

Fitotoxicidade da fase orgânica e do composto majoritário obtidos da polpa dos frutos de *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae)

Sinval Garcia Pereira ^{1*}

Giselle Maria Skelding Pinheiro Guilhon ²

Lourivaldo da Silva Santos ²

Luidi Cardoso Pacheco ²

Antônio José Cantanhede Filho ²

Antônio Pedro da Silva Souza Filho ³

¹ Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais
Coordenação de Ciências Biológicas, Campus IV

BR 222, km 04, Bairro Boa Vista, CEP 65.000-000, Chapadinha – MA, Brasil

² Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Química
Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Campus Universitário do Guamá – Campus Básico
Rua Augusto Corrêa, 1, CEP 66075-110, Belém do Pará – PA, Brasil

³ EMBRAPA Amazônia Oriental, Laboratório de Agroindústria
Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Caixa Postal, 48, CEP 66095-100, Belém, PA – Brasil

* Autor para correspondência

sinval@ufma.br

sinval.garcia@bol.com.br

Submetido em 01/04/2015

Aceito para publicação em 08/09/2015

Resumo

Avaliou-se a fitotoxicidade do extrato etanólico (CETO), da fase orgânica (CEA) e do composto majoritário, o ácido (E)-cinâmico (AC), obtidos da polpa dos frutos da espécie popularmente conhecida como cujuba, cuieira e/ou cabaça (*Crescentia cujete* L.) sobre a inibição da germinação de sementes, desenvolvimento do hipocótilo e radícula das plantas invasoras *Senna obtusifolia* (L.) Irwin & Barneby (mata-pasto) e *Mimosa pudica* Mill. (malícia). A fase orgânica na concentração de 0,5% inibiu em 100% a germinação das sementes das duas plantas invasoras. O AC que foi obtido da fase orgânica inibiu a germinação das sementes de *S. obtusifolia* em 95% e de *M. pudica* em 99% na concentração de 0,1%, com concentração (%) tóxica para inibição de 50% (CI₅₀) da germinação das sementes iguais a 0,063 e 0,037%, respectivamente; e nos bioensaios de crescimento de plântula, o AC foi mais eficiente sobre a radícula da planta *S. obtusifolia* (com CI₅₀ igual a 0,009%) e para a planta *M. pudica* os valores de CI₅₀ foram de 0,097% e 0,117% para a radícula e hipocótilo, respectivamente. Essa pesquisa reforça o potencial fitotóxico do ácido (E)-cinâmico, verificado inicialmente na fase orgânica em acetato de etila (CEA) rica nesse fenilpropanoide.

Palavras-chave: Ácido (E)-cinâmico; Extrato etanólico; Germinação de sementes

Abstract

Phytotoxicity of the organic phase and major compound obtained from the fruit pulp of *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae). The phytotoxicity of ethanol extracts, of the organic phase and major compound (cinnamic acid)

obtained from the fruit pulp of *Crescentia cujete* L., were evaluated for their potential to inhibit seed germination, hypocotyl development and radicle development of the invasive weeds *Senna obtusifolia* (L.) Irwin & Barneby and *Mimosa pudica* Mill. The organic phase at a concentration of 0.5% inhibited 100% seed germination of both weeds. Cinnamic acid obtained from the organic phase inhibited seed germination by 95% for *S. obtusifolia* and 99% for *M. pudica* at a concentration of 0.1%, with concentrations (%) inhibiting 50% (IC₅₀) seed germination equal to 0.063% and 0.037%, respectively. For the seedling growth bioassays, the toxicity of the cinnamic acid was more efficient for the *S. obtusifolia* radicle (IC₅₀ equal to 0.009%), and for *M. pudica* the IC₅₀ values were 0.097% and 0.117% for the radicle and hypocotyl, respectively. This research reinforces the phytotoxic potential of cinnamic acid, verified initially in the organic phase (in ethyl acetate), which is rich in this phenylpropanoid.

Key words: Cinnamic acid; Ethanol extract; Seed germination

Introdução

A espécie *Crescentia cujete* L. é originária da América Central. No Brasil, ocorre desde a Amazônia até a região sudeste, onde foi introduzida para cultivo. Tem fruto globoso, com até 25 cm de diâmetro, com epicarpo verde, flexível e, endocarpo lenhoso e resistente. A polpa, quando verde, é corrosiva e usada no tratamento de doenças respiratórias, e quando madura, é abortiva. De seus frutos também se pode obter tinturas, além de cuias, muito usadas como vasilhas (SOUZA; LORENZI, 2005).

Estudo com os frutos de *C. cujete* levou a obtenção principalmente de iridoides (KANEKO et al., 1997), classe de compostos tidos como marcadores taxonômico da família Bignoniaceae. Em 1998, foram isolados o acantosideo D, benzoato de β -D-glicopiranosil, (R)-1-O- β -D-glicopiranosil-1,3-octanodiol e β -D-frutofuranosil-6-O-(*p*-hidroxibenzoil)- α -D-glicopiranosideo (KANEKO et al., 1998), furanonaftoquinonas (HELTZEL et al., 1993) e mais recentemente quatro novos iridoides (WANG et al., 2010).

Os metabólitos secundários de plantas com possíveis atividades herbicidas são investigados na busca por resolver problemas em relação aos produtos comerciais vigentes, entre eles, a resistência desenvolvida pelos organismos alvos. No manejo de plantas daninhas se procuram soluções biológicas para minimizar os impactos ambientais relacionados ao uso de herbicidas em sistemas agrícolas (TESIO et al., 2011).

A coevolução das plantas e de seus inimigos potenciais como os insetos fitófagos, microorganismos, herbívoros e mesmo outras plantas levam à produção de substâncias químicas de defesa, estratégias adaptativas para toxinas alelopáticas, aspectos atualmente

importantes na investigação e busca por novos metabólitos secundários com atividade fitotóxica (MACÍAS et al., 2007).

Estudo realizado por Novaes et al. (2013) demonstrou que os efeitos do extrato aquoso de folhas de *Rapanea umbellata* em concentrações de 10% e 5% foi comparado com o controle (água destilada) e o herbicida sintético oxifluorfenol sobre três plantas daninhas. O estudo concluiu que o herbicida teve efeitos mais significativos do que o extrato sobre o crescimento inicial da parte aérea. No entanto, o crescimento inicial da raiz foi significativamente mais afetado pelo extrato e também causou transtornos na anatomia radicular da raiz, indicando que deve ser bioprospectada e os seus aleloquímicos purificados para a descoberta de herbicidas de origem natural.

Há vinte anos não são lançados herbicidas com novos modos de ação, contudo, o desenvolvimento de novos produtos é extremamente necessário, devido ao rápido desenvolvimento da resistência aos herbicidas comerciais e o desafio da agricultura orgânica de trabalhar com a falta de produtos naturais eficazes (DAYAN; DUKE, 2014). Além disso, os bioensaios alelopáticos contribuem para proporcionar ao pequeno produtor a mudança na sua maneira de se relacionar com a terra e diminuir ou até mesmo abolir o uso de defensivos químicos em suas propriedades (SILVA, 2012).

Dentro desse contexto, realizou-se, além do estudo químico da polpa dos frutos da espécie *C. cujete*, a investigação da ação fitotóxica do extrato, da fase orgânica e do composto majoritário, sobre a germinação de sementes, crescimento do hipocótilo e radícula das plantas invasoras conhecidas como mata-pasto [*Senna obtusifolia* (L.) Irwin & Barneby] e malícia (*Mimosa pudica* Mill.).

Material e Métodos

Material vegetal

Os frutos da espécie *Crescentia cujete* L. foram coletados na zona urbana do município de Anapurus – MA, localizado no leste maranhense, na Região do Baixo Parnaíba. A identificação foi por comparação com a exsicata MG 101788, de domínio do Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi em Belém – PA (MPEG).

Obtenções do extrato, fase e do constituinte químico

A polpa (3.455 g) de sete frutos recém-coletados da espécie *C. cujete* foi triturada em liquidificador juntamente com etanol na proporção de 1:2, em seguida deixou-se a mistura resultante em maceração por dez dias. Após este período filtrou-se, obtendo-se o resíduo e a solução alcoólica que foi concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida, obtendo-se o extrato etanólico bruto (CETOH, 300 g). O extrato bruto, após diluição em água destilada foi submetido à partição com acetato de etila, obtendo-se a fase aquosa e a fase orgânica. A fase orgânica em acetato de etila foi concentrada em evaporador rotativo a pressão reduzida, obtendo-se a fase denominada CEA (25 g), a fase aquosa foi descartada. A fase CEA (17,59 g) foi submetida à cromatografia em coluna (CC), resultando em 41 frações as quais foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD). Das frações de 7-14 foi isolado o ácido (E)-cinâmico (3,35 g) na forma de cristais em agulhas.

Procedimentos gerais

Na análise em Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM), utilizou-se equipamento SHIMADZU 14B/QP5050A (Central Analítica do IQ-USP) com analisador tipo quadrupolo, em coluna BPX5 (não polar com 5% de fenil polisilfenileno siloxano) de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro. A pressão da coluna foi de 150 kPa com vazão de 2,7 mL min⁻¹. A temperatura inicial foi de 50 °C com temperatura final de 400 °C por temperatura do gás de 280 °C por interface também de 280 °C e o volume injetado foi de 2 µL em clorofórmio.

No fracionamento por cromatografia em coluna (CC) da CEA, utilizou-se sílica gel 0,063-0,2 mm (Vetec) como fase estacionária em coluna de vidro e sistema eluente, iniciando com hexano 100% seguido de mistura de hexano-acetato de etila com aumento da polaridade em escala de 5%, até chegar ao acetato de etila 100% e, posteriormente a mistura acetato de etila/metanol, também com aumento de polaridade em escala de 5% e por último com metanol 100%. O constituinte majoritário, o ácido (E)-cinâmico foi obtido puro e confirmado pela análise e comparação dos dados de RMN experimental com os dados da literatura (XIA et al., 2010; GOUVEIA, 2012).

A cromatografia em camada delgada comparativa (CCD) foi empregada para análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna, preparadas por uma suspensão de 30 g de sílica gel (60G-MERCK) com indicador de fluorescência com 60 mL de água destilada. As revelações das cromatoplasmas foram feitas por câmara de análise de fluorescência por luz ultravioleta, cabine tipo SPECTROLINE (modelo CM-10. Luz tipo SPECTROLINE modelo ENF-260C) através da exposição destas à radiação ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda 254 e 366 nm e por borrifamento com solução ácida de sulfato cérico (CeSO₄) em ácido sulfúrico (H₂SO₄)/água 1:1 ou solução de H₂SO₄/MeOH 1:1, seguido de aquecimento em estufa até revelação das mesmas, e o critério de pureza adotado para as substâncias isoladas foi à observação de uma única mancha em CCD.

Metodologia dos bioensaios

Os bioensaios de potencial fitotóxico foram realizados de acordo com metodologias desenvolvidas por Inderjit e Dakshini (1995), Macías et al. (2000) e Brasil (2009).

Germinação

Foi utilizada câmara de germinação BOD, com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro, forrada com papel de filtro qualitativo, recebeu 3 mL da solução do extrato da fase e do ácido (E)-cinâmico, em triplicata. Após evaporação do solvente o papel de filtro

foi umedecido com uma solução aquosa de fungicida (micostatim – 1%), em seguida foram colocadas 20 sementes das plantas receptoras *S. obtusifolia* e *M. pudica*. As testemunhas receberam apenas a solução aquosa de fungicida. Foi considerada semente germinada aquela que apresentava extensão radicular igual ou superior a 2,0 mm. A germinação das sementes foi monitorada em períodos de 4 dias, sendo que 24 horas após a montagem do experimento foi realizada a primeira contagem de germinação e com contagens diárias e eliminação das sementes germinadas. Para o cálculo do percentual de inibição utilizou-se a Equação 1 (INDERJIT; DAKSHINI, 1995; SANTOS et al., 2007).

Equação 1: Cálculo do percentual de inibição de germinação de sementes.

$$I (\%) = [1 - (SG_{\text{amostra}})] \times 100/SG_{\text{controle}}$$

Onde: SG_{amostra} – Número de sementes germinadas;
 SG_{controle} – Número de sementes germinadas na amostra controle.

Desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas testes

A avaliação do crescimento de plântulas foi desenvolvida de acordo com as condições citadas acima para a germinação de sementes. Para cada concentração foram colocadas seis sementes pré-germinadas de *S. obtusifolia* e *M. pudica*, com três dias de germinação. Ao final do período de 10 dias de crescimento, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo. Para o cálculo do percentual de crescimento utilizou-se a Equação 2 (WANG, 1997; SANTOS et al., 2007).

Equação 2: Cálculo da inibição do crescimento das plântulas.

$$I (\%) = [1 - (CEC_{\text{amostra}})] \times 100/CEC_{\text{controle}}$$

Onde: CEC_{amostra} – comprimento (cm) da radícula ou do hipocótilo;
 CEC_{controle} – comprimento (cm) da radícula ou do hipocótilo na amostra controle.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, para verificação dos

efeitos biológicos. Aplicou-se Análise de Variância (ANOVA) e quando os efeitos de tratamentos apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$), as médias foram comparadas por meio do teste de Tukey, fixando um nível de significância de 5%. Utilizou-se regressão linear simples (softwares SPSS 15.0; BioEstat 4.0). Os gráficos e os valores de CI_{50} e seus respectivos limite de confiança 95% ($LC_{95\%}$) foram elaborados utilizando-se o software Prism Graph Pad 6.

Resultados

A massa de 17,6 g fase orgânica foi submetida à separação em cromatografia em coluna (CC) e obteve-se 41 frações, das frações de 7 a 14 obteve-se 3,35 g de ácido (E)-cinâmico. Nos testes de fitotoxicidade a fase orgânica inibiu em 100% a germinação das sementes das duas plantas receptoras e em 66% e 78% o crescimento da radícula e do hipocótilo da planta *S. obtusifolia*, respectivamente e em 41% a radícula e em 68% o hipocótilo da planta *M. pudica*, em concentração única de 0,5% (Figura 1). O extrato bruto etanólico não apresentou atividade fitotóxica.

O ácido (E)-cinâmico foi testado nos experimentos de inibição da germinação das sementes e crescimento da radícula e hipocótilo das plantas *S. obtusifolia* e *M. pudica* nas concentrações de 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 e 0,10%. A concentração de 0,10% inibiu em 95% e em 99% a germinação das sementes de *M. pudica* e *S. obtusifolia*, respectivamente. Os demais valores inibitórios em percentuais estão relacionados na Tabela 1.

Na Tabela 2, estão relacionados os valores estatísticos de fitotoxicidade do ácido (E)-cinâmico sobre as duas plantas testes nas concentrações relacionadas na Tabela 1. Os valores do coeficiente de determinação (R^2), concentração (%) tóxica para inibição de 50% da germinação das sementes ou do crescimento das plântulas (CI_{50}) e o limite de confiança a 95% de probabilidade do CI_{50} ($LC_{95\%}$) calculados para a planta *S. obtusifolia* e para a *M. pudica* estão relacionados na Tabela 2. Na Figura 2, estão demonstrados os gráficos de regressão linear da fitotoxicidade *versus* as concentrações dos tratamentos com o ácido (E)-cinâmico e suas respectivas equações de regressão linear.

FIGURA 1: Valores inibitórios da germinação de sementes e crescimento de plântulas pela fase orgânica na concentração de 0,5% em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

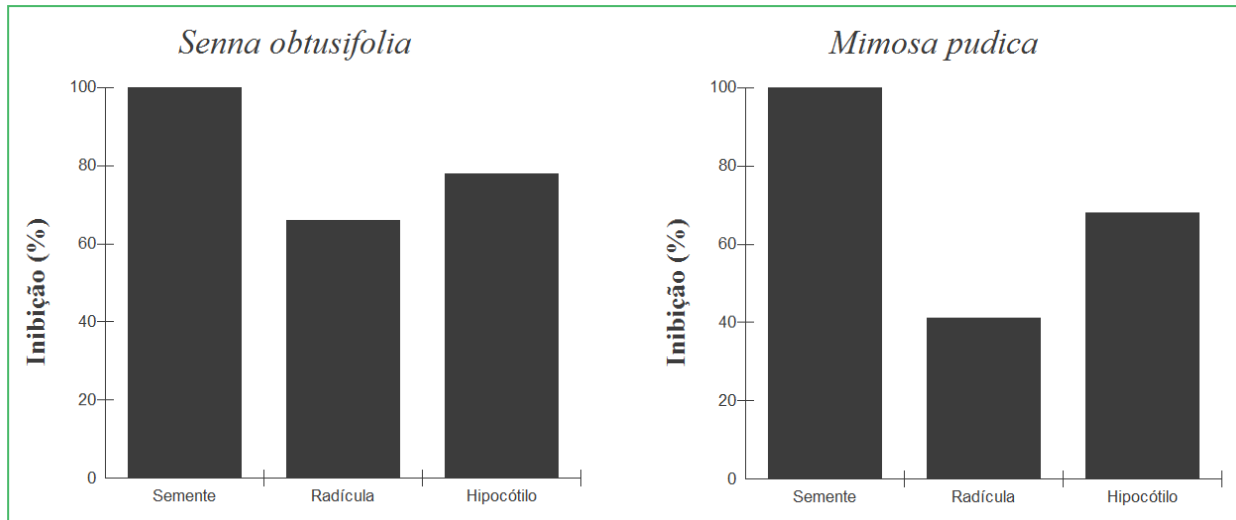


TABELA 1: Percentuais de inibição de germinação de sementes e crescimento de plântulas pelo ácido (E)-cinâmico.

[%]	Valores inibitórios (%)					
	<i>S. obtusifolia</i>			<i>M. pudica</i>		
	Germ.	Rad.	Hip.	Germ.	Rad.	Hip.
0,02	14ab	49b	19ab	30b	36ab	16ab
0,04	24b	57b	21ab	49b	33b	26ab
0,06	45c	62b	29abc	81c	29b	32ab
0,08	64d	62b	39bc	94c	45b	39b
0,10	95e	63b	60c	99c	42b	41b
CV (%)	16,09	10,57	15,86	26,89	16,48	14,98

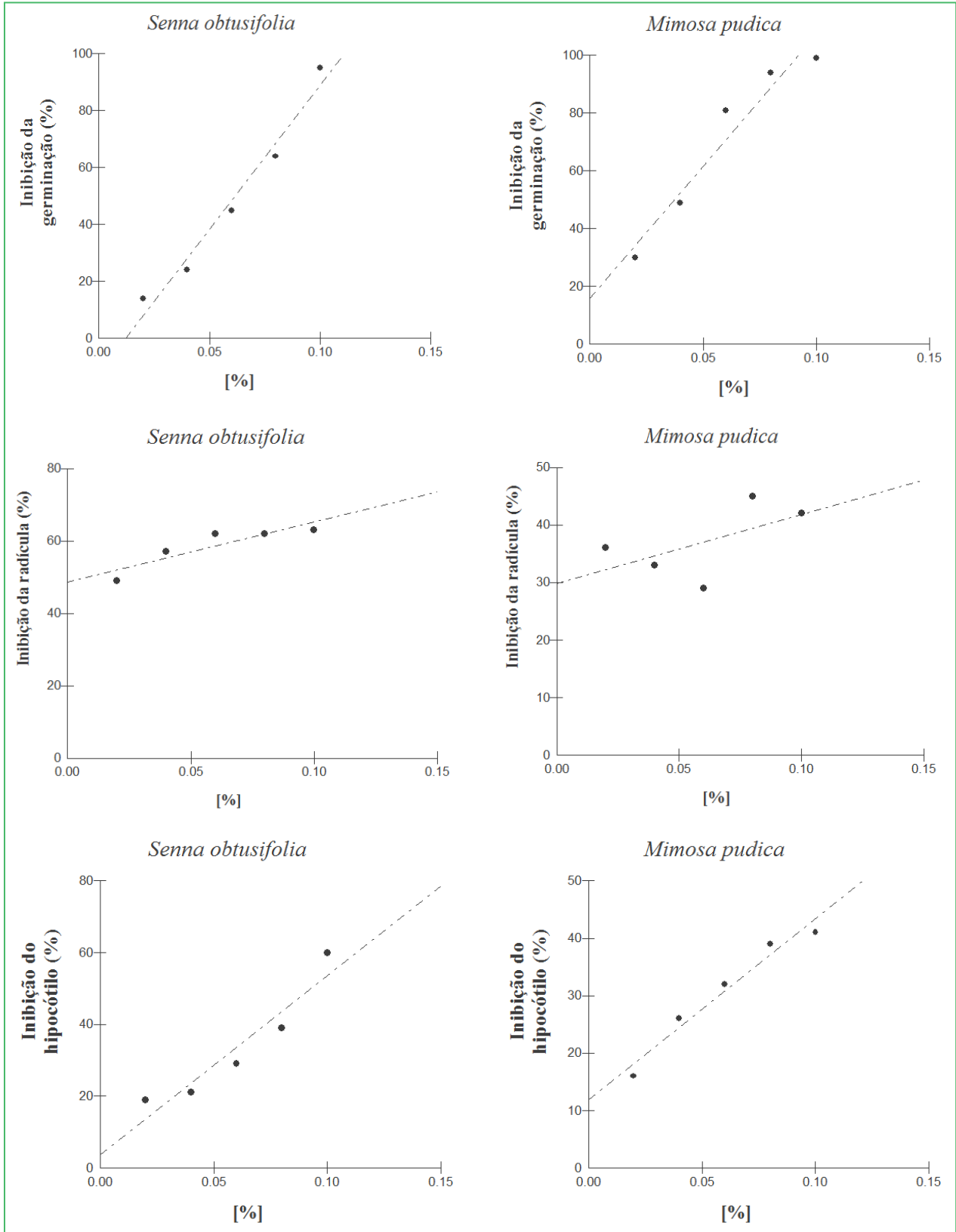
Germ. (Inibição da germinação); Rad. (Inibição do crescimento da radícula) e Hip. (Inibição do crescimento do hipocótilo). CV (Coeficiente de variação). As médias seguidas de uma mesma letra não variam estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 2: Dados de regressão linear com os parâmetros de fitotoxicidade dos tratamentos, utilizando o ácido (E)-cinâmico em diferentes concentrações sobre inibição da germinação de sementes e crescimento de plântulas em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

	Valores inibitórios (%)					
	<i>S. obtusifolia</i>			<i>M. pudica</i>		
	Germ.	Rad.	Hip.	Germ.	Rad.	Hip.
R ²	0,97	0,80	0,89	0,93	0,34	0,95
CI ₅₀	0,063	0,009	0,091	0,037	≈ 0,071	0,117
LC _{95%}	0,06 a 0,07	0,01 a 0,03	0,08 a 0,10	0,04 a 0,05	ND	0,11 a 0,13

Germ. (Inibição da germinação); Rad. (Inibição do crescimento da radícula) e Hip. (Inibição do crescimento do hipocótilo). R²: Regressão linear; CI₅₀: Concentração (%) tóxica para inibição de 50% da germinação das sementes ou do crescimento das plântulas; LC_{95%}: limite de confiança a 95% de probabilidade do CI₅₀; ND (não determinado).

FIGURA 2: Gráficos de regressão linear da fitotoxicidade *versus* as concentrações dos tratamentos com o ácido (E)-cinâmico em relação à germinação das sementes, crescimento da radícula e do hipocótilo das plantas *Senna obtusifolia* e *Mimosa pudica*, comparados com a testemunha, água destilada.



Discussão

Nesse estudo, a fase orgânica apresentou elevado potencial fitotóxico e foi submetida à investigação química, utilizando-se cromatografia em coluna (CC), cujo composto majoritário obtido foi o ácido (E)-cinâmico. Confirmado através da análise dos espectros de massas dos oito picos principais do íon cromatograma da fase orgânica submetida à técnica CG-EM, o ácido (E)-cinâmico era o composto majoritário com 89,15% (pico 3, m/z 148) (BARBOSA, 2008; VIEIRA, 2010). A confirmação do ácido (E)-cinâmico se deu pela análise dos espectros de RMN ¹H e de RMN ¹³C e está de acordo com a literatura (XIA et al., 2010).

Os efeitos fitotóxicos do extrato bruto (CETOH) e da fase orgânica da espécie *C. cujete* foram avaliados em ensaios de germinação das sementes das plantas-teste *S. obtusifolia* e *M. pudica*. O extrato bruto CETOH nas concentrações testadas não apresentou fitotoxicidade. No entanto, a fase orgânica inibiu 1000% a germinação das sementes das duas plantas receptoras, utilizando concentração de 0,5%. Comparativamente, o óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) a 3,0% apresentou 40% de inibição da germinação das sementes de *S. obtusifolia* e *M. pudica* (SOUZA FILHO et al., 2009), ou seja, essa concentração é seis vezes maior do que a utilizada para a fase orgânica, e, ainda, duas vezes e meia menos ativa. A fase orgânica também apresentou resultados expressivos na inibição do crescimento da radícula e hipocótilo, inibindo o crescimento da radícula em 66% e do hipocótilo em 78% de *S. obtusifolia* e em 41% e 68%, para a radícula e hipocótilo de *M. pudica*, respectivamente. Os resultados aqui obtidos também são superiores aos observados na inibição da germinação de sementes e o desenvolvimento da raiz de *M. pudica* e *S. obtusifolia* causada pelos extratos hexânico e etanólico a 1,0% de três espécies de *Copaifera* (*Copaifera duckei*, *C. martii* e *C. reticulata*); destaca-se, ainda, que a concentração utilizada no presente trabalho foi de 0,5%, ou seja, a metade da concentração dos extratos de *Copaifera* (SOUZA FILHO et al., 2010).

O ácido (E)-cinâmico, o composto majoritário da fase CEA foi testado também nos experimentos de inibição da germinação das sementes e crescimento da radícula e hipocótilo das plantas *S. obtusifolia* e *M.*

pudica nas concentrações de 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 e 0,1%. Foram observados efeitos inibitórios de 95% e em 99% na germinação das sementes de *M. pudica* e *S. obtusifolia*, respectivamente, utilizando a maior concentração.

A Figura 2 apresenta os gráficos de regressão linear, onde o efeito inibitório ocorreu proporcionalmente ao aumento da concentração, considerando todos os tratamentos. Para *S. obtusifolia*, o coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,97 e CI_{50} igual a 0,063% e para *M. pudica*, R^2 igual a 0,93 e CI_{50} de 0,037% com intervalo de confiança a 95% de 0,036-0,048%.

Os dados experimentais relatados neste trabalho reforçam as informações apresentados por Souza Filho et al. (2005) que, estudando os efeitos de inibição da germinação de sementes de três plantas invasoras, entre elas *S. obtusifolia* e *M. pudica* pelo ácido *p*-cumárico, também um fenilpropanoide, constataram que aumentando a concentração do ácido *p*-cumárico aumentava também os valores inibitórios. Em relação às plântulas, destaca-se nos ensaios de fitotoxicidade a inibição de 60% do crescimento do hipocótilo da planta *S. obtusifolia* na presença de ácido (E)-cinâmico na concentração de 0,10%. A inibição do crescimento da radícula da planta *S. obtusifolia* foi de 63% e da *M. pudica* de 42%.

Considerando-se os dois bioensaios de crescimento de plântulas, a planta *S. obtusifolia* sofreu maior inibição do crescimento em comparação com a *M. pudica*. Os dados experimentais aqui relatados reforçam as informações apresentados por Chon et al. (2002) que demonstram que compostos como a cumarina, o ácido (E)-cinâmico, o ácido *o*-cumárico reduziram significativamente o comprimento de raízes de alfafa (*Medicago sativa* L.) e capim-arroz (*Echinochloa crus-galli*, Beauv. var. *oryzicola* Ohwi).

Observações de danos à raiz em nível celular, evidenciado pelas alterações na morfologia celular e organização interna são relatadas por Hui Li et al. (2010). Corroboram também para essas informações o estudo com a espécie conhecida como *Anagallis arvensis*, cujos extratos aquosos, de onde foram identificados os ácidos fenólicos, ácido (E)-cinâmico, ácido cafeico e ácido salicílico, inibiram a germinação e crescimento da radícula de seis espécies receptoras (REBAZ et al., 2001).

Estudos sugerem que a aplicação exógena dos ácidos (E)-cinâmico, *p*-cumárico e ferúlico induzem a prematura cessação do crescimento das raízes de soja e, em nível metabólito, são canalizados dentro da via dos fenilpropanoides e convertidos nos correspondentes alcoóis, seguido por excessiva produção de monolignóis, os quais são polimerizados formando lignina, que enrijece a parede vegetal e restringe o crescimento da planta (KAUR et al., 2005; SIMÕES et al., 2010).

Esse é o primeiro relato de estudo de atividade fitotóxica da espécie *Crescentia cujete* e, também a primeira divulgação da obtenção do ácido (E)-cinâmico na polpa dos frutos dessa espécie. As etapas dessa pesquisa reforçam em seus procedimentos a ação fitotóxica do ácido (E)-cinâmico, inicialmente verificada na fase em acetato de etila (CEA), rica nesse fenilpropanoide, como demonstrado nesse trabalho. Os efeitos fitotóxicos evidenciados são condizentes com dados e relatos de estudos alelopáticos dos chamados fenilpropanoides.

Conclui-se que a fase orgânica obtida da polpa dos frutos de *C. cujete* pode ser uma alternativa no controle de plantas invasoras auxiliando a agricultura orgânica, contudo, novos estudos com concentrações menores e estudo *in vivo* devem ser realizados, bem como, para o ácido (E)-cinâmico que é o composto majoritário na fase orgânica ativa.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade federal do Pará, ao Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão e a EMBRAPA pelo suporte de infraestrutura e a FAPESPA e FAPEMA pelo suporte financeiro.

Referências

BARBOSA, D. de A. **Avaliação fitoquímica e farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)**. 2008. 115 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008.

BRASIL – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal, 2009. 365 p.

CHON, S.-U.; CHOI, S.-K.; JUNG, S.; JANG, H.-G.; PYO, B.-S.; KIN, S.-M. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, n. 10, p. 1077-1082, 2002.

DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural compounds as next generation herbicides. **Plant Physiology**, Mississippi, v. 166, n. 3, p. 1090-1105, 2014.

GOUVEIA, V. L. M. **Avaliação do potencial farmacológico de metabólitos secundários de *Cystoseira abies-marina***. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas). Departamento de Ciências Tecnológicas e Desenvolvimento, Universidade dos Açores – Ponta Delgada (Portugal). 2012.

HELTZEL, C. E.; GUNATILAKA, A. A. L.; GLASS, T. E.; KINGSTON, D. G. I. Bioactive furanonaphthoquinones from *Crescentia cujete*. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 56, n. 9, p. 1500-1505, 1993.

HUI LI, Z.; WANG, Q.; RUAN, X.; PAN, C.-DE; JIANG, D.-A. Phenolics and Plant Allelopathy. **Molecules**, Basel, v. 15, p. 8933-8952, 2010.

INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, New York, v. 6, n. 1, p. 28-44, 1995.

KANEKO, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; DUC, N. M. Iridoids and iridoid glucosides from fruits of *Crescentia cujete*. **Phytochemistry**, Leiden, v. 46, n. 5, p. 907-910, 1997.

KANEKO, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; DUC, N. M. n-Alkyl glycosides and p-hydroxybenzoyloxy glucose from fruits of *Crescentia cujete*. **Phytochemistry**, Leiden, v. 47, n. 2, p. 259-263, 1998.

KAUR, H.; INDERJIT; KAUSHIK, S. Cellular evidence of allelopathic interference of benzoic acid to mustard (*Brassica juncea* L.) seedling growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, Versailles, v. 43, n. 1, p. 77-81, 2005.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, Washington, v. 48, n. 6, p. 2512-2521, 2000.

MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. L. G.; GALINDO, J. C. G. Evolution and current status of ecological phytochemistry. **Phytochemistry**, Leiden, v. 68, n. 22-24, p. 2917-2936, 2007.

NOVAES, P.; IMATOMI, M.; MIRANDA, M. A. F. M.; GUALTIERI, S. C. J. Phytotoxicity of leaf aqueous extracts of *Rapanea umbellata* (Mart.) Mez (Primulaceae) on weeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 231-239, 2013.

REBAZ, Z.; SHAUKAT, S. S.; SIDDIQUI, I. A. Allelopathic potencial of *Anagallis arvensis* L.: A cosmopolitan weed. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 4, n. 4, p. 446-450, 2001.

SANTOS, L. S.; BORGES, F. C.; OLIVEIRA, M. N.; FERREIRA, I. C. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M. S. P.; MÜLLER, A. H. and ARRUDA, A. C. Allelochemicals isolated from the leaves of *Virola michelli* Heckel. **Allelopathy Journal**, Haryana, v. 20, p. 235-241, 2007.

SILVA, P. S. S. da. Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 65-74, 2012.

- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre, Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104 p.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; PEREIRA, A. A. G.; BAYMA, J. C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 25-32, 2005.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; CUNHA, R. L.; VASCONCELOS, M. A. M. de. Efeito inibitório do óleo de *Azadirachta indica* A. Juss. Sobre plantas daninhas. **Revista Ciências Agrárias**, Belém, n. 52, p. 79-86, 2009.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; GURGEL, E. S. C.; QUEIROZ, M. S. M.; SANTOS, J. U. M. Atividade alelopática de extratos brutos de três espécies de *Copaifera* (Leguminosae-Caesal pinioideae). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 4, p. 743-751, 2010.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrativo para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira**, baseado em APG II, São Paulo, Nova Odessa, SP, 2005, 155 p.
- TESIO, F.; WESTON, L. A.; FERRERO, A. Allelochemicals identified from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) residues and their potential inhibitory activity in the field and laboratory. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 129, n. 3, p. 361-368, 2011.
- VIEIRA, M. G. S. **Estudo químico de *Xylopia nitida* Dunal (Annonaceae)**. 2010. 170 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2010.
- WANG, W. Root elongation method for toxicity testing of organic and inorganic pollutants. **Environmental Toxicology & Chemistry**, Porto, v. 6, p. 409-414, 1987.
- WANG, G.; YIN, W.; ZHOU, Z.-Y.; HSIEH, K.-L.; LIU, J.-K. New iridoides from the fruits of *Crescentia cujete*. **Journal of Asian Natural Product Research**, London, v. 12, n. 9, p. 770-775, 2010.
- XIA, L.-Z.; ZHOU M.; XIAO Y.-H.; LI G.-Y.; XIAO-ZHEN; ZHANG G.-L. Chemical constituents from *Helwingia japonica*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, Nanquim, v. 8, n. 1, p. 8933-8952, 2010.