



ARTIGO

Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface

Luciene de Oliveira Ribeiro^{1*}, Sandro Barbosa², Flávia Pereira Balieiro³, Luiz Alberto Beijo⁴, Breno Régis Santos², Cibele Marli Cação Paiva Gouvea² e Luciano Vilela Paiva⁵

Recebido: 02 de fevereiro de 2012 Recebido após revisão: 03 de maio de 2012 Aceito: 08 de maio de 2012
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2139>

RESUMO: (Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface). O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação fitotóxica de extratos foliares de barbatimão em bioensaio com alface. Foram obtidos extrato aquoso, acetônico e fração aquosa de folhas de barbatimão. Para compor o bioensaio foram utilizados os parâmetros: germinabilidade (G%), índice de velocidade de germinação e índice mitótico. Sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) foram expostas às concentrações de 5, 10, 25 e 50 mg mL⁻¹ dos extratos e água destilada foi utilizada como controle. Todos os extratos reduziram a G (%), atrasaram a germinação e afetaram a divisão celular. Os extratos aquoso e acetônico inibiram a germinação já nas menores concentrações, o que não foi constatado para a fração aquosa. Embora ocorresse a protrusão radicular, em 70% das sementes germinadas, em média, a região meristemática da raiz mostrava-se oxidada e, após 72 horas, não mais cresciam, devido a degradação de seus tecidos, indicando ação fitotóxica dos extratos. Os resultados obtidos apontam para a presença de substâncias químicas inibidoras nos extratos, revelando potencial alelopático para os extratos avaliados.

Palavras-chave: alelopatia, germinação, índice mitótico.

ABSTRACT: (Phytotoxicity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville leaf extracts in lettuce bioassay). Chemical substances can modulate the growth and development of adjacent plants, phenomenon known as allelopathy. The aim of this work was to evaluate the phytotoxic action of *barbatimão* leaf extracts in lettuce bioassay. We obtained the aqueous, acetonic and water fraction extract of *barbatimão* leaves. To develop the bioassay parameters were used: germinability (G%), germination speed index and mitotic index were studied. Seeds of lettuce (*Lactuca sativa* L.) were exposed to concentrations of 5, 10, 25 and 50 mg mL⁻¹ of the extract and distilled water was used as control. All extracts reduced the G(%), delayed germination and affected cell division. The aqueous and acetone extracts inhibited germination even at lower concentrations, which was not observed for the aqueous fraction. Although the root protrusion occurred in 70% of the seeds, on average, meristematic root region proved to be oxidized and, after 72 hours, no longer increased, due to degradation of its tissues, indicating phytotoxic action of the extracts. The results obtained indicate the presence of chemical inhibitors in the extracts, indicating an allelopathic potential of the extracts evaluated.

Key words: Allelopathy, germination, mitotic index.

INTRODUÇÃO

Metabólitos de plantas podem ser liberados no ambiente por exsudação radicular, lixiviação, volatilização ou decomposição, influenciando de forma favorável ou desfavorável o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas, fenômeno este denominado alelopatia (Rice 1984). Os compostos químicos que possuem atividade alelopática são, de modo geral, produtos do metabolismo secundário das plantas, chamados aleloquímicos, substâncias alelopáticas ou fitotoxinas (Einhellig 1996, Belz 2007). Gatti *et al.* (2004) sugeriram que os metabólitos secundários tenham função defensiva contra herbivoria, atrativos para polinizadores e ação alelopática.

A alelopatia propõe uma área de pesquisa de grande importância, a qual permite buscar substâncias de origem vegetal, com atividade herbicida. Substâncias químicas com atividade alelopática podem ser utilizadas diretamente na formulação de herbicidas naturais ou ser modificadas a fim de aumentar sua atividade biológica como, por exemplo, interferência nos processos de germinação de sementes e crescimento de plântulas (Souza Filho & Alves 2002, Souza Filho *et al.* 2006, Belz 2007, Dousseau *et al.* 2008). Nesse contexto, os aleloquímicos podem representar novas e excelentes oportunidades para diversificar o controle de ervas daninhas na agricultura, uma vez que podem ser utilizados como substâncias de controle biológico, permitindo

1. Doutoranda em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.
2. Professor Adjunto do Instituto de Ciências da Natureza da Universidade Federal de Alfenas. Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, CEP: 37130-000, Alfenas, MG, Brasil.
3. Mestranda em Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras. Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.
4. Professor Adjunto do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Alfenas. Rua Gabriel Monteiro da Silva 700, Centro, CEP 37130-000, Alfenas, MG, Brasil.
5. Professor Adjunto do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

* Autor para contato: ludeoliveira_1@yahoo.com.br

reduzir ou eliminar a contaminação do ambiente, preservando os recursos naturais e garantindo a produção de produtos agrícolas de alta qualidade, desprovidos de resíduos de agentes contaminantes (Souza Filho *et al.* 2006, Cândido *et al.* 2010b).

Inúmeras plantas exercem efeito inibitório sobre o crescimento de outras pela liberação de aleloquímicos (Belz 2007), entre elas várias espécies da família Fabaceae, como *Peltophorum dubium*, *Trigonella foenum-graecum*, *Lonchocarpus muehlbergianus*, *Erythrina velutina*, *Senna occidentalis* (Maraschin-Silva & Aquila 2006, Evidente *et al.* 2007, Oliveira *et al.* 2008, Centenaro *et al.* 2009, Cândido *et al.* 2010a). Os compostos alelopáticos identificados pertencem a várias classes como terpenos, alcalóides, compostos fenólicos, esteróides, ácidos graxos de cadeia longa e lactonas insaturadas (Malheiros & Peres 2001).

A espécie *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville é uma planta da família Fabaceae, conhecida como barbatimão, típica do cerrado brasileiro e tem distribuição geográfica ampla, com altas densidades em várias localidades do Brasil, incluindo Minas Gerais. Ela ocorre em formações de cerrado primário e secundário e é bastante utilizada na medicina popular (Borges Filho & Felfili 2003). A casca do caule e as folhas desta planta contêm quantidades consideráveis de taninos, flavonóides, proantocianidinas e prorobinetinidinas (Mello *et al.* 1996a, b).

O conhecimento da ação alelopática de espécies nativas ainda é incipiente no Brasil, considerando-se a extensão territorial e a diversidade florística (May *et al.* 2011). Em vista disto, faz-se necessária a ampliação deste conhecimento. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de extratos de folha de *Stryphnodendron adstringens* sobre *Lactuca sativa* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos extratos

Folhas completamente expandidas de uma população de barbatimão foram coletadas no município de Alfenas, Minas Gerais. A cidade de Alfenas está situada a 21° 25' 44"S e 45° 56' 49"W, em altitude média de 768 m. As folhas foram secas em estufa a 30°C até massa constante e trituradas. O extrato aquoso bruto de folhas secas a 20% (m/v) foi preparado por infusão em água destilada a 90 °C por 30min. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o infuso foi filtrado e liofilizado. O extrato acetônico bruto a 10% (m/v) foi obtido por maceração estática das folhas trituradas em acetona/água (7:3) durante cinco dias a temperatura ambiente. A seguir, o macerado foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório a 50°C sob pressão de 400mmHg. Metade do volume deste extrato foi liofilizado e a outra metade foi submetida a partição líquido-líquido com acetato de etila (1:1; v/v). As fases obtidas foram separadas com o

auxílio de funil de decantação. Este procedimento foi repetido até que a fase de acetato de etila recuperada se apresentasse completamente translúcida. A fração aquosa remanescente foi liofilizada. Os extratos liofilizados foram mantidos a -20°C até o momento do uso, quando foram preparadas soluções estoque (200mg mL⁻¹) de cada extrato em água destilada. Foram efetuadas diluições das soluções estoque dos extratos foliares de barbatimão, obtendo-se as concentrações de 5, 10, 25 e 50mg mL⁻¹ para cada extrato.

Caracterização parcial dos extratos

Foram preparadas três repetições de cada extrato foliar de barbatimão para os quais foi determinado o teor de fenólicos totais (Woisk & Salatino 1998), usando o reagente de Folin-Ciocalteu e a catequina como padrão, os flavonóides totais (Park *et al.* 1997), utilizando-se quercetina como padrão e o conteúdo de proantocianidinas (Rösch *et al.* 2003), sendo o cloreto de cianidina utilizado como padrão.

Bioensaio de germinação

Os biotestes foram feitos com aquênios do mesmo lote de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Crespa Mônica^(FELTRIN), adquiridas no comércio local, uma vez que testes preliminares mostraram que este material apresentou melhor resposta para os parâmetros de germinação e índice mitótico, além de apresentar resistência a ampla faixa de pH e potencial osmótico. Os testes de germinação foram feitos de acordo com Formagio *et al.* (2010) com adaptações, utilizando 3 repetições com 30 sementes em cada distribuídas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com papel filtro Whatman N°2 e umedecidas com 3mL de solução nas diferentes concentrações de cada extrato. Foram utilizados 3mL de água destilada no grupo controle. Os bioensaios foram conduzidos em câmara de germinação tipo BOD, a 20°C, sob luz constante. Foram realizadas observações a cada 6 horas, anotando-se o número de sementes germinadas em cada tratamento para o cálculo da germinabilidade (G%) e do índice de velocidade de germinação (IVG), conforme proposto por Maguire (1962). As sementes consideradas germinadas (com protrusão de aproximadamente 2mm da radícula) foram coletadas, fixadas em Carnoy (etanol e ácido acético, 3:1) e armazenadas a 4°C para posterior confecção das preparações citológicas e análise do índice mitótico (IM).

Determinação do índice mitótico (IM)

As preparações citológicas foram adaptadas de Guerra & Souza (2002) e Barbosa *et al.* (2003). As radículas foram mergulhadas em água destilada por 5 minutos e transferidas para solução de HCl 5M. As lâminas foram confeccionadas utilizando-se a técnica de esmagamento e a coloração com reativo de Schiff. As preparações foram avaliadas observando-se as células em interfase e etapas da mitose com auxílio de microscópio de campo

claro. Foram analisadas 1000 células por tratamento e o índice mitótico foi obtido dividindo-se o número de células em mitose pelo número total de células observado e multiplicando-se por 100, conforme proposto por Andrade *et al.* (2008).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento empregado foi em blocos casualizados com 3 repetições, sendo que cada repetição configurou um bloco, em esquema 3x5 sendo os fatores extratos e concentrações. Os dados foram submetidos primeiramente às pressuposições da análise de variância, quando foi verificada a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro Wilk e homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett, ambos ao nível de 5% de probabilidade. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância e a comparação dos contrastes entre médias dos tratamentos foi feita utilizando-se o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre extratos, concentrações e interação extratos x concentrações. Os extratos aquoso e acetônico não diferiram estatisticamente para germinabilidade, índice de velocidade de germinação e índice mitótico inibindo mais a germinação e a proliferação celular de sementes de alface que a fração aquosa (Tab. 1).

Os extratos aquoso e acetônico apresentaram maior fitotoxicidade que a fração aquosa tendo em vista a maior inibição desses extratos sobre a germinação e IM em relação ao controle. Esse fato se deve, provavelmente, à composição dos extratos, pois o aquoso e o acetônico apresentaram teores significativamente maiores de fenólicos totais e flavonóides do que a fração aquosa. Entretanto, este último apresentou maior teor de proan-

Tabela 1. Efeito dos extratos foliares de barbatimão (média considerando as concentrações 5, 10, 25 e 50 mg mL⁻¹) sobre a germinabilidade (G%), o índice de velocidade de germinação (IVG) e índice mitótico (IM) de alface.

Extratos	G (%)	IVG	IM
Controle	97,04 a	6,02 a	10,68 a
Aquoso	63,11 c	2,96 c	5,31 c
Acetônico	57,55 c	2,77 c	5,16 c
Fração aquosa	81,33 b	4,36 b	7,62 b

Médias com letras distintas na coluna diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

tocianidinas (Fig. 1), corroborando com os resultados encontrados por Santos Filho *et al.* (2011).

De acordo com Nasir *et al.* (2005) os flavonóides são importantes aleloquímicos de *Robinia pseudo-acacia* L. e Maraschin-Silva & Aquila (2006) evidenciaram a presença de saponinas, flavonóides e taninos como aleloquímicos presentes em *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. Os extratos foliares destas plantas inibiram a germinação de alface, efeito semelhante ao observado no presente trabalho. Basile *et al.* (2003) relata que um dos principais efeitos dos flavonóides relaciona-se a permeabilidade das membranas influenciando a turgidez das células da radícula afetando a germinação.

O aumento da concentração dos extratos reduziu a germinabilidade com inibição total desta na concentração 50mg mL⁻¹ para os extratos aquoso e acetônico, o que não foi observado para a fração aquosa (Fig. 2). Efeito semelhante foi encontrado por Souza *et al.* (2005) trabalhando com *Mikania glomerata* Spreng., *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., *Bauhinia candicans* Benth., *Casearia sylvestris* Sw., *Luehea divaricata* (Mart.) et. Zucc., *Lippia alba* (Mill.).

Muitas vezes o efeito alelopático não é detectado sobre a germinabilidade (percentual final de germinação no tempo), mas pode ser constatado em outro parâmetro

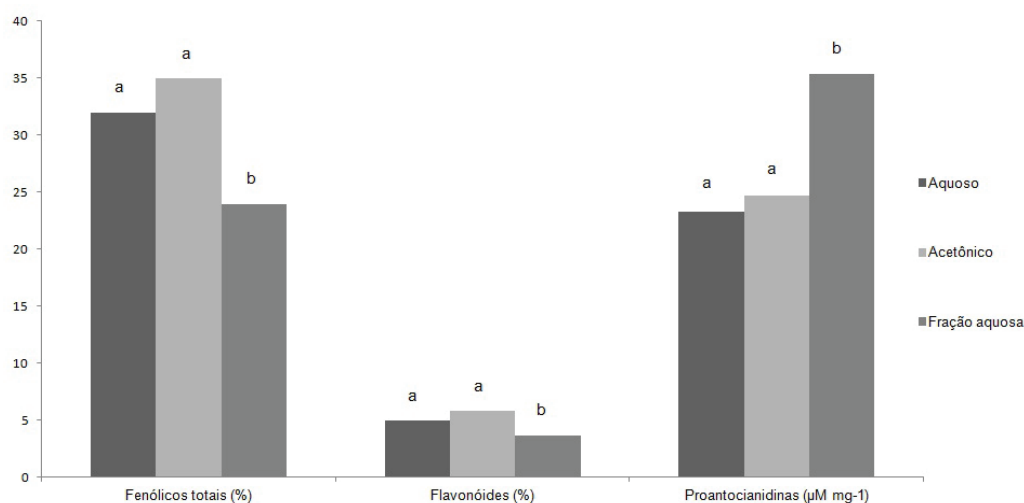


Figura 1. Conteúdo de fenólicos totais, flavonóides e proantocianidinas em extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. Médias com letras distintas nas colunas diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste Scott-Knott.

do processo germinativo (Ferreira & Borghetti 2004) como o índice de velocidade de germinação. Isso pode ser visto comparando-se os resultados para a variável G (%), nas concentrações 5 e 10 mg mL⁻¹ para todos os extratos, pois não houve diferença significativa, porém o IVG foi uma variável mais sensível para detectar essas diferenças (Fig. 3). O IVG permite avaliar o efeito de compostos em baixas concentrações que não são suficientes para inibir a germinação, mas podem retardar ou inibir completamente o prolongamento da raiz (Rodríguez 2004). A redução desse parâmetro indica perda de sincronia nas reações metabólicas da germinação, demonstrando heterogeneidade na fisiologia das sementes tratadas com os extratos foliares de barbatimão.

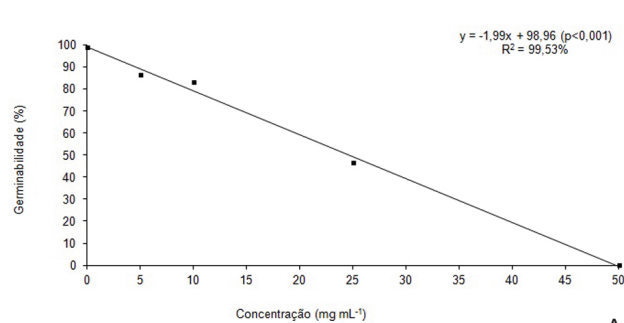
O aumento da concentração dos extratos promoveu redução do índice de velocidade de germinação. Efeitos semelhantes foram observados por Maraschin-Silva & Aqüila (2006) e Borella *et al.* (2011) para os extratos foliares de *Peltophorum dubium* e *Schinus molle* L., res-

pectivamente, que retardaram o tempo de germinação das plantas-alvo utilizadas nos bioensaios.

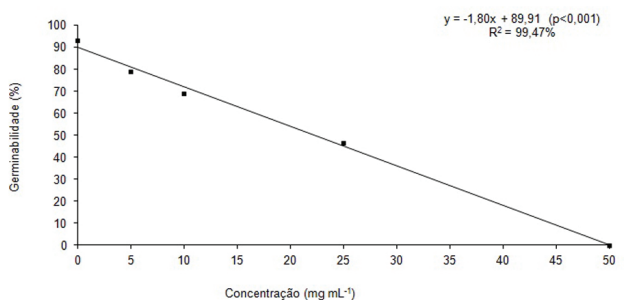
O efeito visível dos aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de efeitos ocorridos inicialmente a nível molecular e celular (Ferreira & Aqüila 2000). A alteração na curva de germinação, bem como nos índices de germinação por aleloquímicos indicam interferências nas reações metabólicas que culminam na germinação (França *et al.* 2008).

Contudo, grande parte dos estudos em alelopatia refere-se apenas ao efeito dos compostos secundários sobre a germinação e o crescimento da planta teste, sem considerar os eventos celulares relacionados às mudanças fisiológicas e genéticas (Iganci *et al.* 2006).

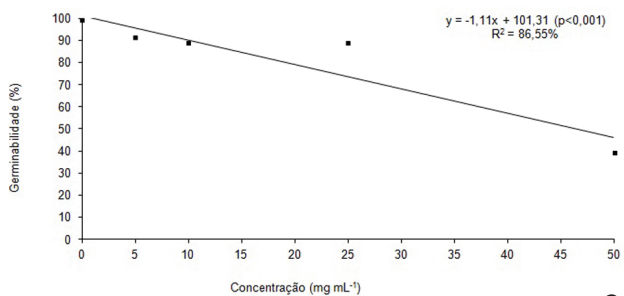
Os aleloquímicos podem apresentar mecanismos de ação diretos ou indiretos sobre a planta alvo. Os efeitos indiretos incluem alterações nas propriedades do solo e/ou atividades de organismos, tais como microrganis-



A

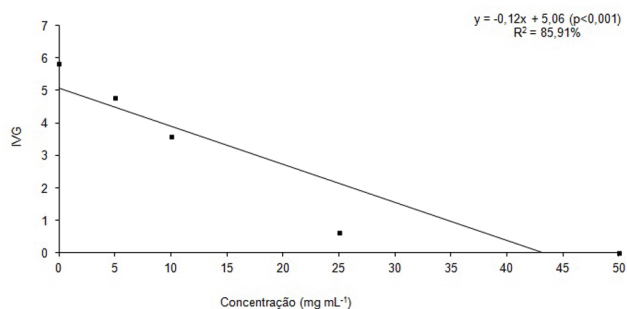


B

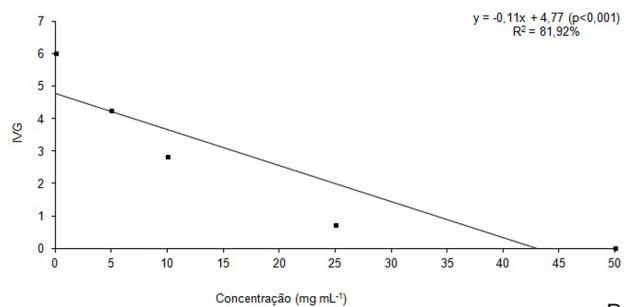


C

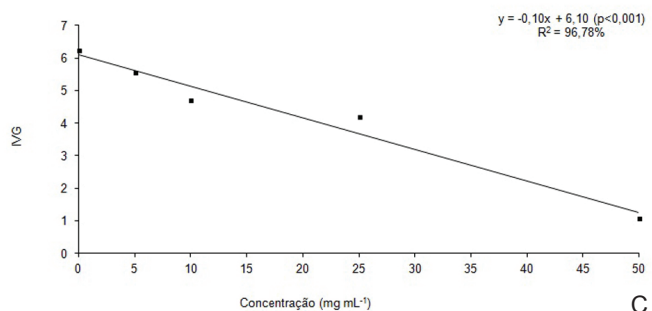
Figura 2. Influência dos extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em diferentes concentrações na germinação de sementes de alface. A. Extrato Aquoso. B. Extrato Acetônico. C. Fração Aquosa.



A



B



C

Figura 3. Influência dos extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em diferentes concentrações no índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface. A. Extrato Aquoso. B. Extrato Acetônico. C. Fração Aquosa.

mos, nematódeos e insetos. Já os efeitos diretos incluem alterações no metabolismo vegetal, podendo afetar a estrutura e ultra-estrutura celular, concentração e balanço hormonal, permeabilidade das membranas, movimento dos estômatos, síntese de pigmentos e proteínas, atividade enzimática, relações hídricas, danos ao DNA e RNA, entre outras (Basile *et al.* 2003, Gniazdowska & Bogatek 2005).

Portanto, a análise do índice mitótico configura-se como parâmetro expressivo do efeito citotóxico de metabólitos secundários, pois revela alterações na proliferação celular (Charoenyinga *et al.* 2010, Rodríguez 2004). No presente trabalho, houve redução no índice de divisão celular (IM) de radículas de plântulas de alface com o aumento da concentração dos extratos de barbatimão (Fig. 4). Charoenyinga *et al.* (2010) observaram que a fração aquosa de frutos de *Zanthoxylum*

limonella Alston, rica em compostos fenólicos como a xantoxilina, reduziu o índice mitótico em células de cebola. O efeito desse extrato foi dependente da concentração, sendo que o aumento da concentração de xantoxilinas promoveu redução no índice mitótico, semelhante ao observado no presente trabalho em todas as concentrações testadas nos três extratos.

Os resultados das variáveis germinabilidade, índice de velocidade de germinação e índice mitótico permitem inferir que a fração aquosa de folhas de barbatimão apresenta em sua composição constituintes que têm menor interferência nos processos fisiológicos da germinação e divisão celular de alface, uma vez que foram necessárias concentrações maiores de fração aquosa para obtenção de efeitos semelhantes com os extratos aquoso e acetônico. Resultado interessante, pois indica que não é necessário o fracionamento do extrato bruto de barbatimão, para obtenção de efeito alelopático.

Os extratos de folhas de barbatimão também induziram anomalias morfológicas nas raízes. A partir de 72 horas de exposição aos diferentes tratamentos, 70% das radículas das plântulas de alface, em média, apresentaram oxidação e necrose. Observou-se neste caso que embora ocorresse a protrusão da raiz, o ápice radicular mostrava-se totalmente escurecido e, com o passar do tempo, as raízes não mais cresciam, ocorrendo a degradação de seus tecidos, indicando ação fitotóxica, de acordo com Periotto *et al.* (2004). A presença de anormalidade em raízes parece ser um bom parâmetro para registro de fitotoxicidade, sendo a necrose dos tecidos radiculares um sintoma comumente observado (Pires & Oliveira 2001, Rabêlo *et al.* 2008).

CONCLUSÃO

Os extratos aquoso, acetônico e fração aquosa de folhas de barbatimão possuem substâncias como compostos fenólicos e flavonóides com efeitos inibitórios sobre os processos de germinação e proliferação celular de alface indicando efeito alelopático. O efeito foi dependente da concentração e os extratos aquoso e acetônico mostraram maior potencial alelopático, o que provavelmente deve-se à composição química dos mesmos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela concessão de bolsa a Luciene de Oliveira Ribeiro, e à FAPEMIG, pelo suporte financeiro

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L. F., CAMPOS, J. M. S. & DAVIDE, L. C. 2008. Cytogenetic alterations induced by SPL (spent potliners) in meristematic cells of plant bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 706-710.
- BARBOSA, S., DAVIDE, L. C. & PEREIRA, A. V. 2003. Cytogenetics of *Pennisetum purpureum* Schumck x *Pennisetum glaucum* L. hybrids and their parents. *Ciência e Agrotecnologia*, 27(1): 26-35.
- BASILE, A., SORBO, S., LÓPEZ-SÁEZ, J. A. & COBIANCHIA, C. 2003. Effects of seven pure flavonoids from mosses on germination and

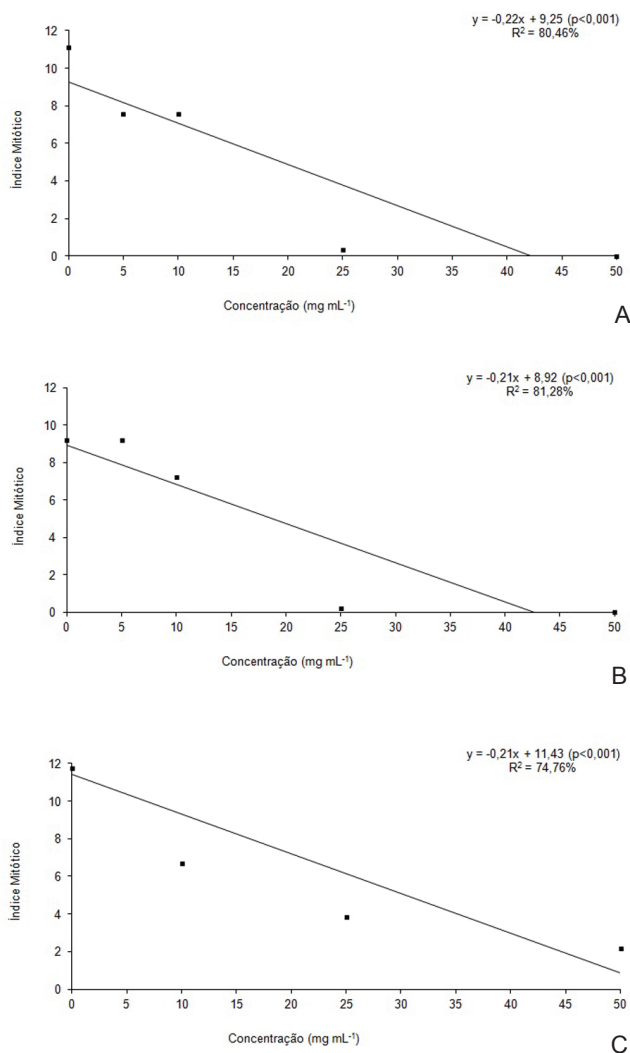


Figura 4. Influência dos extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em diferentes concentrações no índice mitótico (IM) de células de raiz de alface. A. Extrato Aquoso. B. Extrato Acetônico. C. Fração Aquosa.

- growth of *Tortula muralis* HEDW. (Bryophyta) and *Raphanus sativus* L. (Magnoliophyta). *Phytochemistry*, 62: 1145–1151.
- BELZ, R. G. Allelopathy in crop/weed interactions – an update. 2007. *Pest Management Science*, 63(4): 308–326.
- BORELLA, J., MARTINAZZO, E. G. & AUMONDE, T. Z. 2011. Atividade alelopática de extratos de folhas de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. *Revista Brasileira de Biociências*, 9(3): 398–404.
- BORGES FILHO, H. & FELFILI, J. M. 2003. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca de Barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. *Revista Árvore*, 27(5): 735–745.
- CÂNDIDO, A. C. S., SCHMIDT, V., LAURA, V. A., FACCENDA, O., HESS, S. C., SIMIONATTO, E. & PERES, M. T. L. P. 2010a. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. *Acta Botânica Brasileira*, 24(1): 235–242.
- CÂNDIDO, A. C. S., DIAS, A. C. R., SERRA, A. P., CHRISTOFFOLETI, J., SCALON, S. P. Q. & PEREIRA, M. T. L. 2010b. Potencial alelopático de lixiviados das folhas de plantas invasoras pelo método san-diuche. *Revista Brasileira de Biociências*, 8(3): 268–272.
- CHAROENYINGA, TEERARAKB, M. & LAOSINWATTANAB, C. 2010. An allelopathic substance isolated from *Zanthoxylum limonella* Alston fruit. *Scientia Horticulturae*, 125: 411–416.
- CENTENARO, C., CORRÊA, L. G. P., KARAS, M. J., VIRTUOSO, S., DIAS, J. E. G., MIGUEL, O. G. & MIGUEL, M. D. 2009. Contribuição ao estudo alelopático de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1b):304–308.
- DOUSSEAU, S., ALVARENGA, A. A., ARANTES, L. O., OLIVEIRA, D. M. & NERY, F. C. 2008. Germinação de sementes de Tanchagem (*Plantago tomentosa* Lam.): influência da temperatura, luz e substrato. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(2): 438–443.
- EINHELLIG, F. A. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal*, 88(5): 886–893.
- EVIDENTE A., FERNÁNDEZ-APARICIO M., ANDOLFI A., RUBIALES D. & MOTTA A. 2007. Trigoxazonane, a monosubstituted trioxazonane from *Trigonella foenum-graecum* root exudate, inhibits *Orobanche crenata* seed germination. *Phytochemistry*, 68(19): 2487–2492.
- FERREIRA, A. G. & BORGUETTI, F. 2004. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed. 323 p.
- FERREIRA, A. G. & AÇILIA, M. E. A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 12: 175–204.
- FORMAGIO, A. S. N., MASETTO, T. E., BALDIVIA, D. S., VIEIRA, M. C., ZÁRATE, N. A. H. & PEREIRA, Z. V. 2010. Potencial alelopático de cinco espécies da família Annonaceae. *Revista Brasileira de Biociências*, 8(4): 349–354.
- FRANÇA, A. C., SOUZA, I. F., SANTOS, C. C., OLIVEIRA, E. Q. & MARTINOTTO, C. 2008. Atividades alelopáticas de Nim sobre o crescimento de Sorgo, Alface e Picão-preto. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(5): 1374–1379.
- GATTI, A. B., PEREZ, S. C. J. G. A. & LIMA, M. I. S. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esparanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* e *Raphanus sativus* L. *Acta Botânica Brasileira*, 18(3): 459–472.
- GNAZDOWSKA, A. & BOGATEK, R. 2005. Allelopathic interactions between plants. Multisite action of allelochemicals. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27: 395–407.
- GUERRA, M. & SOUZA, M. J. 2002. *Como Observar Cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana*. São Paulo: Funpec. 131 p.
- IGANCI, J. R. V., BOBROWSKI, V. L., HEIDEN, G., STEIN, V. C. & ROCHA, B. H. G. 2006. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. *Arquivos do Instituto Biológico*, 73: 79–82.
- MAGUIRE, J. D. 1962. Speed of germination in selecting and evaluating for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 1(1): 176–177.
- MALHEIROS, A. & PERES, M. T. L. P. 2001. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos. p. 503–523.
- MARASCHIN-SILVA, F. & AÇILIA, M. E. A. 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Botânica Brasileira*, 20(1): 61–69.
- MAY, D., RIBAS DE OLIVEIRA, C., ROCHA, L. & MARANHO, L. 2011. Efeito de extratos de casca de café (*Coffea arabica* L.) na germinação e crescimento de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista Brasileira de Biociências*, 9(2): 180–186.
- MELLO, J. C. P., PETEREIT F. & NAHRSTEDT, A. 1996a. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, 41(3): 807–813.
- MELLO, J. C. P., PETEREIT F. & NAHRSTEDT, A. 1996b. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, 42(3): 857–862.
- NASIR, H., IQBAL, Z., HIRADATE, S. & FUJII, Y. 2005. Allelopathic potential of *Robinia pseudo-acacia* L. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9): 2179–2192.
- OLIVEIRA, D. C., SOARES, G. L. G. & ISAIAS, R. M. S. 2008. Phytotoxicity of the extracts of *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) leaflets and galls on seed germination and early development of Lettuce. *Acta Botânica Brasileira*, 22(4): 1095–1100.
- PARK, Y. K., KOO, M. H., IKEGAKI, M. & CONTADO, J. L. 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 40(1): 97–106.
- PERIOTTO, F., PEREZ, S. C. J. G. A. & LIMA, M. I. S. 2004. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botânica Brasileira*, 18(3): 425–430.
- PIRES, N. M. & OLIVEIRA, V.R. 2001. *Alelopatia*. In: OLIVEIRA JR., R.S. & CONSTANTIN, J. (Coord.). *Plantas daninhas e seu manejo*. Guaíba: Ed. Agropecuária. p. 145–185.
- RABÊLO, G. O., FERREIRA, A. L. S., YAMAGUSHI, M. Q. & VESTENA, S. 2008. Potencial alelopático de *Bidens pilosa* L. na germinação e no desenvolvimento de espécies cultivadas. *Revista Científica da Faminas*, 4(1): 33–43.
- RICE, E. L. 1984. *Allelopathy*. 2 ed. New York: Academic Press. 423 p.
- RODRIGUÉZ, M. T. T. 2003. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. *Rev. Cubana Hig. Epidemiol.*, 41(3): 2–3. Disponível em: <http://bvs.sld.cu/revistas/hie/vol41_2-3_03/hie092-3203.htm>. Acesso em: 20 abril. 2012.
- RÖSCH, D., BERGMANN, M., KNORR, D. & KROH, L. W. 2003. Structure-antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15): 4233–4239.
- SANTOS FILHO, R., FERREIRA, L. A. & GOUVÊA, C. M. C. P. 2011. Protective action against chemical-induced genotoxicity and free radical scavenging activities of *Stryphnodendron adstringens* (“barbatimão”) leaf extracts. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(6): 1000–1005.
- SOUZA, S. A. M., CATTELAN, L. V., VARGAS, D. P., PIANA, L. F. B., BOBROWSKI, V. L. & ROCHA, B. H. G. 2005. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul sobre a germinação de sementes de alface. *Publicatio UEPG Ciências Biológica e da Saúde*, 11(3): 29–38.
- SOUZA FILHO, A. P. S. BORGES, F. C. & SANTOS, L. S. 2006. Análise comparativa dos efeitos alelopáticos das substâncias químicas titionina e titionina acetilada. *Planta Daninha*, 24(2): 205–210.
- SOUZA FILHO, A. P. S., ALVES, S. M. 2002. *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 260 p.
- WOISK, R. G. & SALATINO, A. 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37(3): 99–105.