



Atividade alelopática do extrato e frações das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera

Cristiane da Silva Paula^{1,*}; Vanessa Cristina Dias Cantelli²; Cristiane Bezerra da Silva¹; Ranieri Campos²; Obdúlio Gomes Miguel²; Marilis Dallarmi Miguel¹

¹ Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacotécnica, Curitiba, PR, Brasil

² Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia, Laboratório de Fitoquímica, Curitiba, PR, Brasil

RESUMO

Alelopatia se refere à capacidade que determinada planta tem de interferir no metabolismo de outra, por meio de substâncias liberadas no ambiente. O presente trabalho avaliou o efeito do extrato e frações das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* sobre a germinação, crescimento, respiração e conteúdo de clorofila em *Lactuca sativa* (alface). Três concentrações em quadruplicata de solução do extrato, frações e 50 sementes de alface, por placa de petri, foram mantidas em câmara de germinação por sete dias. Contagens diárias avaliaram a germinação e medidas da radícula e do hipocótilo, o crescimento. Para o teste de respiração e clorofila total foi realizada leitura em espectrofotômetro após tratamento específico. Com relação à porcentagem, velocidade de germinação e respiração, não foram observadas diferenças quando comparadas ao controle. Observou-se atividade alelopática do extrato e frações sobre o crescimento radicular e o conteúdo de clorofila total. Conclui-se que extrato e frações testados apresentam compostos químicos com atividade alelopática.

Palavras-Chave: Germinação. Clorofila. Hipocótilo.

INTRODUÇÃO

O termo alelopatia, citado pela primeira vez em 1937 pelo alemão Hans Molish, é utilizado para indicar qualquer efeito causado por um ser vivo de forma benéfica ou prejudicial sobre outro, por meio da liberação de substâncias químicas e/ou produtos do metabolismo secundários por ele elaborados (Centenaro, 2009). É um tipo de interação bioquímica entre vegetais, considerada uma forma de adaptação química defensiva das plantas, além de ser um fator de estresse ambiental para muitas espécies (Maraschin-Silva, 2006).

As substâncias com ação alelopática são chamadas aleloquímicos, e podem ser liberadas pelas plantas através de lixiviação, exsudação radicular, volatilização,

decomposição de seus resíduos ou outros processos, tanto em sistemas naturais quanto agrícolas (Manoel, 2009), causando diversos efeitos diretos e indiretos sobre outras plantas. Os efeitos indiretos compreendem alterações nas propriedades e características nutricionais do solo e, também, nas populações bem como nas atividades de microrganismos, nematóides e insetos. Já os efeitos diretos incluem alterações no crescimento e metabolismo vegetal (Rizvi et al., 1992), englobando alterações em níveis celular, fitormonal, fotossintético e respiratório, bem como absorção de nutrientes e nas relações hídricas (Rice, 1984; Rizvi et al., 1992). Neste contexto, destaca-se a competição por elementos nutritivos, água e raios solares, causado pelas plantas daninhas em áreas de cultivo comercial, afetando o desenvolvimento e reduzindo a produtividade e qualidade da cultura invadida (Tokura & Nóbrega, 2006). Nestes casos, o uso de herbicida sintético pode ser considerado um método eficaz de controle, entretanto, seu uso inadequado pode levar a um aumento da resistência a estas substâncias além de danos ao ambiente. Nesta perspectiva, estudos relacionados à ação alelopática são úteis na busca por novas moléculas com ação herbicida, porém menos prejudiciais ao ambiente (Magiero et al., 2009).

Considerando o exposto acima, tornam-se necessários estudos com plantas em busca de substâncias do metabolismo secundário com potencial alelopático. Desta forma, foi realizado o estudo com a *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera conhecida popularmente por açucará, espinho-de-agulha, espinho-de-judeu, lavra-mão e sucará. É uma árvore com cerca de 10 m de altura encontrada no Sudeste e Sul do Brasil (MG ao RS) e extremo nordeste da Argentina. (Fernandes & Ritter, 2009). Nesta perspectiva, este trabalho teve como objetivo verificar atividade alelopática do extrato bruto etanólico e frações de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera, na germinação e crescimento inicial, respiração e fotossíntese de *Lactuca sativa* (alface), por meio de bioensaios laboratoriais, verificando desta forma a possibilidade de uso da planta como herbicida natural.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As partes aéreas da *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera foram coletadas no município de

Autor correspondente: Cristiane da Silva Paula. Laboratório de Farmacotécnica, Av. Prof. Lothário Meissner, 632 – Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba, PR. E-mail: crisspaula@onda.com.br

Curitiba - Paraná e identificadas por comparação com exsicata, depositada no Museu Botânico Municipal da Prefeitura de Curitiba sob o número 54772.

Preparo dos extratos

Para o experimento foram utilizadas as folhas, que foram secas em temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas/martelo. O extrato bruto foi obtido a partir de 1,14 kg deste material vegetal em etanol, com a utilização do aparelho de Soxhlet. Este foi filtrado e concentrado através da eliminação do solvente por destilação e mantido em banho-maria (65 °C) até remoção total. O extrato bruto foi utilizado para a obtenção das frações por partição líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades, na seguinte ordem: n-hexano, clorofórmio e acetato de etila. Cada fração obtida foi submetida à destilação, para remoção do solvente, sendo posteriormente mantidas em banho-maria (65 °C) até eliminação total. A partir do extrato bruto (EB), fração hexano (FH), fração clorofórmio (FCL), fração acetato de etila (FAE) e fração hidroalcoólica residual (FR) foram realizados os ensaios propostos.

Atividade Alelopática

Foi analisada atividade alelopática do extrato bruto etanólico e frações das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera sobre sementes de *Lactuca sativa* L. (alface). Placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro nº 1 (Whatman®), previamente autoclavadas, receberam 5,0 mL da solução das amostras (extrato e frações), preparadas nas concentrações de 250 µg mL⁻¹, 500 µg mL⁻¹ e 1.000 µg mL⁻¹, em quadruplicata. Em seguida, foram semeadas sobre cada disco de papel filtro, 50 sementes da espécie alvo (alface), conforme Brasil (2009). Como controle, procedimento similar foi utilizado, porém com ausência dos extratos e frações. As placas de Petri foram levadas a uma câmara de germinação (BOD) com umidade relativa (± 80%), temperatura de 25 °C e iluminação interna (160 W).

Teste de Germinação

Para o bioensaio de germinação foi utilizada a metodologia proposta por Macias et al. (2000), em que a contagem para avaliar a germinação foi realizada diariamente, tendo como critério a protrusão radicular com no mínimo 2,0 mm de comprimento. O experimento foi considerado concluído quando a germinação foi nula por três dias consecutivos. O índice de velocidade de germinação foi calculado por meio da seguinte fórmula $IVG = G1/N1 + G2/N2 + G3/N3 + G4/N4... + Gn/Nn$, em que G1, G2, G3... Gn é o número de sementes germinadas e N1, N2, N3...Nn é o número de dias após a semeadura (Hoffmann et al., 2007; Lima et al., 2011).

Teste de Crescimento

Para os bioensaios de crescimento utilizou-se a metodologia descrita por Barnes et al. (1987) e Macias et al. (2000). Após três dias da protrusão radicular, mediu-se

o alongamento do hipocótilo/radicula (dez plântulas por placa) utilizando papel milimetrado.

Respiração de raízes

Ao final do teste da germinação e crescimento, as raízes foram utilizadas para realização do teste da respiração (Steponkus & Lanphear, 1967). Foram cortadas 10 raízes a 1,0 cm a partir da coifa e transferidas para tubos de ensaio, sendo então adicionado em cada tubo 5 mL de cloridrato de trifetil tetrazólio (TTC) 0,6% (p/v), 1 mL de tampão fosfato de sódio (mono e dibásico) a 0,05 M (pH 7,0), e então os tubos foram deixados em temperatura ambiente por 2 horas. Após esse período os tubos foram transferidos para estufa a 40 °C por 15 horas. Ao final desse tempo, as soluções dos tubos foram drenadas e as raízes lavadas uma vez com água destilada, que em seguida também foi drenada ao máximo. Posteriormente adicionou-se 7 mL de etanol 95% (v/v) e então os tubos foram levados para o banho-maria com água fervente (± 100 °C) durante 15 minutos, ou até secura. Os tubos foram então resfriados até temperatura ambiente recebendo logo em seguida 10 mL de etanol 95% (v/v). Foi realizada a leitura em espectrofotômetro (marca Shimadzu modelo UV-1800) a 530 nm usando como branco etanol 95% (v/v).

Clorofila Total

Ao final do teste da germinação e crescimento as folhas foram utilizadas para avaliação da Clorofila Total. Foram cortadas 10 folhas primárias inteiras e transferidas para tubos de ensaio, contendo 5,0 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) e então os tubos foram embrulhados em papel alumínio e deixados em temperatura ambiente por 24 horas. Após este período foi realizadas as leituras da absorbância da clorofila A (645 nm) e B (663 nm) em espectrofotômetro (marca Shimadzu modelo UV-1800) utilizando como branco DMSO.

O teor de clorofila total foi calculado de acordo com a equação de Arnon (1949) e Lichtenthaler (1987).

$$\text{Clorofila total} = 20,2 \times \text{Abs A} + 8,02 \text{ Abs B}$$

Em que: AbsA = absorbância da clorofila a
AbsB = absorbância da clorofila b

Análise estatística

As determinações foram feitas em quadruplicata (germinação e crescimento) e triplicata (respiração e clorofila total) e os resultados correspondem à média ± o desvio-padrão da média. Para análise estatística, foi utilizado o programa SISVAR 5.3 (Ferreira, 2000) e a comparação das médias realizada por meio do teste Scott-Knott com 5% de probabilidade.

RESULTADOS

De acordo com os resultados expressos na Tabela 1 é possível observar que as sementes da espécie alvo, *Lactuca sativa* (alface), não sofreram influência no processo de

velocidade de germinação após contato com o extrato e frações obtidas das folhas de *D. tomentosum*.

Na avaliação do crescimento da radícula, de acordo com a Tabela 2, é observado que a FCL e FAE demonstraram inibição sobre o crescimento em todas as concentrações avaliadas, já o EB, FH e FR inibiram o crescimento somente na concentração de 1000 µg mL⁻¹. Destaca-se o efeito observado com o extrato etanólico bruto (1.000 µg mL⁻¹), que promoveu uma redução de 49,93% em comparação ao controle. Ainda na mesma concentração

a FH, FCL, FAE e FR promoveram inibições de 27,48%, 30,20%, 28,57% e 21,09% respectivamente. Com 500 µg mL⁻¹ houve redução no tamanho da radícula promovida pela FH em 27,48%, FCL em 28,84% e para a FAE em 27,48% (Tabela 2). O efeito estimulante foi observado na avaliação do crescimento do hipocótilo (Tabela 2), em que o extrato bruto promoveu estímulo do crescimento em todas as concentrações testadas, assim como a FH na concentração de 500 e 1000 µg mL⁻¹, FR com 500 µg mL⁻¹ e FAE com 1000 µg mL⁻¹.

Tabela 1 - Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Porcentagem de Germinação (% G) de sementes de alface submetida a diferentes concentrações do extrato e frações das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera

IVG Alface					
	EB	FH	FCL	FAE	FR
Tratamento					
250 µg mL⁻¹	17,85±1,34 a	15,54±0,67 a	17,29±1,68 a	16,93±0,82 a	16,85±1,66 a
500 µg mL⁻¹	17,22±1,68 a	16,10±1,0 a	16,05±1,09 a	18,67±1,37 a	17,59±1,20 a
1000 µg mL⁻¹	16,76±1,22 a	17,21±1,38 a	14,42±1,68 a	17,75±1,71 a	15,61±0,47 a
Controle	15,91±1,09 a				
% G Alface					
	EB	FH	FCL	FAE	FR
Tratamento					
250 µg mL⁻¹	91,0±1,58 a	84,5±0,22 a	86,0±0,66 a	85,5±1,53 a	84,5±1,38 a
500 µg mL⁻¹	88,5±0,41 a	81,0±1,53 a	87±1,12 a	91,5±0,32 a	91,0±0,31 a
1000 µg mL⁻¹	80,5±1,22 a	83,5±1,39 a	81,0±0,83 a	88,0±0,83 a	77,0±1,76 a
Controle	83,5±0,12 a				

IVG=Índice de velocidade de germinação. %G= porcentagem de germinação. Extrato etanólico bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Acetato de etila (FAE) e Fração Hidroalcoólica Residual (FR). Média e Desvio seguidos da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tabela 2 – Crescimento inicial da Radícula e Hipocótilo de *Lactuca sativa* L. frente ao extrato e frações de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera

Radícula (mm)					
	EB	FH	FCL	FAE	FR
Tratamento					
250 µg mL⁻¹	7,35±1,37 c	6,83±1,63 c	5,78±1,86 b	5,83±1,53 b	7,45±0,99 c
500 µg mL⁻¹	7,35±1,61 c	7,1±1,92 c	5,23±1,59 b	5,33±1,54 b	7,50±1,34 c
1000 µg mL⁻¹	3,68±1,0 a	5,33±0,93b	5,13±1,40 b	5,25±1,68 b	5,8±1,42b
Controle	7,35±1,56 c				
Hipocótilo (mm)					
	EB	FH	FCL	FAE	FR
Tratamento					
250 µg mL⁻¹	4,55±1,08 b	4,30±1,24 a	3,85±0,89 a	3,98±0,66 a	4,35±0,89 a
500 µg mL⁻¹	5,08±1,37 b	4,63±1,31 b	4,13±1,09 a	4,38±1,03 a	5,0±0,96 b
1000 µg mL⁻¹	5,23±1,54 b	4,70±0,99b	3,75±0,71 a	4,58±1,11 b	4,35±0,86 a
Controle	3,95±0,64 a				

Extrato etanólico bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Acetato de etila (FAE) e Fração Hidroalcoólica Residual (FR). Média e Desvio seguidos da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

No experimento realizado para avaliar o teor de clorofila total (clorofilas a + b), verificou-se que houve um aumento do conteúdo em todas as concentrações testas para a FR, na concentração de 500 e 1000 µg mL⁻¹ para o EB, e na concentração de 250 µg mL⁻¹ para o FCL e FAE (Tabela

3). O efeito de redução do conteúdo da clorofila total foi observado com a FH em todas as concentrações avaliadas no experimento e para a FCL na concentração de 1000 µg mL⁻¹. Com relação à atividade respiratória, no presente estudo, não foi observado nenhum efeito estatisticamente

significativo de inibição ou estímulo da respiração, em raízes das plântulas de alface sob a ação do extrato e frações, quando comparados ao controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Determinação da Clorofila Total (folhas) e Atividade Respiratória (raiz primária) de *Lactuca sativa* L. frente ao extrato e frações de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera

Clorofila Total					
	EB	FH	FCL	FAE	FR
Tratamento					
250 µg mL⁻¹	7,48±0,33 b	6,33±0,23 a	8,22±0,06 c	8,42±0,25 c	8,94±0,88 d
500 µg mL⁻¹	7,89±0,53 c	6,35±0,06 a	7,56±0,38 b	7,55±0,40 b	8,31±0,19 c
1000 µg mL⁻¹	9,51±0,44 d	6,66±0,03 a	6,39±0,29 a	7,13±0,17 b	8,0±0,53 c
Controle	7,19±0,05 b				
Atividade Respiratória					
	EB	FH	FCL	FAE	FR
Tratamento					
250 µg mL⁻¹	0,09±0,01 a	0,13±0,003 a	0,11±0,03 a	0,14±0,66 a	0,11±0,03 a
500 µg mL⁻¹	0,09±0,009 a	0,11±0,002 a	0,09±0,02 a	0,12±0,02 a	0,09±0,04 a
1000 µg mL⁻¹	0,11±0,009 a	0,10±0,008 a	0,10±0,04 a	0,13±0,01 a	0,13±0,007 a
Controle	0,082±0,009a	0,082±0,009a	0,082±0,009a	0,082±0,009a	0,082±0,009a

Extrato etanólico bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Acetato de etila (FAE) e Fração Hidroalcoólica Residual (FR). Média e Desvio seguidos da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

DISCUSSÃO

O presente ensaio revelou que não existe qualquer diferença estatisticamente significativa nos valores de IVG e de porcentagem de germinação (% G), do extrato e frações em três concentrações, quando comparados ao controle. Um estudo conduzido com sementes de tomate e utilizando extrato da espécie *Bauhinia forficata* demonstrou resultado semelhante ao presente experimento com relação à porcentagem de germinação (Manoel et al., 2009). Ferreira & Borghetti (2004) explicam que em algumas situações o efeito alelopático pode não ocorrer sobre a porcentagem de germinação final, e sim sobre outro parâmetro. Ferreira & Aqüila (2000) também evidenciaram o fato de que a germinação é menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas (Manoel et al., 2009). Chiapusio et al. (1997) indicam que, apesar de a porcentagem de germinação ser um índice muito utilizado, a mesma não evidencia outros aspectos do processo germinativo, por englobar apenas resultados finais, ignorando atrasos ou períodos inativos de germinação durante o bioensaio.

Com relação ao crescimento da radícula foi observado principalmente efeito inibitório enquanto que no crescimento do hipocótilo foi observado efeito estimulante. Estudos realizados por Kuo et al. (1982) mostraram que o extrato aquoso das folhas de leucina inibiu o crescimento da radícula de plantas de alface e de arroz. Carmo et al. (2007) verificaram que os extratos aquosos de cascas de tronco e de raízes inibiram o desenvolvimento do sistema radicular das plântulas de sorgo, e a sua parte aérea teve o crescimento estimulado pelo extrato de cascas de raízes. A inibição do crescimento inicial do eixo hipocótilo-raiz da planta-alvo quando em contato com a amostra é um efeito normalmente observado e descrito na literatura (Aqüila,

2000), e pode ser mais pronunciado na raiz (radícula), tendo em vista que ocorre um contato íntimo desta com o papel filtro da placa de Petri (Chung et al., 2001). De acordo com o conceito de alelopátia, cunhado por Molisch em 1937, é possível além de efeitos inibitórios, a observação de efeitos estimulatórios, como os observados no experimento.

De acordo com o conteúdo de clorofila total no presente estudo, o efeito mais comumente observado foi o aumento. O conteúdo de clorofila nas folhas frequentemente é utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa. Uma planta com alta concentração de clorofila é capaz de atingir taxas fotossintéticas maiores (Chappelle & Kim, 1992), conseqüentemente, o crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes. Por outra perspectiva, uma redução no teor de clorofila promove uma redução nas taxas fotossintéticas. A fotossíntese é o processo físico-químico de base para o crescimento das plantas, sendo fortemente influenciada por fatores ambientais e também por aleloquímicos (Zhou & Yu, 2006). Segundo Chou (1999), certas classes de aleloquímicos interferem na fotossíntese por induzir mudanças no conteúdo de clorofila das plantas. Rizvi et al. (1992) reportam-se aos ácidos fenólicos, às cumarinas, aos polifenóis e aos flavonoides como os principais aleloquímicos responsáveis pela inibição da fotossíntese, por alterarem o transporte de elétrons e a fosforilação nos fotossistemas.

Ferreira & Aqüila (2000) destacam que efeitos dos aleloquímicos sobre a germinação pode estar relacionada às alterações na respiração, efeitos não observados no presente estudo.

A investigação do potencial alelopático das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera em laboratório evidencia que essa espécie apresenta

compostos químicos que promovem principalmente a inibição do crescimento radicular, estímulo do crescimento do hipocótilo e aumento da clorofila total na espécie-alvo avaliada. Estes resultados são indicativos de potencial biotecnológico da espécie, sendo assim, novos ensaios deverão ser conduzidos com propósito de identificar os constituintes químicos responsáveis pelos resultados aqui obtidos.

AGRADECIMENTOS

A CAPES/REUNI pela bolsa de doutorado concedida à primeira autora e ao Museu Botânico Municipal da Prefeitura de Curitiba (MBM), pela identificação da espécie vegetal.

ABSTRACT

Allelopathic activity of extract and fractions from leaves of Dasyphyllum tomentosum (Spreng.) Cabrera

Allelopathy refers to the ability of certain plants to interfere with the metabolism of others by releasing substances into the environment. In this study, the effects of the ethanol extract and fractions from leaves of *Dasyphyllum tomentosum* on the germination, growth, respiration and chlorophyll content of *Lactuca sativa* (lettuce) were investigated. Solutions of extract and fractions, at three concentrations, were incubated in a germination chamber for 7 days in quadruplicate petri dishes, each with 50 lettuce seeds. Germination counts and measurements of radicle and hypocotyl growth were carried out daily. For the respiration and total chlorophyll tests, a spectrophotometer was used to measure absorbance after specific assay treatments of the roots and leaves, respectively. Concerning the percentage and speed of germination, no difference was observed relative to control. However, both extract and fractions had allelopathic effects on root growth and total chlorophyll content. It is concluded that the extract and fractions contain compounds with allelopathic activity.

Keywords: Germination. Chlorophyll. Hypocotyl.

REFERÊNCIAS

- Aquila MEA. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. Iheringia Série Botânica. 2000;53:51-66.
- Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 1949;1:1-15.
- Barnes JP, Putnam AR. Role of benzoxazinones in allelopathy by rye (*Secale cereale*). J Chem Ecol. 1987;13:889-906.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: Mapa/ACS; 2009. 398 p.
- Carmo FMS, Borges EEL, Takaki M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). Acta Bot Bras. 2007;21(3):697-705.
- Centenaro C, Corrêa LGP, Karas MJ, Virtuoso S, Dias JFG, Miguel OG, Miguel MD. Contribuição ao estudo alelopático de *Erythrina velutina* Willd. Fabaceae. Rev Brás Farmacogn. 2009;19(1B):304-8.
- Chappelle EW, Kim MS. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): the algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. Remote Sens Environ. 1992;39:239-47.
- Chiapusio G, Sánchez AM, Reigosa MJ, González L, Pellissier L. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? J Chem Ecol. 1997;11:2445-53.
- Chou C H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. CRC Crit Rev Plant Sci. 1999;18(5):609-30.
- Chung IM, Ahn JK, Yun SJ. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. Crop Protect. 2001;20:921-8.
- Fernandes AC, Ritter MR. A família Asteraceae no Morro Santaba, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Rev Bras Bioci. 2009;7(4):395-439.
- Ferreira AG, Borghetti F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed; 2004.
- Ferreira AG, Aquila MEA. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia vegetal. Rev Bras Fisiol Vegetal. 2000;12:175-204.
- Ferreira DF. Sistema de análises de variância para dados balanceados (SISVAR). Pacote computacional. Lavras: UFLA; 2000.
- Hoffmann CEF, Neves LAD, Bastos CF, Wallau GL. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. Rev Ciênc Agrovet. 2007;6(1):11-21.
- Kuo YL, Chou CH, Hu TW. Allelopathic potencial of *Leucaena leucocephala*. Leucaena Res Rep. 1982;3:65-70.
- Lichtenthaler HK. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method Enzymol. 1987;148:331-82.
- Lima CP, Cunico MM, Trevisan RR, Philippsen AF, Miguel OG, Miguel MD. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. Acta Bot Bras. 2011;25(2):331-6.
- Macias FA, Castellano D, Molinillo JMG. Search for a standart phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. J Sci Food Agric. 2000;6:2512-21.

Magiero EC, Assmann JM, Marchese JA, Capelin D, Paladini MV, Trezzi MM. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). Rev Bras Plantas Med. 2009;11:317-24.

Manoel DD, Doiche CFR, Ferrari TB, Ferreira G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e pata-devaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. Semina: Ciências Agrárias. 2009;1:63-70.

Maraschin-Silva F, Aquila MEA. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. Rev Árvore . 2006;4:547-55.

Rice EL. Allelopathy. 2nd. ed. New York: Academic Press; 1984.

Rizvi SJH, Haque H, Singh UK, Rizvi V. A discipline called allelopathy. In: Rizvi SJH, Rizvi H. (Eds.) Allelopathy: Basic and applied aspects. London: Chapman & Hall; 1992. p. 1-10.

Steponkus PL, Lanphear FO. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. Plant Physiol. 1967;10:1423-6.

Tokura LK, Nóbrega LHP. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. Acta Sci Agron. 2006;28:379-84.

Zhou YH, Yu JQ. Allelochemicals and photosynthesis. In: Reigosa MJ, Pedrol N, González L (Eds.). Allelopathy: A physiological process with ecological implications, Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2006. p.127-39.

Recebido em 27 de maio de 2012

Aceito para publicação em 31 de julho de 2013