáfase (Figura 23K) e na telófase (Figura 23L), perca cromossômica na metáfase (Figura 23M) e telófase (Figura 23N). E a 100% células com aderência cromossômica na metáfase (Figura 23O), anáfase (Figura 23P) e telófase (Figura 23Q), metáfase com perca cromossômica (Figura 23R) e metáfase invertida (Figura 23S).

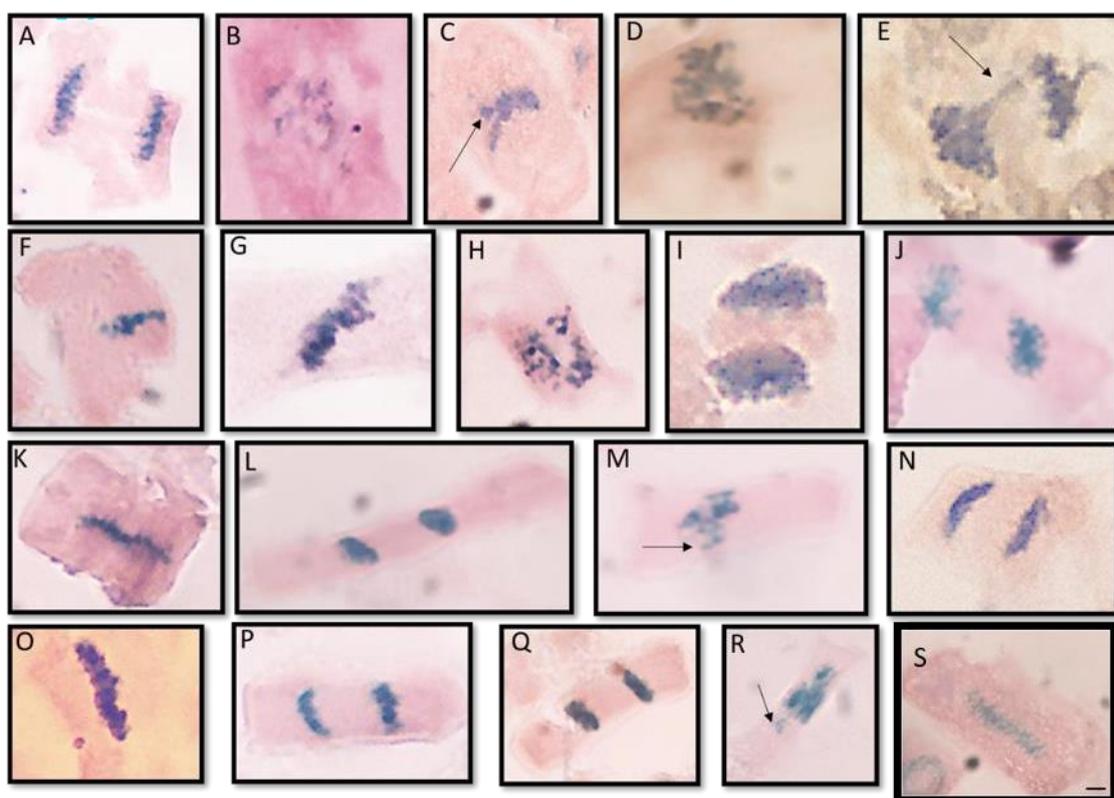


Figura 23: Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia myrciifolia* nas concentrações de 25% (A - E); 50% (F - I); 75% (J - N) e 100% (O - S). A. anáfase com adesão cromossômica; B. célula apoptótica; C. perca e aderência cromossômica na metáfase; D. Prófase com ausência da membrana; E. Ponte anafásica; F. aderência cromossômica na metáfase; G. metáfase invertida; H. prófase sem membrana; I. telófase com aderência cromossômica; J. aderência cromossômica na anáfase; K. aderência cromossômica na metáfase; L. Adesão cromossômica na telófase; M. perca cromossômica na metáfase; N. perca cromossômica na telófase; O. aderência cromossômica na metáfase; P. aderência cromossômica na anáfase; Q. aderência cromossômica na telófase; R. metáfase com perca cromossômica; S. metáfase invertida.

Coelho et al, (2013), trabalhando o Extrato Aquoso por Infusão das folhas de *Echinodorus longiscapus* Arechav. (Alismastaceae) também encontraram na sua composição ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico e rutina que promoveram algumas alterações cromossômicas nas células meristemáticas de *Allium cepa*, tais como, ponte anafásica, quebras e percas cromossômicas.

As células das radículas das plântulas de carrapicho submetidas ao extrato de *C. sessilis*, a 25% apresentaram anáfase com aderência cromossômica (Figura 24A), anáfase com micronúcleo (Figura 24B), metáfase com aderência cromossômica e perca (Figura 24C), metáfase invertida (Figura 24D), núcleo condensado (Figura 24E), ponte anafásica (Figura 24F), prófase sem membrana (Figura 24G), telófase com aderência cromossômica (Figura 24H). A 50% anáfase com perca cromossômica (Figura 24I), célula com núcleo condensado (Figura 24J), célula em apoptose (Figura 24K), prófase em apoptose (Figura 24L), metáfase com aderência (Figura 24M), prófase rompida (Figura 24N), telófase com aderência cromossômica (Figura 24O), anáfase com micronúcleo (Figura 24P). A 75% anáfase em apoptose (Figura 24Q), prófase sem membrana (Figura 24R), metáfase com perca cromossômica (Figura 24S). E a 100%, célula com anáfase com aderência cromossômica (Figura 24T), anáfase com perca cromossômica (Figura 24U), células em apoptose (Figura 24V), metáfase com perca cromossômica e condensação (Figura 24X).

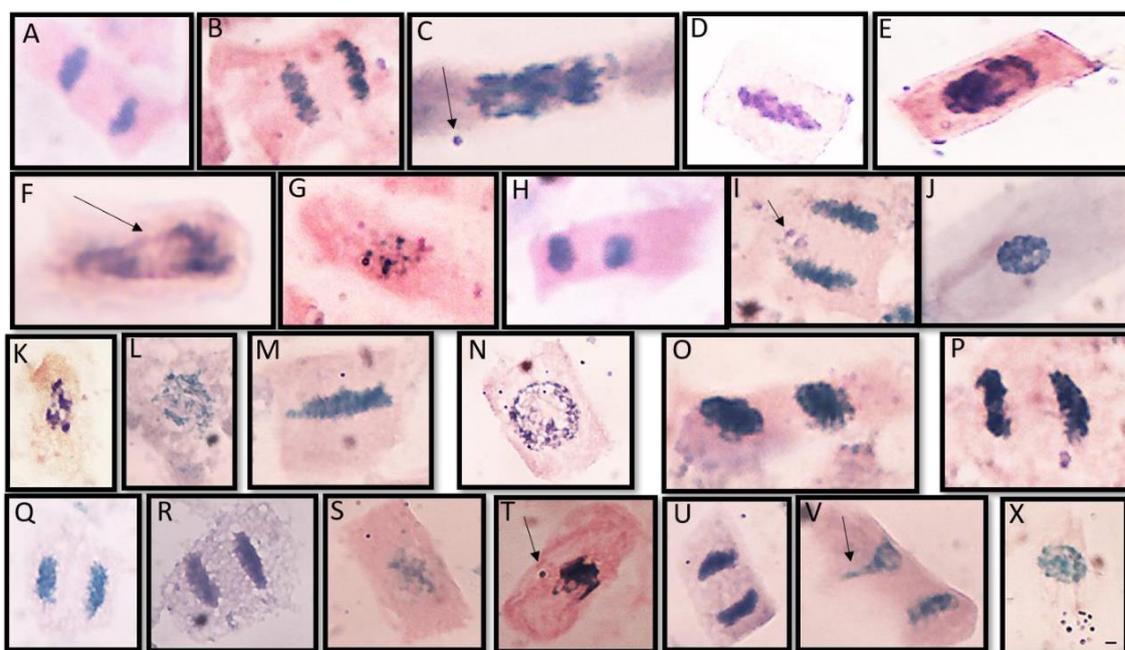


Figura 24: Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso por Infusão de *Cordiera sessilis* nas concentrações de 25% (A - H); 50% (I - P); 75% (Q - S) e 100% (T - X). A. Anáfase com aderência cromossômica, B. Anáfase com micronúcleo, C. Metáfase com aderência cromossômica e perca, D. Metáfase invertida, E. Núcleo condensado, F. Ponte anafásica, G. Prófase sem membrana, H. Telófase com aderência cromossômica, I. perca cromossômica, J. Célula com núcleo condensado, K. Célula em apoptose, L. Prófase em apoptose, M. Metáfase com aderência, N. Prófase rompida, O. Telófase com aderência cromossômica, P. Anáfase com micronúcleo, Q. Anáfase em apoptose, R. Prófase sem membrana, S. Metáfase com perca cromossômica.

T. Célula anafásica com aderência cromossômica, U. Anáfase com perca cromossômica, V. Células em apoptose, X. Metáfase com perca cromossômica e condensação.

Esses dados vão ao encontro dos resultados encontrados por Santos et al, (2018), onde os extratos secos dos frutos de *Morinda citrifolia* (Rubiaceae) apresentaram alguns compostos químicos como ácido gálico (CANUTO et al., 2010), também encontrados nas espécies de *Cordia*, provocaram anomalias cromossômicas (Micronúcleo; metáfase desorganizada; prófase desorganizada; célula binucleada; anáfase irregular e cromossomo solto) nas células meristemáticas de *Allium cepa* demonstrando um efeito genotóxico.

Células meristemáticas do carrapicho apresentando anomalias foram observadas quando submetidas ao Extrato Aquoso por Infusão de *C. rigida* em suas concentrações, em 25%: Célula apoptótica (Figura 25A); Micronúcleo na interfase (Figura 25B); Em 50%: Perca cromossômica na metáfase (Figura 25C); Aderência cromossômica na metáfase (Figura 25D); Aderência cromossômica na telófase (Figura 25E); Célula apoptótica (Figura 25F); Micronúcleo (Figura 25G); Em 75%: Aderência cromossômica na metáfase (Figura 25H); Célula apoptótica (Figura 25I); Micronúcleo na interfase (Figura 25J); Em 100%: Rompimento da prófase (Figura 25K); Aderência cromossômica na metáfase (Figura 25L).

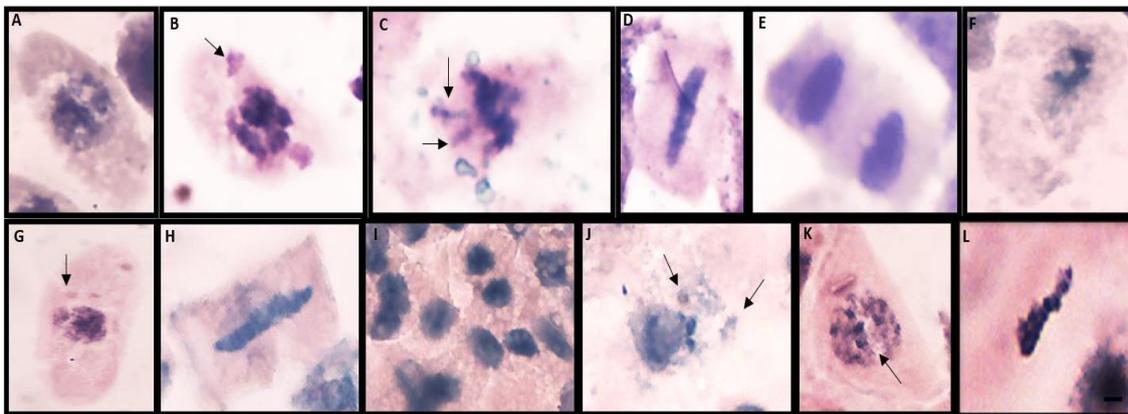


Figura 25: Células meristemáticas radiculares de carrapicho sob o efeito do Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia rigida* nas concentrações de 25% (A - B); 50% (C - G); 75% (H - J) e 100% (K - L). A. Célula apoptótica; B. Micronúcleo na interfase; C. Perca cromossômica na metáfase; D. Aderência cromossômica na metáfase; E. Aderência cromossômica na telófase; F. Célula apoptótica; G. Micronúcleo; H. Aderência cromossômica na metáfase, I. Célula apoptótica; J. Micronúcleo na interfase; K. Rompimento da prófase, L. Aderência cromossômica na metáfase.

6. CONCLUSÕES

Dentre as três espécies doadoras, *Cordia myrciifolia* foi a que apresentou um efeito alelopático, mais expressivo interferindo de forma negativa sobre todos os parâmetros analisados junto às sementes e plântulas de *Cenchrus echinatus* submetidas aos dois tipos de extratos utilizados (Extrato Aquoso Bruto e Extrato Aquoso por Infusão).

O Extrato Aquoso Bruto das três espécies de *Cordia* apresentou um efeito mais expressivo do que o Extrato Aquoso por Infusão na germinação e desenvolvimento *Cenchrus echinatus*.

Quanto a análise citotóxica, tanto Extrato Aquoso Bruto quanto Extrato Aquoso por Infusão de *Cordia myrciifolia* e *Cordia sessilis* estimularam o Índice Mitótico e promoveram a proliferação de células em divisões, em sua maioria contendo aberrações cromossômicas o que repercutiu na inibição do desenvolvimento da radícula de *Cenchrus echinatus*.

Os resultados obtidos mostram a presença de metabólitos secundários com potencial alelopático presentes nos extratos aquosos das espécies de *Cordeira*, evidenciando a necessidade de maiores estudos a fim de confirmar o uso das mesmas em uma possível produção de um herbicida natural para atuar no controle de espécies daninhas.

REFERÊNCIAS

AHMAD, V.U. Handbook of Natural Products Data: Pentacyclic Triterpenoids; **Elsevier Science: New York, NY, USA**, v 2, p. 1556. 1994.

ALVES S.M.; SANTOS L.S. Natureza Química dos Agentes Alelopáticos. In: SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. (Editores). **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 25-47. 2002.

ANDRADE, A. O; DA SILVA, M. A. P; DE OLIVEIRA, A. H; DOS SANTOS, M. A. F; GENERINO, M. E. M; TORQUATO, I. H. S. Potencial alelopático de *Palicourea rigida* Kunth na germinação e desenvolvimento de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Cad Cult Cienc**, v. 14, n. 2, p. 25-34, 2015.

BARBOSA, M.R; ZAPPI, D; 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; GERMANO FILHO, P; OLIVEIRA, J.A; BRUNIERA, C.P.M; DE TONI, K; FIRENS, M. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113. 2015.

BERTIN, C; YANG, X; WESTON, L. A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 67-83, 2003.

BOLZANI, V. S; TREVISAN, L. M. V; YOUNG, C. M. Caffeic acid esters and triterpenes of *Alibertia macrophylla*. **Phytochemistry, Ontario**, v. 30, n. 6, p. 2089-2091, 1991.

BRAGA, I. M. R. F. Interferência de plantas daninhas com hábito trepador na cultura do milho. **Jaboticabal**, 2018.

BRIGHENTI, A. M; OLIVEIRA, M. F; COUTINHO FILHO, S. D. A. Controle de plantas daninhas por roçada articulada e eletrocussão. **Biologia e manejo de plantas daninhas**, v. 1, p. 1-36, 2018.

BUBNA, G. A; LIMA, R. B; ZANARDO, D. Y. L; DOS SANTOS, W. D; FERRARESE, M. D. L. L; FERRARESE-FILHO, O. Exogenous caffeic acid inhibits the growth and enhances the lignification of the roots of soybean (*Glycine max*). **Journal of plant physiology**, v. 168, n. 14, p. 1627-1633, 2011.

CANELHAS, B. B. **Estudo químico, análise do óleo essencial e avaliação das atividades antioxidante e antibacteriana do Marmelinho [*Cordia sessilis* (Vell.) Kuntze (Rubiaceae)]**. (Dissertação) Mestrado em Química de Produtos Naturais. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

CANUTO, G. A. B; XAVIER, A.A.O; NEVES, L.C; BENASSI, M.T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade antiradical livre. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, p. 1196-1205, 2010

CARMO, F.M.S; BORGES, E.E.L; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 697-705, 2007.

CARVALHO, S.I.C. **Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. *vulgaris* cv. 85 Bandeirante**. Dissertação Mestrado em Zootecnia. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Viçosa, Brasil. 72p. 1993.

CHENG, F; CHENG, Z. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 1020, p. 1-16, 2015.

COELHO, A. P; FRESCURA, V; MAMBRI, A. P; BOLIGON, A; TEDESCO, S. Avaliação dos compostos fenólicos e potencial genotóxico e antiproliferativo do extrato de *Echinodorus longiscapus* Arech. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, 2013.

CONCENÇO, G; ANDRÉ, A; FERREIRA DA SILVA, A; MONQUERO, A. Ciência das plantas daninhas: histórico, biologia, ecologia e fisiologia. In: MONQUERO, P.A. (Ed.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: Editora Rima – SBCPD. p.1-29. 2014.

CONTI, D; FRANCO, E.T.H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris* Sw. na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17 n. 2-4, p. 193-203, 2011.

DAN, H. A; DAN, L. G. M; BARROSO, A. L. L; OLIVEIRA JR, R. S; ALONSO, D. G; FINOTTI, T. R. Influência do estágio de desenvolvimento de *Cenchrus echinatus* na supressão imposta por atrazine. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 179-184, 2011.

DELPRETE, P.G; JARDIM, J.G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and challenges. **Rodriguésia**, v. 63, n.1, p. 101-128, 2012.

DO CARMO, L. R; LEAL, L. S; RIBEIRO, L. R. *Allium cepa* e teste do Micronúcleo como bioindicadores de citogenotoxicidade em extratos aquosos de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 82419-82430, 2020.

DUARTE, A.F.S. **Estudo fitoquímico, toxicidade e atividades biológicas:(antioxidante, antimicrobiana e alelopática) de cascas do caule de *Guettarda uruguensis* Cham. & Schldtdl. Rubiaceae**. 2012. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 117p.

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

FERNANDES, L. A. V; MIRANDA, D. L. C; SANQUETTA, C. R. Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 5, n. 2, p. 139-146, 2007.

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

FERREIRA, I.C.P; LONARDONI, M. V. C; MACHADO, G; LEON, L. L; GOBBI FILHO, L; PINTO, L. H. B; OLIVEIRA, A. J. B. D. Anti-leishmanial activity of alkaloidal extract from *Aspidosperma ramiflorum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n.3, p.325-327, 2004.

FIORENZA, M; DOTTO, D. B; BOLIGON, A. A; BOLIGON, A. A; ATHAYDE, M. L; & VESTENA, S. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni). **Iheringia, Série Botânica.**, v. 71, n. 2, p. 193-200, 2016.

FLORA DO BRASIL. **Rubiaceae in: Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB210>>. Acesso em: 17 jan. 2022

GADELHA MILITÃO, G. C; ÓPESSOA, C. D; COSTA-LOTUFO, L. V; AMARAL DE MORAES, M. E; DE MORAES, M. O; SILVA LUCIANO, J. H; SILVEIRA, E. R. Cytotoxicity of Flavonoids Isolated from *Alibertia myrciifolia*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 5, p. 480-484, 2005.

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

GATTI, A.B; TAKAO, L.K; PEREIRA, V.C; FERREIRA, A.G.B; LIMA, M.I.S; GUALTIERI, S.C.J. Seasonality effect on the allelopathy of cerrado species. **Brazilian Journal Biology**, v. 74, n. 3 (suppl.), p. S64-S69, 2014.

GOLISZ, A; LATA, B; GAWRONSKI, S. W; FUJII, Y. Specific and total activities of the allelochemicals identified in buckwheat. **Weed Biology and Management**, v. 7, n. 3, p.164-171, 2007.

GONÇALVES, V.D. Potencial alelopático de extratos foliares de espécies do cerrado. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 2, p. 354-356, 2007.

GOVAERTS, R; PFAHL, J; CAMPACCI, M. A; HOLLAND BAPTISTA, D; TIGGES, H.; SHAW, J; WOOD, J. World checklist of Rubiaceae. **The broad of trustees of Royal Botanical Gardens**. 2016.

GRISI, P. U; GUALTIERI, S. C. J; RANAL, M. A; SANTANA, D. G. Allelopathic effect of *Sapindus saponaria* fruit on germination and seedlings morphology of weed and vegetables. **Planta daninha**, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.

GUERRA M; SOUZA M.J. Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. **São Paulo, Funpec**, p. 131, 2002.

HARUN, M.A.Y.A; JOHNSON, R.W.R; UDDIN, M.Z. Allelopathic potential of *Chrysanthemoides monilifera* subsp. *monilifera* (boneseed): a novel weapon in the invasion processes. **South African Journal of Botany**, v.93, p.157-166, 2014

HIERRO, J. L; CALLAWAY, R. M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p .29-39, 2003. Disponível em: Doi: 10.1023/A:1026208327014

HIJANO N, ORZARI I; COLOMBO WL; NEPONUCEMO MP; ALVES PLCA. Interferência: Conhecer para Usá-la a Nosso Favor. **Mato logia**, p. 106-144, 2021.

HUANG, X; CHEN, J; LIU, J; LI, J; WU, M; & TONG, B. Autotoxicity Hinders the Natural Regeneration of *Cinnamomum migao* HW Li in Southwest China. **Forests**, v. 10, n. 10, p. 919-936, 2019.

IGANCI, J. R. V; BOBROWSKI, V. L; HEIDEN, G; STEIN, V. C; ROCHA, B. H. G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.1, p.79-82, 2006.

KOSALEC, I; BAKMAZ, M; PEPELINIAK, S; VLADIMIR-KNEZEVIC, S. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. **Acta Pharm.** v. 54, p. 65–72, 2004.

LABOURIAU, L. G. **Germinação de sementes**. Washington D. C: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. 174 p. 1983.

LARCHER, W.; PICCIONI, M. Ecofisiologia vegetal. **Edagricole**, 1993.

LEANDRO, C. D. S; BEZERRA, J. W. A; RODRIGUES, M. D. P; SILVA, A. K. F; DA SILVA, D. L; DOS SANTOS, M. A. F; ...; DA SILVA, M. A. P. Phenolic Composition and Allelopathy of *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. in Weeds. **Journal of Agricultural Science**, v. 11 n. 2, p. 109-120, 2019.

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

LIMA, H. R. P; OLIVEIRA, S. C. C; IKEDA, F. S; MORAES, L. F. D. Alelopatia: potencialidades do seu uso no controle do mato. In: OLIVEIRA, M. F; BRIGHENTI, A. M. Ed. **Tec. Controle de Plantas Daninhas Métodos físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia**. 1º ed. Brasília, DF: Embrapa, P, 169, MATSUMOTO2018.

LOFFREDO, E; MONACI, L; SENESI, N. Humic substances can modulate the allelopathic potential of caffeic, ferulic, and salicylic acids for seedlings of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 24, p. 9424-9430, 2005.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. [4ª edição]. **Instituto Plantarum, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil**, 2002.

LORENZI, H. Manual de identificação e de controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. 7ª ed., **Nova Odessa: Plantarum**, 2014. 383p.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3.ed. **Nova Odessa: Plantarum**, 608p. 2000.

LUBINI, G; FACHINETTO, J. M; LAUGHINGHOUSE, H. D; PARANHOS, J. T; SILVA, A. C; TEDESCO, S. B. Extracts affecting mitotic division in root-tip meristematic cells. **Biologia**, v. 63, n. 5, p. 647-651, 2008.

LUCIANO, J. H. S; LIMA, M. A. S; SOUZA, E. B; SILVEIRA, E. R Antifungal iridoids, triterpenes and phenol compounds from *Alibertia myrciifolia* Sprunge Ex. Schum. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 292-294, 2010.

LUCIANO, J.H.S; LIMA, M.A.S; SOUZA, E.B; SILVEIRA, E.R. Chemical constituents of *Alibertia myrciifolia* Spruce ex K. Schum. **Biochem. Syst. Ecol.** n. 32, p. 1227–1229, 2004.

MARCHI, E. C. S; MARCHI, G; SOUSA-SILVA, J. C; IKEDA, F. S; FAGG, C. W. Alelopatia em espécies nativas do Cerrado / Allelopathy in native species of brazilian Savannah. **Savannah Journal of Research and Development**, [S. l.], v. 1, n. 1, 2017.

MARTINS, D; NUNEZ, C. V. Secondary metabolites from Rubiaceae species. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13422-13495, 2015.

MATOS, F.J.A. Introdução a Fitoquímica Experimental, 2nd ed.; **Edições UFC**: Fortaleza, Brazil, 1997.

MATSUMOTO, S. T; MANTOVANI, M. S; MALAGUTTI, M. I. A; DIAS, A. L; FONSECA, I. C; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberration in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, p. 148–158, 2006.

MILITÃO, G. C. G. **Potencial antitumoral de flavonóides isolados de plantas do nordeste brasileiro: estudos preliminares da relação estrutura-atividade citotóxica.** Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 105 f. 2005.

MIRANDA, P. H. O; MACIEL, P. M. C; DA SILVA SANTOS, R. L; DE SOUSA, K. M. O; BRITO, A. M. S. S; DE MENEZES, I. R. A; DE AQUINO SARAIVA, R. Efeito alelopático do extrato etanólico das folhas de *Caryocar coriaceum* Wittm. sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 3, 2021.

MOLISH, H. Der Einfluss einer Pflanze auf die Andere. **Allelopatie, Jena.** 1 ed. Gustav Fischer, 106 p. 1937.

MORALES, M.A.M. A citogenética como ferramenta de avaliação de genotoxicidade ambiental. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 38, n. 1supl, p. 23, 2017.

MOREIRA, A.C. **Potencial alelopático de extrato de poaia (*Borreria latifolia* (Aub.) K. Schum.) sobre espécies cultivadas.** 2018.

NEGI, A; BATISH, D. R; SINGH, H. P; KOHLI, R. K. Allelopathic Effect of Leaves of Invasive tree *Broussonetia papyrifera* against some crop plants. **Annals of Plant Sciences**, v. 5, n. 1, p. 1261-1264, 2016.

OLEA, R.S.G; ROQUE, N.F; BOLZANI, V.D.S. Acylated flavonol glycosides and terpenoids from the leaves of *Alibertia sessilis*. **J. Braz. Chem. Soc**, 8, 257–259, 1997.

OLIVEROS-BASTIDAS, A.J; MACIAS, F.A; FERNANDEZ, C.C; MARIN, D; MOLINILLO, J.M.G. Exudados de la raiz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. **Química Nova**, n. 32 p. 198-213, 2009.

PEDREIRO, E. S. D. **Análise In Silico de Impurezas Provenientes da Síntese de Fármacos. Pesquisa de Estruturas de Alerta de Genotoxicidade, Mutagenicidade e Carcinogenicidade.** Tese de doutorado, 2016.

PEREIRA, J. C; PAULINO, C. L. D. A; GRANJA, B. D. S; SANTANA, A. E. G., ENDRES, L; & SOUZA, R. C. D. Allelopathic Potential and Identification of Secondary Metabolites in extracts of *Canavalia ensiformis* L. **Revista Ceres**, Brasil, v.65, p. 243-252, 2018.

PERSSON, C; DELPRETE P; STEYERMARK, J.A. *Cordia*. In: STEYERMARK, J.A.; BERRY, P.E; YATSKIEVYCH K; HOLST, B.K. (Eds.): **Flora of the Venezuelan Guayana**: 8: 497-848. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, USA, 2004.

PICKER, J. D.; FOX, D. P. Do curried foods produce micronuclei in buccal epithelial cells?. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 171, n. 2-3, p. 185-188, 1986.

PINTO, G; KOLB, R. Seasonality affects phytotoxic potential of five native species of neotropical savanna. **Botany**, v. 94, n. 2, p. 81–89, 2016.

PIRES, N. D. M; SOUZA, I. R. P; PRATES, H. T; FARIA, T. C. L. D; PEREIRA FILHO, I. A; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 55-65, 2001.

PITELLI, R.A. O termo planta-daninha. **Planta Daninha**, v. 33, p. 622-623, 2015.

PUTNAM, A.R; DUKE, W.B. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. **Science**, Washington, v.185, n.4148, p.370-372, 1974.

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

SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M; DE LA PEÑA, T. C; REIGOSA ROGER, M. J. Cell cycle analyses for understanding growth inhibition. Netherlands: **Springer**, p.141-156, 2006.

RICE, A. L. Crab zoeal morphology and its bearing on the classification of the Brachyura. **The Transactions of the Zoological Society of London**, v. 35, n. 3, p. 271-372, 1980.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2 ed. Orlando, FL: Academic press, 422 p. 2012.

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

ROBBRECHT, E. Monographic and sistematic studies in Rubiaceae. **National Botanic Garden of Belgium**. 2018.

ROSADO, L. D. S; RODRIGUES, H. C. A; PINTO, J. E. B. P; CUSTÓDIO, T. N; PINTO, L. B. B; BERTOLUCCI, S. K. V. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriço “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

SALES, I. M. S; SANTOS, F. J. S; PERON, A. P. Citologia de aromatizantes utilizados na fabricação de alimentos industrializados. **Caderno de Pesquisa**, v. 29, n.3, p.31-38, 2017.

SAMPIETRO, D. A. **Alelopatía: concepto, característica, metodología de estudio e importância**. **San Miguel de Tucumán, 2003** Disponível em: < http://produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/19-alelopatia.pdf >. Acesso em: 16 abr. 2022.

SANTOS, D. Q. **Potencial herbicida e caracterização química do extrato metanólico da raiz e caule do *Cenchrus echinatus* (TIMBETE)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, p.106, 2007.

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

SANTOS, I. M. C; DE MELO, H. M; CARNEIRO, J. K. R; OLIVEIRA, M. A. S. Avaliação citotóxica, genotóxica e mutagênica do extrato de *Morinda citrifolia* em diferentes concentrações sobre o teste *Allium cepa*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 17, n. 1, p. 40-45, 2018.

SILVA, A. F. M. Introdução à Ciência das Plantas Daninhas. **Mato logia**, p. 7-37, 2021.

SILVA, A.A; MACHADO, A.F.L; FERREIRA, E.A; PIRES, F.R;... PROCÓPIO, S.O. Biologia de plantas daninhas. In: SILVA, A.A; SILVA, J. F. (Eds.) **Proteção de plantas: manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Editora UFV, 367 p. 2013.

SILVA, C. B; CÂNDIDO, A. C. S; SIMIONATTO, E; FACCENDA, O; SCALON, S. D. P. Q; PERES, M. T. L. P. Atividade alelopática, antioxidante e teor de fenóis totais de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae). **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 413-420, 2010.

SILVA, C. P; RICCI, T. G; DE ARRUDA, A. L; PAGLIOSA, F. M; MACEDO, M. L. R. Plants Extract from Cerrado Sul-Matogrossense with Bioherbicide and Bioinsectice Potential. **Uniciências**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 2017.

SILVA, E. S; SANTOS, C. A; DIAS, K. S; SOUZA, M. A; DOS SANTOS, A. F; & JÚNIOR, J. M. S. Cenário das pesquisas sobre alelopatia no Brasil e seu potencial como estratégia na diminuição da utilização de pesticidas que provocam poluição ambiental: uma revisão integrativa. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 442, 2018.

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

SILVA, V. C. **Estudo químico e biológico de espécies de Rubiaceae**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, p, 330. 2007.

SINGLETON, V.L; ORTHOFER, R; LAMMELA-RANVENSON, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods Enzymol**, v. 200, p. 152–178, 1999.

SIQUEIRA, J. O; NAIR, M. G; HAMMERSCHMIDT, R; SAFIR, G. R; PUTNAM, A. R. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 10, p. 63-121, 1991.

SOLANO, J; SOARES, J. A; BORGES, N; ARAÚJO, D; KARSBURG, I. Avaliação do efeito mutagênico da solução aquosa de *Hymenea coubaril* L. com uso dos biotestes *Allium cepa* e *Lactuca sativa*. **Enciclopedia Biosfera**, v. 11, n. 21, 2015.

SOUZA FILHO, A.P.S; ALVES, S.M. Mecanismo de liberação e comportamento de aleloquímicos no ambiente. In: SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. **Alelopatia: Princípios Básicos e Aspectos Gerais**. Belém: EMBRAPA, p.111-129, 2002.

SOUZA, V.C; LORENZI, H. BOTÂNICA sistemática: **Guia ilustrado para identificação de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**, baseado em APG II. Nova Odessa, SP, Brazil: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

TAIZ, L; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2004.

TAVEIRA, L.K.P.D. **Atividade alelopática de espécies de *Erythroxylum* ocorrentes na Chapada do Araripe-CE**. 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular), Universidade Regional do Cariri, Crato-CE, 2011.

TORQUATO, I. H. S; DA COSTA, N. C; PEREIRA, K. S; CAMPOS, N. B; DE OLIVEIRA, A. A; & GENERINO, M. E. M. Polifenólica e Potencial Alelopático de *Senna cearensis* Afr. Fern. (Fabaceae) Polyphenolic Composition and Allelopathic Potential of *Senna cearensis* Afr. Fern.(Fabaceae) Composición Polifenólica y Potencial

Alelopático de *Senna cearensis* Afr. Helecho. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e577986207, 2020.

USDA - **United States Department of Agriculture**. Online Database. *Cenchrus echinatus*. Disponível em: <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=CEEC>. Acesso em: 22/05/2021.

VALLI, M; YOUNG, M. C. M; BOLZANI, V. S. A Beleza Invisível da Biodiversidade: O Táxon Rubiaceae. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 296-310, 2016.

VERRI, A. M; MOURA, A. D. A; MOURA, V. M. DE. Testes Citogenéticos na Avaliação da Genotoxicidade de Produtos Naturais Provindos de Plantas Medicinais. **Revista UNINGÁ Review**, v. 30, n. 1, p. 55–61, 2017.

YOUNG, M. C. M; BRAGA, M. R; DIETRICH, S. M. C; GOTTLIEB, H. E; TREVISAN, L. M. V; BOLZANI, V. S. Fungitoxic non-glycosidic iridoids from *Alibertia macrophylla*. *Phytochemistry*. **Ontario**, v. 31, n. 10, p. 3433-3435, 1992.

ZANI, C. L; CHAVES, P. P. G; QUEIROZ, R; DE OLIVEIRA, A. B; CARDOSO, J. E; ANJOS, A. M. G; GRANDI, T. S. M. Brine shrimp lethality assay as a prescreening system for anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Phytomedicine**, n. 2, p. 47–50, 1995.

ZAPPI, D. C; CALIÓ, M. F; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Rubiaceae. **Boletim de Botânica**, v. 32, n. 1, p. 71-140, 2014.

ZENG, R. S. Allelopathy-the solution is indirect. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, n. 6, p. 515-516, 2014.

ZILLER, S. R. **Espécies exóticas da flora invasoras em Unidades de Conservação. Unidades de Conservação: ações para valorização da biodiversidade**. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba, p. 34-52, 2006.

APÊNDICES

Aspectos morfológicos das plântulas de *Cenchrus echinatus* metáfase submetidas aos extratos aquosos de *Cordia* spp.

Apêndice 1: Morfologia das plântulas de *Cenchrus echinatus* submetidas ao EAI e EAB de *Cordia myrciifolia*



Fonte: De autoria própria.

Apêndice 2: Morfologia das plântulas de *Cenchrus echinatus* submetidas ao EAI e EAB de *Cordia sessilis*



Fonte: De autoria própria.

Apêndice 3: Morfologia das plântulas de *Cenchrus echinatus* submetidas ao EAI e EAB de *Cordia rigida*



Fonte: De autoria própria.

ANEXOS

Anexo A –Números dos registros das espécies de *Cordia* depositadas no HCDAL.



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

Número de Herbário

Remetente: N°28.2022

HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)

Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br)

Universidade Regional do Cariri - URCA

Departamento de Ciências Biológicas

Rua: Cel. Antônio Luiz, 1161

Campus Pimenta

Crato – Ceará - Brasil

CEP: 63.105-100

Destinatário: Data: 17/05/2022

Contato: Márcio P. Nascimento

Universidade Regional do Cariri - URCA

Laboratório de Botânica Aplicada - LBA

N° Amostras: 04 Tipo de Operação: Número de Herbário

N° HERBÁRIO	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01 14.988		Rubiaceae	<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze	Morais-Mendonça, A.C.A.
02 14.989		Rubiaceae	<i>Cordia myrciifolia</i> (K.Schum.) C.H.Perss. & Delprete	Morais-Mendonça, A.C.A.
03 14.990		Rubiaceae	<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze	Morais-Mendonça, A.C.A.
04 14.991		Rubiaceae	<i>Cordia sessilis</i> (Vell.) Kuntze	Morais-Mendonça, A.C.A.

OBS: Em caso de publicações com os dados acima, deve constar no manuscrito como co-autores, os responsáveis pela referida identificação. A saber: Professora Dra.: Maria Arlene Pessoa da Silva, Professora Ma.: Ana Cleide Alcantara Morais Mendonça.


Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Curadora do HCDAL

Anexo B – Autorização para fins de coletas botânicas.



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 80398-1	Data da Emissão: 13/10/2021 15:02:44	Data da Revalidação*: 13/10/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Maria Arlene Pessoa da Silva	CPF: 162.725.283-53
Título do Projeto: Acervo do Herbário Cariense Dárdano de Andrade-Lima.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI URCA	CNPJ: 06.740.864/0001-26

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de Material Botânico	10/2021	09/2025

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	ANA CLEIDE ALCANTARA MORAIS	Coleta e Herborização de material botânico	020.647.163-78	Brasileira
2	Natália Barbosa Campos	Coleta e Herborização de material botânico	033.234.403-74	Brasileira
3	Mariana Ferreira da Cruz	Coleta e Herborização de material botânico	057.911.253-56	Brasileira
4	BRUNO MELO DE ALCANTARA	Coleta e Herborização de material botânico	609.823.833-20	Brasileira
5	Marcio Pereira do Nascimento	Coleta e Herborização de material botânico	042.594.953-21	Brasileira
6	Cintia Larissa Pereira da Silva	Coleta e Herborização de material botânico	070.783.843-69	Brasileira

Observações e ressalvas

1	Deve-se observar as as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
2	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

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

Código de autenticação: 0803980120211013

Página 1/5