

Fitotoxicidade e fracionamento biodirigido dos extratos de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg (Myrtaceae)

Eduardo Habermann *

Viviane de Cassia Pereira

Maristela Imatomi

Flavia Cevithereza Pontes

Sonia Cristina Juliano Gualtieri

Universidade Federal de São Carlos, *Campus* São Carlos, Departamento de Botânica
Rodovia Washington Luís, CEP 13565-905, São Carlos – SP, Brasil

* Autor para correspondência
eduardohabermann@gmail.com

Submetido em 24/04/2014

Aceito para publicação em 18/10/2014

Resumo

Este estudo teve por objetivo avaliar a fitotoxicidade de extratos e frações de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* sobre o alongamento de coleótilos estiolados de *Triticum aestivum* (trigo). Os extratos hexânico (Hx), acetato etílico (AcOET) e aquoso (H₂O) foram obtidos por meio de extração exaustiva com CH₂Cl₂/CH₃OH e posterior fracionamento em cromatografia por coeficiente de partição. Os extratos AcOET e Hx foram fracionados por cromatografia em coluna com a utilização de solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade, originando sete frações hexânicas e seis frações acetato etílicas. Posteriormente, as frações Hx1 e Hx5 foram subfracionadas por cromatografia em coluna. Os extratos AcOET e Hx inibiram o alongamento dos coleótilos. Quatro frações acetato etílicas inibiram o alongamento dos coleótilos em todas as concentrações. Cinco frações hexânicas inibiram o alongamento dos coleótilos, as frações Hx1 e Hx5 apresentaram efeitos fitotóxicos equivalentes ou superiores aos observados pelo herbicida GOAL[®] nas mesmas concentrações. Todas as subfrações obtidas por meio do fracionamento da Hx1 inibiram o alongamento dos coleótilos. Seis frações obtidas por meio do fracionamento da Hx5 inibiram o alongamento dos coleótilos em todas as concentrações. Este estudo comprova a fitotoxicidade dos extratos de cascas de *B. salicifolius*, proporcionando indicativos de que estes possam atuar como promissores herbicidas naturais.

Palavras-chave: Alelopatia; Coleótilo; Herbicida; Murta; Trigo

Abstract

Phytotoxicity and biodirected fractionation of extracts of barks of *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg. (Myrtaceae). This study aimed to evaluate the phytotoxicity of extracts and fractions of barks of *Blepharocalyx salicifolius* on elongation of etiolated coleoptiles of *Triticum aestivum* (wheat). The extracts hexane (Hx), ethyl acetate (AcOET), and aqueous (H₂O) were obtained by means of exhaustive extraction with CH₂Cl₂/CH₃OH and subsequent fractionation by partition chromatography coefficient. The extracts AcOET and Hx were fractionated by column chromatography by using organic solvents in increasing order of polarity,

yielding 7 hexanic fractions and 6 ethylic acetate fractions. Subsequently, the fractions Hx1 and Hx5 were subfractionated by column chromatography. The extracts AcOET and Hx inhibited elongation of coleoptiles. Four ethylic acetate fractions inhibited elongation of coleoptiles at all concentrations. Five hexanic fractions inhibited elongation of coleoptiles, the fractions Hx5 and Hx1 fractions showed phytotoxic effects equivalent or superior to those observed by the herbicide GOAL[®] at the same concentrations. All subfractions obtained by means of fractionation of Hx1 inhibited elongation of coleoptiles. Six fractions obtained by means of fractionation of Hx5 inhibited elongation of coleoptiles at all concentrations. This study proves the phytotoxicity of extracts of barks of *B. salicifolius*, providing indications that they may act as promising natural herbicides.

Key words: Allelopathy; Coleoptile; Herbicide; Murta; Wheat

Introdução

No Cerrado as plantas são submetidas a condições de estresse como solos pobres, ácidos, com altas concentrações de alumínio (HARIDASAN, 2008), queimadas e intensa competição por recursos (IMATOMI et al., 2013). Dessa forma, diversas adaptações como folhas coriáceas, espinhos, cascas grossas e alta produção de metabólitos secundários foram selecionadas (IMATOMI et al., 2013; NOVAES et al., 2013). Esses compostos do metabolismo secundário, também conhecidos por aleloquímicos, ao serem liberados no ambiente por meio da volatilização, lixiviação, exsudação radicular ou decomposição do material vegetal atuam na interação alelopática entre as espécies (OLIVEIRA et al., 2014) e são importantes na defesa química dos vegetais (BALDWIN et al., 1997). Os aleloquímicos podem ser encontrados em qualquer tecido da planta doadora (SOUZA FILHO et al., 2011).

Essas substâncias alteram as condições bioquímicas e fisiológicas das espécies receptoras (REIGOSA et al., 1999) influenciando o crescimento, vigor de plântulas, dormência e germinação de sementes (WANDSCHEER; PASTORINI, 2008). Assim, estes compostos podem ser utilizados como herbicidas naturais ou servir de modelo para a síntese de produtos mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente (MACÍAS et al., 2010). Os herbicidas naturais possuem algumas vantagens sobre os sintéticos como a ausência de moléculas halogenadas em sua composição, menor meia vida, maior solubilidade em água (OLIVEIROS-BASTIDAS, 2008) e menor susceptibilidade de desenvolvimento de resistência das espécies infestantes (PINTO et al., 2008, NOVAES et al.,

2013). Contudo, poucos estudos compararam o custo e eficiência de produtos para manejo de pragas agrícolas baseados em produtos naturais com pesticidas sintéticos (COPPING; DUKE, 2007).

Nos estudos fitoquímicos, as folhas são os órgãos mais utilizados (GRISI et al., 2013; PEREIRA et al., 2014), trabalhos que avaliam o potencial fitotóxico de extratos de cascas são pouco numerosos (NOVAES et al., 2013).

Blepharocalyx salicifolius (Kunth) O.Berg. (Myrtaceae) conhecida popularmente como murta é uma espécie arbórea de médio a grande porte (DENARDI; MARCHIORI, 2005). Apresenta ampla distribuição latitudinal na América do Sul, sendo nativa da região Sul do continente. No Brasil, pode ser encontrada nas regiões Nordeste, Centro-oeste, Sul e Sudeste (REGO et al., 2010). Suas folhas possuem propriedades antibacterianas, antioxidante, antidiarreica, antileucorreica, leishmanicida e anti-inflamatória (CERON et al., 2006; SIQUEIRA et al., 2011; VIVOT et al., 2012). Estudos prévios comprovaram o potencial fitotóxico de extratos aquosos foliares desta espécie sobre a germinação e crescimento de espécies bioindicadoras como cebola, alface e tomate (MAIRESSE et al., 2007; IMATOMI et al., 2013), porém a literatura carece de informações a respeito das bioatividades dos extratos de cascas de *B. salicifolius*. Assim, este trabalho visa contribuir com o conhecimento da fitotoxicidade de extratos brutos e frações de cascas de *B. salicifolius* sobre o alongamento dos coleóptilos estiolados de trigo.

Material e Métodos

Material vegetal

Cascas de *Blepharocalyx salicifolius* foram coletadas de cinco indivíduos na área de Cerrado “*senso strictu*” da Universidade Federal de São Carlos (21°58’ a 22°00’S e 47°51’ a 47°52’W), em estação seca. Segundo a classificação de Köppen (1948), essa região é considerada do tipo climático Aw, com verão chuvoso (outubro a março) e inverno seco (abril a setembro). As cascas foram lavadas, secas em estufa de circulação forçada de ar a 40°C e trituradas em moinho elétrico para obtenção do pó (PEREIRA et al., 2014).

Como espécie-alvo foram utilizados coleóptilos estiolados de *Triticum aestivum* L. cv. BRS264 (trigo).

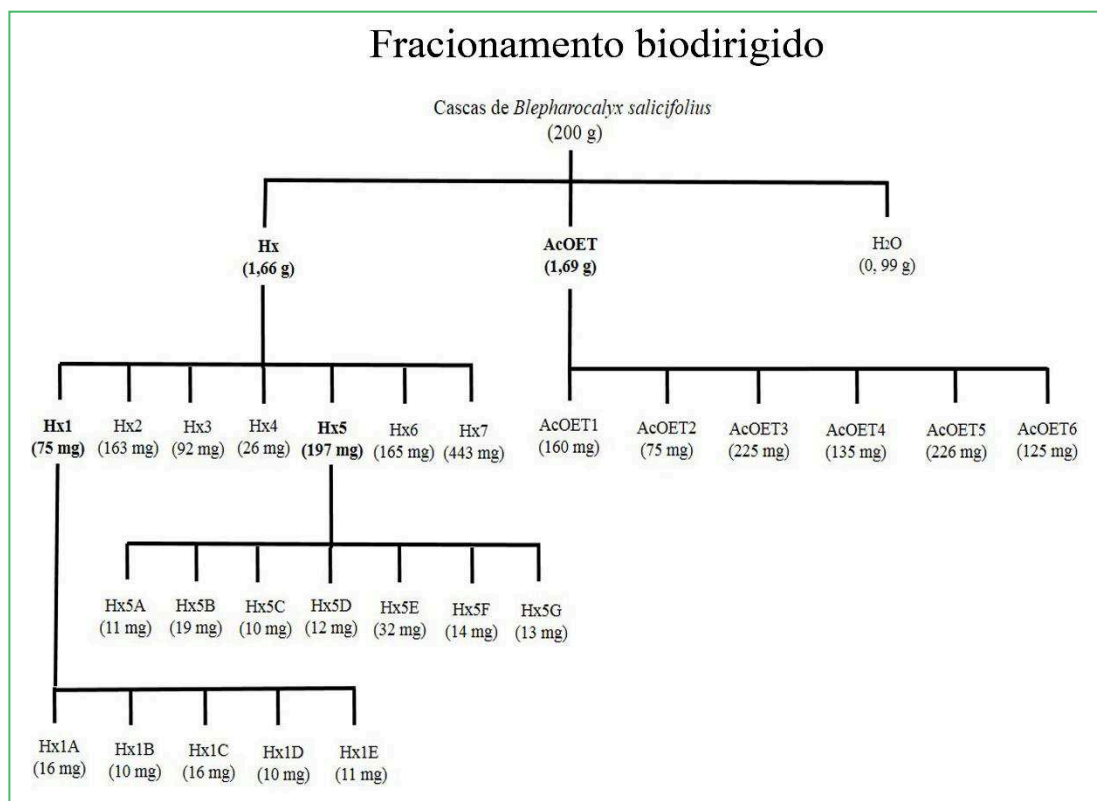
Obtenção dos extratos

No processo de extração inicial, 200 g do pó de cascas foram submetidos à extração exaustiva com CH₂Cl₂/CH₃OH (1:1) em banho de ultra som (AIBU et al., 2004). O extrato bruto foi diluído em CH₃OH/H₂O (95:5) e particionado com hexano, dando origem aos extratos hexânico (Hx) e metanólico. Este último foi diluído em água destilada e particionado com acetato de etila, originando os extratos acetato etílico (AcOET) e aquoso (H₂O) (OTSUKA, 2005). Após secos os extratos tiveram sua massa determinada (Figura 1).

Bioensaio com coleóptilos de trigo

Coleóptilos estiolados de *T. aestivum* L. cv. BRS264 (trigo), provenientes de sementes germinadas e desenvolvidas em caixas gerbox mantidas em câmara de germinação durante 72 horas, sob 25 ± 1°C, na ausência

FIGURA 1: Fracionamento biodirigido dos extratos hexânico e acetato etílico de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* e massa de cada uma das frações e subfrações obtidas. O fracionamento foi realizado com a utilização de solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade. Os extratos e frações em negrito foram os que apresentaram as maiores atividades no bioensaio com coleóptilos estiolados de trigo e posteriormente fracionados.



de luz, foram cortados com o auxílio de uma guilhotina de Van der Veij, sob luz verde de proteção. A região apical de cada coleótilo (2 mm) foi descartada e o restante foi cortado em fragmentos de 4 mm de comprimento para serem utilizados no bioensaio (MACÍAS et al., 2010). Este bioensaio foi proposto por Hancock et al. (1964) e é um método clássico de avaliação da bioatividade de extratos vegetais.

As soluções a $0,8 \text{ mg.mL}^{-1}$ foram preparadas utilizando 10 mg de cada extrato ou fração diluídos em $60 \mu\text{L}$ de DMSO e 12 mL de solução tampão fosfato-citrato com 2% de sacarose. Posteriormente foram feitas as diluições para $0,4$ e $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$. Foram utilizados dois controles, um positivo com o herbicida comercial GOAL® (ingrediente ativo oxyfluorfen = 240 g.L^{-1}) nas mesmas concentrações dos extratos e frações e um controle negativo com solução tampão e DMSO ($5 \mu\text{L.mL}^{-1}$). Foram utilizadas três repetições com cinco fragmentos de coleótilos e 2 mL dos extratos, frações, subfrações, solução tampão ou GOAL® (MACÍAS et al., 2010). Os tubos foram dispostos em uma centrífuga com rotação contínua de $0,25 \text{ rpm}$, durante 24 h, sob 25°C , no escuro. Posteriormente, os coleótilos foram retirados, fotografados e tiveram seus comprimentos medidos com o auxílio do software Image Pro-Plus 5.0®.

Fracionamento biodirigido

Os extratos AcOET e Hx foram considerados mais promissores com base nos resultados obtidos no bioensaio com coleótilos estiolados de trigo, perfil cromatográfico observado em Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e massa disponível e foram submetidos ao fracionamento em coluna, sob pressão atmosférica. Foram utilizadas colunas de vidro de 28 cm de altura por 4 cm de diâmetro, a fase estacionária foi composta por sílica gel de fase normal ($0,063\text{-}0,2 \text{ mm}$ - $70\text{-}230 \text{ mesh}$) e a fase móvel por misturas de hexano: acetona e acetona: metanol em ordem crescente de polaridade. As frações foram reunidas de acordo com a similaridade cromatográfica observada em CCD, resultando em sete frações hexânicas Hx1-7 e seis frações acetato etílicas AcOETC1-6. O mesmo procedimento foi realizado com as frações Hx1 e Hx5, resultando em cinco subfrações Hx1A-E e sete subfrações Hx5A-G, respectivamente. O fracionamento e a massa

de cada extrato, fração ou subfração é apresentada na Figura 1. Todas as frações e subfrações foram submetidas ao bioensaio com coleótilos estiolados de trigo como descrito anteriormente.

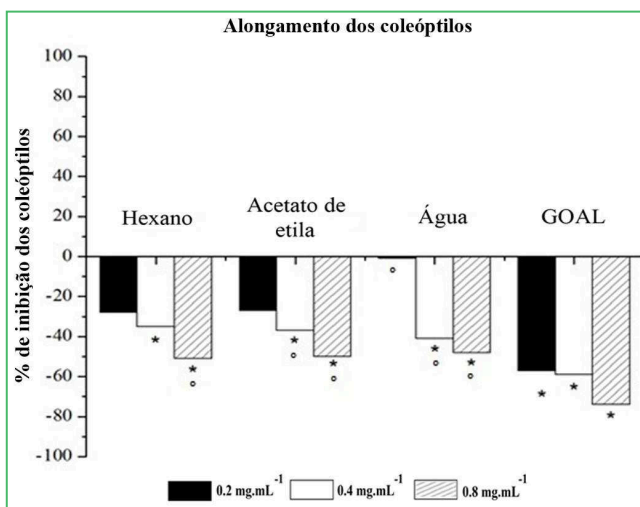
Análise estatística

Os conjuntos de dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Levene). Quando estas duas pressuposições foram atendidas, a análise de variância (ANOVA) foi aplicada, seguido pelo teste T (Lsd) à $0,05\%$ de significância. A falta de normalidade e/ou homogeneidade levou a realização do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os testes estatísticos foram realizados com o software Bioestat®.

Resultados

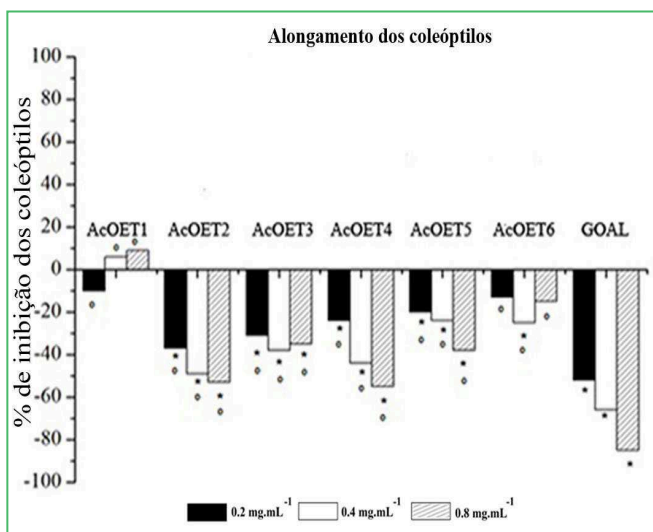
Os extratos hexânico (Hx), acetato etílico (AcOET) e aquoso (H_2O) inibiram o alongamento dos coleótilos estiolados de trigo nas concentrações de $0,4$ e $0,8 \text{ mg.mL}^{-1}$ ($p < 0,05$). Os extratos Hx e AcOET mantiveram seus efeitos de inibição na concentração de $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$ (Figura 2).

FIGURA 2: Efeito dos extratos brutos de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* no alongamento de coleótilos estiolados de trigo. Porcentagem de inibição ou crescimento em relação ao controle negativo. (*) Difere estatisticamente do controle negativo, $p < 0,05$. (°) Difere estatisticamente do herbicida, os tratamentos foram comparados entre concentrações iguais.



Das seis frações AcOET apenas duas não inibiram o alongamento dos coleóptilos estiolados de trigo em todas as concentrações testadas. Efeitos inibitórios acentuados foram observados na fração AcOET2 em baixas concentrações (Figura 3).

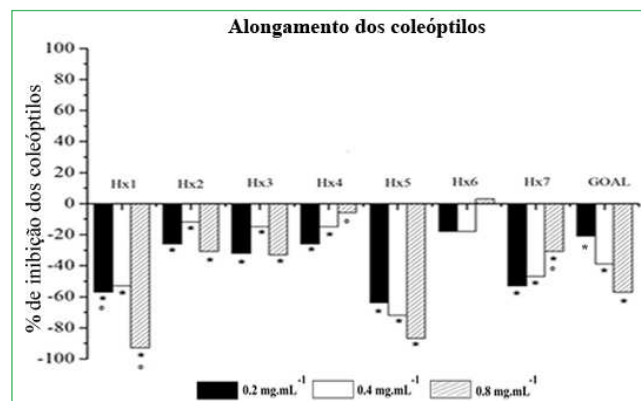
FIGURA 3: Efeito das frações acetato etílicas de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* no alongamento de coleóptilos estiolados de trigo. Porcentagem de inibição ou crescimento em relação ao controle negativo. (*) Difere estatisticamente do controle negativo, $p < 0,05$. (°) Difere estatisticamente do herbicida, os tratamentos foram comparados entre concentrações iguais.



Cinco das sete frações Hx inibiram o alongamento dos coleóptilos estiolados de trigo em todas as concentrações testadas ($p < 0,05$). Duas frações apresentaram efeitos inibitórios superiores ou equivalentes ao observado no tratamento com herbicida GOAL®. A fração Hx5 apresentou acentuado efeito inibitório em todas as concentrações testadas, essa inibição foi equivalente à observada no tratamento com herbicida GOAL® nas mesmas concentrações. A fração Hx1 foi ativa e promoveu inibição de 93% no alongamento dos fragmentos de coleóptilos, a 0,8 mg.mL⁻¹, sendo maior que o efeito provocado pelo herbicida GOAL® a 0,2 e 0,8 mg.mL⁻¹ (Figura 4). Habermann et al. (dados não publicados) avaliaram a fitotoxicidade dos extratos brutos e algumas das frações aqui utilizadas sobre o crescimento inicial de plântulas de *Echinochloa crus-galli* (capim-arroz) e *Euphorbia heterophylla* (amendoim-bravo), ambas espécies

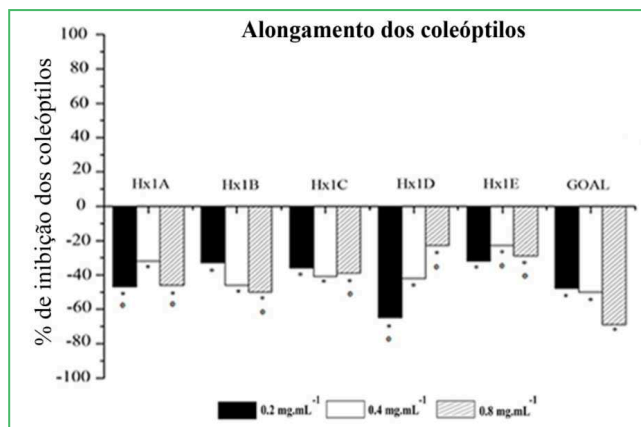
sensíveis ao oxyfluorfen. Foram observados efeitos inibitórios no crescimento de ambas as espécies-alvo e anomalias durante o crescimento inicial.

FIGURA 4: Efeito das frações hexânicas de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* no alongamento de coleóptilos estiolados de trigo. Porcentagem de inibição ou crescimento em relação ao controle negativo. (*) Difere estatisticamente do controle negativo, $p < 0,05$. (°) Difere estatisticamente do herbicida, os tratamentos foram comparados entre concentrações iguais.



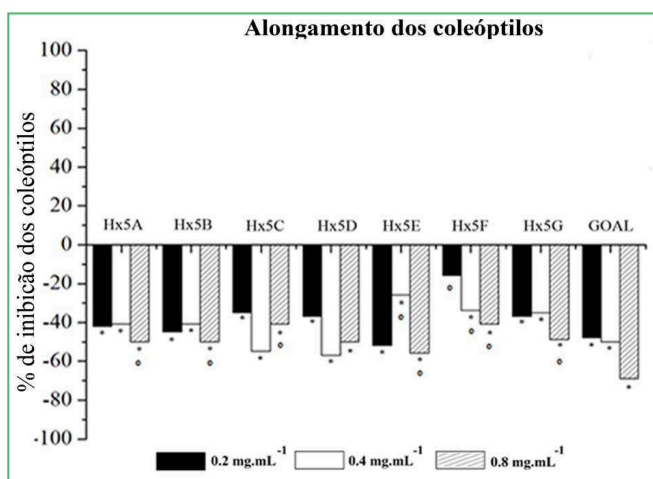
Todas as subfrações obtidas da fração Hx1 inibiram o alongamento dos coleóptilos de trigo, sendo a subfração Hx1D a mais ativa em baixas concentrações (Figura 5).

FIGURA 5: Efeito das subfrações obtidas por meio do fracionamento da fração Hx1 de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* no alongamento de coleóptilos estiolados de trigo. Porcentagem de inibição ou crescimento em relação ao controle negativo. (*) Difere estatisticamente do controle negativo, $p < 0,05$. (°) Difere estatisticamente do herbicida, os tratamentos foram comparados entre concentrações iguais.



Das sete subfrações hexânicas obtidas por meio do fracionamento da fração Hx5 apenas uma não promoveu efeito inibitório significativo em todas as concentrações testadas. As subfrações Hx5E a $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$ e Hx5C e Hx5D a $0,4 \text{ mg.mL}^{-1}$ apresentaram efeitos de inibição equivalentes ao apresentado pelo herbicida GOAL[®] nas mesmas concentrações (Figura 6).

FIGURA 6: Efeito das subfrações obtidas por meio do fracionamento da fração Hx5 de cascas de *Blepharocalyx salicifolius* no alongamento de coleótilos estiolados de trigo. Porcentagem de inibição ou crescimento em relação ao controle negativo. (*) Difere estatisticamente do controle negativo, $p < 0,05$. (°) Difere estatisticamente do herbicida, os tratamentos foram comparados entre concentrações iguais.



Discussão

As principais classes de aleloquímicos são representadas por compostos de polaridade intermediária como alcaloides, flavonoides, fenois e terpenoides. De acordo com a metodologia de extração utilizada nesse trabalho, essas substâncias devem estar presentes no extrato acetato etílico (KIM et al., 2005). Este solvente, como evidenciam An et al. (2000), pode ser utilizado no processo de extração de fitotoxinas de restos vegetais. No presente estudo, o extrato acetato etílico apresentou acentuado efeito fitotóxico no alongamento das células de coleótilos estiolados de trigo (Figura 2). Resultados similares foram encontrados por Grisi et al. (2013) ao avaliar o potencial fitotóxico de extratos foliares acetato etílicos de *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) no alongamento de coleótilos estiolados de trigo.

Os terpenos, compostos de baixa polaridade possuem potencial fitotóxico (SOUZA FILHO et al., 2010). De acordo com a metodologia de extração aqui utilizada, é esperado que essas substâncias estejam presentes no extrato hexânico. Vieira et al. (2004) identificaram triterpenos pentacíclicos como a betulina e o ácido betulínico nas cascas de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). O extrato hexânico de cascas de *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) e *Cecropia pachystachya* (Urticaceae) alteraram parâmetros no processo de germinação das sementes de alface, couve e tomate (DIAS et al., 2011; VIEIRA et al., 2011).

No trabalho realizado por Souza et al. (2010), o extrato aquoso de cascas de *Esenbeckia leiocarpa* (Rutaceae) inibiu a germinação e crescimento de plântulas de alface. Oliveira et al. (2012) observaram efeito inibitório na germinação e crescimento de plântulas de alface utilizando extrato aquoso de cascas de *Caesalpinia ferrea* (Fabaceae).

Nas comunidades vegetais, as interações alelopáticas não são resultado da ação de um único composto, mas sim da ação de diferentes aleloquímicos. Dessa forma, a bioatividade observada não é resultado apenas da concentração dessa mistura de substâncias, mas também da interação entre elas. Essa interação pode ser sinérgica ou antagonista (SOUZA FILHO, 2006). Segundo Odum e Barrett (2007), o sinérgismo é o efeito obtido pela ação combinada de duas substâncias químicas diferentes que torna-se maior do que a soma dos efeitos individuais dessas mesmas substâncias. Kubo et al. (1992) reportam esta atividade em trabalhos sobre efeitos antimicrobianos. A inibição menos acentuada observada após o fracionamento das frações Hx1 e Hx5 sugere uma interação sinérgica entre os compostos presentes em cada uma destas frações (Figuras 5 e 6).

Este trabalho contribui com o conhecimento das potencialidades fitotóxicas da espécie *B. salicifolius* criando subsídios para a utilização destes extratos, frações e subfrações como reguladores do desenvolvimento vegetal. Estudos como este se tornam importantes à medida que as atividades biológicas das espécies nativas ganham destaque e são atreladas à conservação biológica.

Este estudo comprova a fitotoxicidade dos extratos e frações de cascas de *B. salicifolius* sobre o alongamento das células de coleótilos de trigo fornecendo subsídios para que novos estudos sejam realizados. As frações Hx1 e Hx5 e as subfrações Hx5C, Hx5D e Hx5E apresentaram fitotoxicidade superior ou equivalente quando comparados com o herbicida GOAL® nas mesmas concentrações. Os resultados sugerem um efeito sinérgico entre os compostos pertencentes às frações Hx1 e Hx5.

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) processo nº 12/17714-3, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Referências

- AIBU, S.; JOYCE, E.; PANIWNKY, L.; LORIMER, J.; MASON, T. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinales* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 11, n. 3-4, p. 261-265, 2004.
- AN, M.; HAIG, T.; PRATLEY, J. E. Phytotoxicity of vulpia residues: ii. separation, identification, and quantitation of allelochemicals from *Vulpia myuros*. **Journal of Chemical Ecology**, Tampa, v. 26, n. 6, p. 1465-1476, 2000.
- BALDWIN, I. T.; ZHANG, Z. P.; DIAB, N.; OHNMEISS, T. E.; MCCLOUD, E. S.; LYND, Y. G.; SCHMELZ, E. A. Quantification, correlations, and manipulations of wound-induced changes in jasmonic acid and nicotine in *Nicotiana sylvestris*. **Planta**, New York, v. 201, n. 4, p. 397-404, 1997.
- CERON, C. S.; ZANOTTO, C. Z.; SILVEIRA, R. S.; KUNZ, V. T.; WALKER, C. I. B.; MANFRON, M. P. Atividade antioxidante dos extratos de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. In: CONGRESSO DE FARMÁCIA DE MARINGÁ, I, 2006, Maringá. **Resumos...** Maringá: ARQ MUDI, 2006. Versão eletrônica.
- COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, Malden, v. 63, n. 6, p. 524-554, 2007.
- DENARDI, L.; MARCHIORI, J. N. C. Anatomia ecológica da madeira de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 2, p. 119-127, 2005.
- DIAS, A. L. B.; VIEIRA, L. M.; GUIMARÃES, G. S. C.; NETO, H. N.; SILVERIO, M. D. O.; BARROSO, T. R. G. Potencial alelopático de extratos da embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec.) sobre a germinação de *Lactuca sativa*, *Brassica oleracea* e *Lycopersicon esculentum*. In: JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, VI, 2011, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: UFG, 2011. Versão eletrônica.
- GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Phytotoxic activity of crude aqueous extracts and fractions of young leaves of *Sapindus saponaria* L. Sapindaceae. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 27, p. 62-70, 2013.
- HANCOCK, C. R.; BARLOW, H. W.; LACEY, H. J. The east malling coleoptile straight growth test method. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 166-176, 1964.
- HARIDASAN, M. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 20, n. 3, p. 183-195, 2008.
- IMATOMI, M.; NOVAES, P.; GUALTIERI, S. C. J. Interspecific variation in allelopathic potential of the Myrtaceae family. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 27, n. 1, p. 54-61, 2013.
- KIM, Y. O.; JOHNSON, J. D.; LEE, E. J. Phytotoxic effects and chemical analysis of leaf extracts from three *Phytolaccaceae* species in South Korea. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 5, p. 1175-1186, 2005.
- KÖEPPEN, W. **Climatologia com um estúdio de los climas de la tierra**. México: Fondo de Cultura Económica, 1948. 479 p.
- KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJINA, M. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 2, p. 245-248, 1992.
- MACÍAS, F. A.; LACRET, R.; VARELA, R. M.; NOGUEIRAS, C.; MOLINILLO, J. M. G. Isolation and phytotoxicity of terpenes from *Tectona grandis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 4, p. 396-404, 2010.
- MAIRESSE, L. A. S.; COSTA, E. C.; FARIAS, J. R.; FIORIN, R. A. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista da FZVA**, Uruguaiiana, v. 12, n. 2, p. 1-12, 2007.
- NOVAES, P.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M.; MACÍAS, F. A. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savana) plants. **Phytochemistry Reviews**, Boston, v. 12, n. 4, p. 839-855, 2013.
- ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. São Paulo: Thomson Learning, 2007. 612 p.
- OLIVEIRA, A. K.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; DIÓGENES, F. E. P. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia ferrea* na germinação de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1397-1403, 2012.
- OLIVEIRA, A. K. M.; PEREIRA, K. C. L.; MULLER, J. A. I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 41-47, 2014.
- OLIVEIRO-BASTIDAS, A. J. El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. **Química Viva**, Buenos Aires, v. 7, n. 1, p. 1-34, 2008.
- OTSUKA, H. Purification by solvent extraction using partition coefficient. In: SARKER, S. D.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. (Ed.) **Natural products isolation**. Methods in Biotechnology. New York: Humana Press, 2005. p. 269-273.

- PEREIRA, V. C.; GRISI, P. U.; DODONOV, P.; ANESE, S.; TOFFANO, L.; GUALTIERI, S. C. J. Atividade fitotóxica de *Serjania lethalis* sobre a germinação e crescimento de *Panicum maximum*. **Biotemas**, Florianópolis, v. 27, n. 1, p. 29-35, 2014.
- PINTO, J. J. O.; GALON, L.; MAGRO, D. A. L.; PROCÓPIO, S. O.; CONCENÇO, G.; PINHO, C. F.; FERREIRA, E. A. Controle de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) em função de métodos de manejo na cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 767-777, 2008.
- REGO, S. S.; NOGUEIRA, A. C.; KUNIYOSHI, Y. S.; SANTOS, A. F. D. Caracterização morfológica do fruto, da semente e do desenvolvimento da plântula de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. e *Myrceugenia gertii* Landrum - Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 52-60, 2010.
- REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Apopka, v. 18, n. 5, p. 577-608, 1999.
- SIQUEIRA, E. P.; OLIVEIRA, D. M.; JOHANN, S.; CISALPINO, P. S.; COTA, B. B.; RABELLO, A.; ALVES, T. N. A.; ZANI, C. L. Bioactivity of the compounds isolated from *Blepharocalyx salicifolius*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 645-651, 2011.
- SOUZA, F. M.; GANDOLFI, S. P.; GUALTIERI, S. C. J.; RODRIGUES, R. R. Allelopathic potential of bark and leaves of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 24, n. 1, p. 169-174, 2010.
- SOUZA FILHO, A. P. S. Proposta metodológica para análise da ocorrência de sinergismo e efeitos potencializadores entre aleloquímicos. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 3, 2006.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 698-697, 2010.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; TREZZI, M. M.; INOUE, M. H. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 709-716, 2011.
- VIEIRA, T. R.; BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; PAULA, V. F.; NASCIMENTO, E. A. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 536-539, 2004.
- VIEIRA, L. M.; DIAS, A. L. B.; CASTRO, C. F. S. Avaliação da atividade alelopática e ensaio toxicológico de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão - Anacardiaceae. In: JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, VI, 2011, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: UFG, 2011. Versão eletrônica.
- VIVOT, E. P.; SÁNCHEZ, C.; CACIK, F.; SEQUIN, C. Actividad antibacteriana em plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). **Ciencia, Docencia y Tecnología**, Entre Ríos, v. 23, n. 45, p. 165-185, 2012.
- WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 949-953, 2008.