

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# ATIVIDADE FITOTÓXICA DE CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE *Blepharocalyx salicifolius* (MYRTACEAE) SOBRE ESPÉCIES INFESTANTES

## Actividad fitotóxica de las cortezas del tallo y hojas de *Blepharocalyx salicifolius* (Myrtaceae) sobre especies invasoras

## Phytotoxic Activity of Stem Bark and Leaves of *Blepharocalyx salicifolius* (Myrtaceae) on Weeds

Eduardo HABERMANN<sup>1</sup>, Maristela IMATOMI<sup>1</sup>, Viviane De Cassia PEREIRA<sup>1</sup>, Flávia Cevithereza PONTES<sup>1</sup>, Sonia Cristina Juliano GUALTIERI<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Botânica, Universidade Federal de São Carlos. Rodovia Washington Luís, Km 235, São Carlos, Brasil.

*For correspondence.* [eduardohabermann@gmail.com](mailto:eduardohabermann@gmail.com)

Received 24th April 2014, Returned for revision 2nd June 2014, accepted 2nd July 2014.

**Citation/Citar este artículo como:** Habermann E, Imatomi M, Pereira VC, Cevithereza Pontes F, Gualtieri SCJ. Atividade fitotóxica de cascas do caule e folhas de *Blepharocalyx salicifolius* (Myrtaceae) sobre espécies infestantes. Acta biol. Colomb. 2015;20(1):153-162. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n1.42756>

### RESUMO

No presente estudo foi avaliada a fitotoxicidade de extratos e frações de cascas do caule (súber) e folhas maduras de *Blepharocalyx salicifolius* Kuth O. Berg sobre o crescimento inicial de *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv. (capim-arroz) e *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo). Os extratos foram obtidos por meio de extração exaustiva e fracionamento por coeficiente de partição com solventes orgânicos. Posteriormente, os extratos acetato etílicos de cascas e folhas maduras e o extrato hexânico de cascas foram fracionados por cromatografia em coluna com a utilização de solventes em ordem crescente de polaridade. Os extratos e as frações foram testados sobre as espécies infestantes nas concentrações de 0,2, 0,4 e 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>, como controle positivo foi utilizado o herbicida comercial Sanson® nas mesmas concentrações descritas e como controle negativo água destilada com DMSO (5 uL/mL). Os extratos acetato etílicos de cascas e folhas maduras, assim como o extrato hexânico de cascas apresentaram efeitos pronunciados de inibição sobre o crescimento das espécies-alvo. Das oito frações acetato etílicas de folhas, seis inibiram o crescimento das raízes de capim-arroz e quatro inibiram o crescimento das raízes e parte aérea de amendoim-bravo em todas as concentrações testadas. Das seis frações acetato etílicas de cascas, quatro apresentaram fitotoxicidade sobre o crescimento das raízes de capim-arroz em todas as concentrações. Os extratos e frações de cascas e folhas maduras levaram ao surgimento de anomalias nas espécies-alvo. Estes resultados evidenciaram o acentuado efeito fitotóxico dos extratos e frações de cascas e folhas maduras e seu potencial uso como herbicida natural.

**Palavras-chave:** amendoim-bravo, capim-arroz, crescimento, fitotoxicidade, Myrtaceae.

### RESUMEN

En este estudio se evaluó la fitotoxicidad de los extractos y fracciones de las cortezas del tallo (suber) y de las hojas maduras de *Blepharocalyx salicifolius* Kuth O. Berg sobre el crecimiento inicial de *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv. (capim-arroz) y *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo). Estos extractos fueron obtenidos por extracción exhaustiva y fraccionamiento por coeficiente de partición con disolventes orgánicos. Posteriormente los extractos de acetato de etilo de las hojas y de la corteza del tallo (suber) fueron fraccionados por cromatografía de columna con disolventes de polaridad creciente. Tanto los extractos como las fracciones se ensayaron sobre las plantas diana en concentraciones de 0,2, 0,4 y 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>, como control positivo se utilizó el herbicida comercial Sanson® disuelto en las mismas condiciones y como control negativo agua destilada con DMSO (5uL/mL). Los extractos

de acetato de etilo de hojas maduras y corteza así como el extracto de hexano de la corteza mostraron los efectos inhibitorios más pronunciados sobre el crecimiento de las especies diana. De las ocho fracciones del extracto de acetato de etilo de hojas, seis inhibieron el crecimiento de las raíces de capim-arroz y cuatro fracciones inhibieron el crecimiento de las raíces y de la parte aérea de amendoim-bravo en todas las concentraciones ensayadas. De las seis fracciones del extracto de acetato de etilo de corteza, cuatro fueron fitotóxicos sobre el crecimiento de la raíz de capim-arroz en todas las concentraciones. Los extractos y fracciones de la corteza y de las hojas maduras provocaron anomalías en las especies diana. Estos resultados demostraron un efecto fitotóxico pronunciado de los extractos y fracciones de corteza y hojas maduras y su potencial uso como herbicidas naturales.

**Palabras clave:** crecimiento, fitotoxicidad, Myrtaceae, pata de gallo, poinsettia salvaje.

## ABSTRACT

In this study, the phytotoxicity of extracts and fractions of stem bark (suber) and mature leaves of *Blepharocalyx salicifolius* Kuth O. Berg was evaluated on the initial growth of *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv. (barnyardgrass) and *Euphorbia heterophylla* L. (wild poinsettia). The extracts were obtained by exhaustive extraction and fractionation by the partition coefficient with organic solvents. Subsequently, the ethyl acetate extracts of bark and mature leaves and the hexane extract of bark were fractionated by column chromatography with solvents in increasing order of polarity. The extracts and fractions were evaluated on weed species at concentrations of 0,2, 0,4 and 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>. The positive control used was the commercial herbicide Sanson® at the same concentrations described and the negative control used was distilled water with DMSO (5 uL/mL). The ethyl acetate extracts of bark and mature leaves and hexane extract of bark showed the most pronounced inhibitory effects on the growth of the target species. Among the eight ethylic acetate leaf's fractions, six inhibited the root growth of barnyardgrass at all concentrations tested and four fractions inhibited the root and shoot growth of wild poinsettia, at all concentrations tested. Of the six ethylic acetate bark's fractions, four showed phytotoxicity on root growth of barnyardgrass at all concentrations. The extracts and fractions of bark and mature leaves have given rise to anomalies in the target species. The results demonstrated a pronounced phytotoxic effect of the extracts and fractions of bark and mature leaves, providing subsidies for their use as natural herbicides.

**Keywords:** barnyardgrass, Myrtaceae, phytotoxicity, seedling growth, wild poinsettia.

## INTRODUÇÃO

Na natureza as plantas estão expostas a condições bióticas e abióticas que exercem forças seletivas ao longo do processo evolutivo. Esses eventos levaram ao surgimento de vias biossintéticas de produção de compostos secundários, responsáveis por exercerem importantes funções nas complexas interações ecológicas entre indivíduos (Cipollini *et al.*, 2012). Ao serem liberados no ambiente, esses metabólitos podem interferir na conservação, germinação e dormência de sementes, assim como no crescimento e vigor de plantas (Wandscheer e Pastorini, 2008). Essas substâncias são chamadas de aleloquímicos e são responsáveis pelo fenômeno denominado alelopatia (Rice, 1984).

Os aleloquímicos são encontrados em diferentes partes da planta incluindo folhas, flores, raízes, colmos, frutos, cascas, sementes e grãos de pólen (Souza Filho *et al.*, 2011). Esses metabólitos secundários podem ser liberados diretamente no ambiente por meio da exsudação radicular, volatilização, lixiviação ou decomposição do material vegetal (Moreno, 1989; Cipollini *et al.*, 2012). O uso excessivo de herbicidas na agricultura moderna tem aumentado a preocupação com os resíduos gerados e o rápido desenvolvimento de resistência de espécies infestantes. Os aleloquímicos representam uma fonte de compostos bioativos que podem ser utilizados no manejo de plantas invasoras, como pesticidas e herbicidas (Mourão Júnior e Souza Filho, 2010). Além disso a maioria destas substâncias exibe sua bioatividade em concentrações baixas, entre 10<sup>-5</sup> –

10<sup>-6</sup> M ou extremamente baixas como 10<sup>-10</sup> M (Macías *et al.*, 2001), o que torna estes compostos vantajosos em relação aos herbicidas sintéticos.

*Blepharocalyx salicifolius* Kuth O. Berg pertence à família Myrtaceae, é conhecida popularmente por murta, trata-se de uma espécie arbórea de médio a grande porte (Denardi e Marchiori, 2005), perenifólia, seletiva higrófito e heliófito até esciófila. Nativa da América do sul, encontra-se distribuída pelas regiões nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, sendo ainda encontrada no Uruguai, Paraguai Köeppen (1948), Bolívia e Equador (Lorenzi, 1998). A infusão de suas folhas é utilizada na medicina tradicional como antileucorréico e no tratamento de infecções do trato digestório e urinário (Siqueira *et al.*, 2011; Vivot *et al.*, 2012). Estudos demonstram o potencial fitotóxico dos extratos foliares aquosos de *B. salicifolius* sobre o desenvolvimento inicial de espécies bioindicadoras como cebola, tomate e alface (Mairesse *et al.*, 2007; Imatomi *et al.*, 2013). No entanto, trabalhos referentes à fitotoxicidade de extratos de *B. salicifolius* sobre espécies invasoras utilizando extratos obtidos das cascas desta espécie, não foram encontrados na literatura.

Com base nessas informações, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fitotóxico dos extratos hexânicos, acetato etílicos e aquosos de cascas e folhas maduras de *Blepharocalyx salicifolius* sobre o crescimento inicial de duas espécies invasoras agrícolas; *Euphorbia heterophylla* e *Echinochloa crus-galli*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

Cascas do caule (súber) e folhas maduras de *Blepharocalyx salicifolius* Kuth O. Berg foram coletados na área de cerrado “*senso strictu*” da Universidade Federal de São Carlos (21°58' - 22°00'S, 47°51' - 47°52'W) em estação seca. De acordo com a classificação de Köppen (1948) essa região é caracterizada pelo tipo climático Aw, com inverno seco (abril a setembro) e verão úmido (outubro a março). O critério morfológico para a classificação das folhas maduras foi a coloração verde escura e textura membranosa. O material vegetal foi lavado, seco em estufa de circulação forçada de ar a 40° C durante 72 horas e em seguida os materiais vegetais foram triturados separadamente em moinho elétrico (Grisi *et al.*, 2013).

Como espécies-alvo foram utilizadas plântulas de *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) e *Echinochloa crus-galli* L. Beauv. (Poaceae), conhecidas popularmente por amendoim-bravo e capim-arroz, respectivamente. Ambas atuam em culturas como espécies invasoras.

### Obtenção dos extratos

200g do pó de cada material vegetal foram submetidos à extração exaustiva em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / CH<sub>3</sub>OH (1:1) (Aibu *et al.*, 2004). Posteriormente, cada extrato bruto foi diluído em uma solução CH<sub>3</sub>OH / H<sub>2</sub>O (95:5) e particionado com hexano, resultando nos extratos metanólicos e hexânicos de cascas (CHx) e folhas maduras (FHx). Os extratos metanólicos foram suspensos em água destilada e particionados com

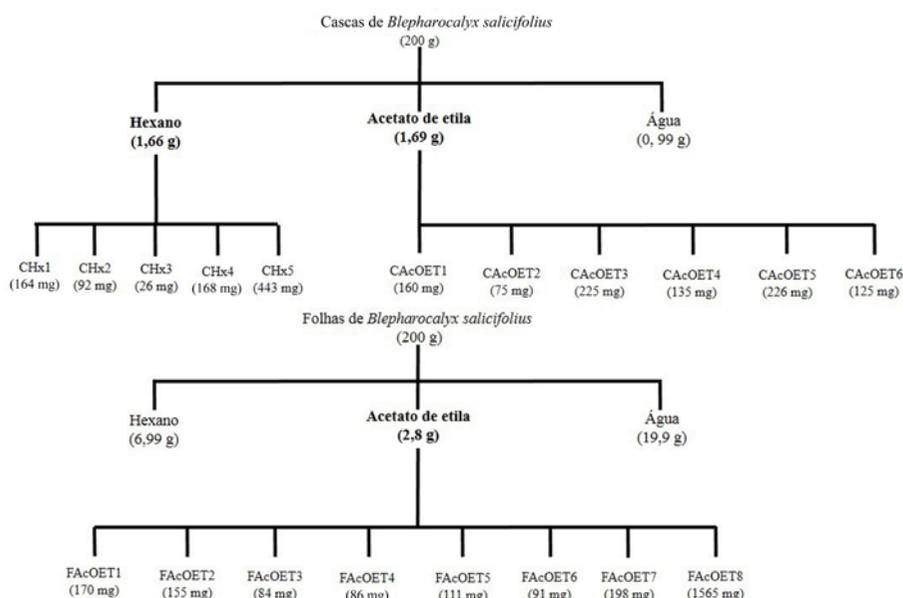
acetato de etila, dando origem aos extratos acetato etílicos de cascas (CAcOET) e folhas (FAcOET) e aquosos de cascas (CH<sub>2</sub>O) e folhas maduras (FH<sub>2</sub>O) (Otsuka, 2005). Depois de secos os extratos tiveram sua massa determinada (Fig. 1).

### Bioensaio de crescimento de plântulas

Díaspores de capim-arroz e amendoim-bravo foram germinados em água destilada e quando apresentaram 2 mm de radícula foram transferidos para caixas plásticas transparentes (11 x 7 x 4 cm) forradas com papel filtro umedecido com 6 mL de água destilada e DMSO (controle), extratos vegetais ou herbicida comercial Sanson40® (ingrediente ativo Nicossulfurom = 40 g/L), nas concentrações de 0,2, 0,4 e 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>. O experimento foi realizado utilizando-se quatro repetições de dez plântulas cada. As caixas foram mantidas em câmaras de germinação sob temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas e irradiância média de 13.38 ± 7.96 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Grisi *et al.*, 2013). Após sete dias foram medidos os comprimentos da raiz primária e da parte aérea com o auxílio de um paquímetro digital. As plântulas que apresentaram características anormais foram qualificadas e quantificadas segundo Brasil (2009).

### Cromatografia em coluna

Os extratos acetato etílico (CAcOET) e hexânico (CHx) de cascas e o extrato acetato etílico de folhas maduras (FAcOET), selecionados de acordo com seus perfis cromatográficos observados em cromatografia de camada delgada (CCD), atividade fitotóxica apresentada no bioensaio de crescimento



**Figura 1.** Fluxograma do fracionamento biodirigido dos extratos hexânico de cascas e acetato etílicos de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius* com a utilização de solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade. A massa de cada extrato (g) e fração (mg) encontra-se abaixo dos mesmos.

de plântulas e massa disponível, foram submetidos ao fracionamento em coluna para separação dos compostos por polaridade, sob pressão atmosférica. Foram utilizadas colunas de vidros de 28 cm de altura por 4 cm de diâmetro; sílica gel (70-230 *mesh*) como fase estacionária e misturas de hexano: acetona e acetona: metanol em ordem crescente de polaridade como fase móvel. Os extratos CHx, CAcOET e FAcOET foram fracionados, resultando em cinco frações hexânicas de cascas (CHx1-5), seis frações acetato etílicas de cascas (CAcOET1-6) e oito frações acetato etílicas de folhas maduras (FAcOET1-8) (Fig. 1).

### Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de Levene. Quando essas duas pressuposições foram atendidas, foi aplicada a análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste T (Lsd) a 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.

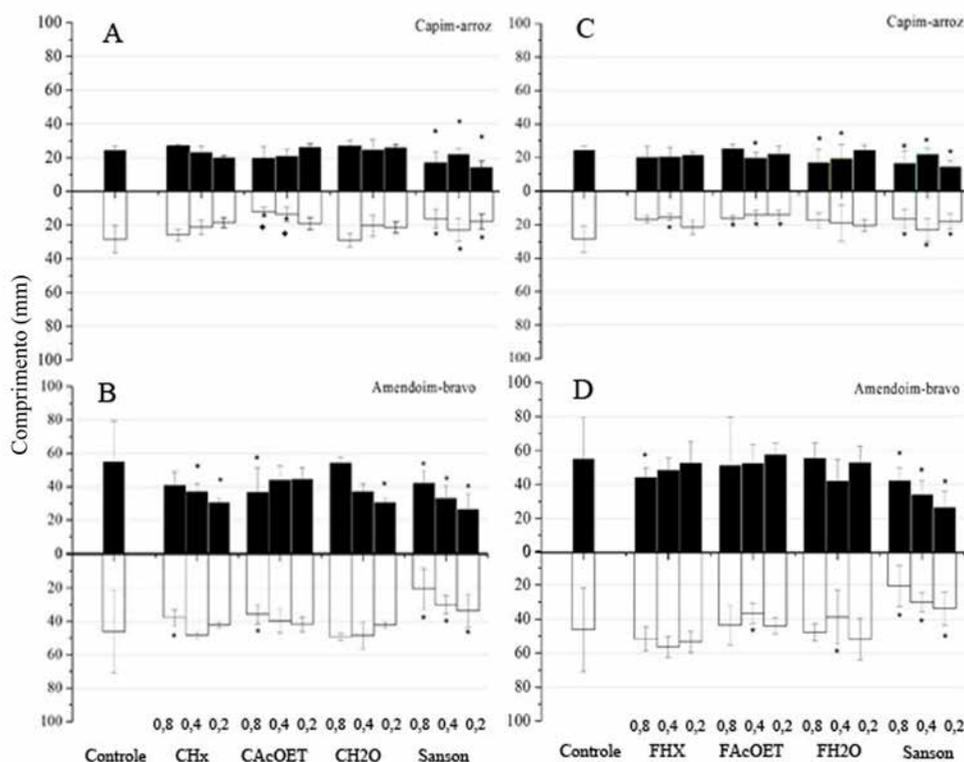
### RESULTADOS

As plântulas de capim-arroz tiveram o crescimento das raízes inibido pelos extratos FHx a 0,4 mg.mL<sup>-1</sup>, CAcOET a 0,4 e 0,8 mg.mL<sup>-1</sup> e FAcOET em todas as concentrações

testadas. O crescimento da parte aérea das plântulas de capim-arroz foi inibido pelos extratos FAcOET a 0,4 mg.mL<sup>-1</sup> e FH<sub>2</sub>O, a 0,4 e 0,8 mg.mL<sup>-1</sup> (figura 2A, 2C). As plântulas de amendoim-bravo tiveram o crescimento das raízes inibido pelos extratos CHx e CAcOET a 0,8 mg.mL<sup>-1</sup> e FAcOET e FH<sub>2</sub>O, a 0,4 mg.mL<sup>-1</sup>. O crescimento da parte aérea das plântulas de amendoim-bravo foi inibido pelos extratos CAcOET e FHx a 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>, CHx a 0,2 e 0,4 mg.mL<sup>-1</sup> e CH<sub>2</sub>O, a 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> (figura 2B, 2D).

Os extratos brutos de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius* foram fitotóxicos para as plântulas levando ao surgimento de anomalias em ambas as espécies-alvo. Os extratos CAcOET e FAcOET foram responsáveis pelo surgimento das maiores porcentagens de anomalias em relação a todos os extratos testados. Foram observados atrofia severa de caules e raízes, enrolamento do hipocótilo e necrose de folhas, caules e raízes primárias (tabela 1 e 2).

A partir dos resultados observados na avaliação da fitotoxicidade dos extratos de *B. salicifolius* conclui-se que os extratos CHx, CAcOET e FAcOET inibiram o desenvolvimento das espécies-alvo aqui estudadas e portanto foram fracionados em cromatografia em coluna. A fitotoxicidade das frações obtidas foram avaliadas no crescimento inicial de plântulas de capim-arroz e amendoim-bravo.



**Figura 2.** Comprimento médio das plântulas de capim-arroz e amendoim-bravo crescidas sob efeito dos extratos brutos de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius*. (\*) Difere ( $p < 0,05$ ) do controle. As barras representam o desvio padrão dos dados.

As plântulas de capim-arroz tiveram o crescimento das raízes inibido pelas frações hexânicas de cascas, acetato etílicas de cascas e folhas maduras e pelo herbicida comercial. Os efeitos inibitórios mais acentuados foram observados nas plântulas crescidas em contato com as frações CHx4, CACoET2, CACoET3, CACoET5, CACoET6, FAcOET2, FAcOET5, FAcOET6, FAcOET7, FAcOET8 e herbicida Sanson40® (Fig. 3B). A parte aérea das plântulas de capim-arroz tiveram o crescimento inibido em todas as concentrações testadas pelas frações hexânicas de cascas CHx1 e CHx2, pela fração CACoET3 e pelo herbicida comercial (Fig. 3A).

As raízes das plântulas de amendoim-bravo tiveram o crescimento inibido pelas frações acetato etílicas de cascas e folhas maduras e pelo herbicida Sanson40®. As frações CACoET4, FAcOET1, FAcOET5, FAcOET6, FAcOET7, FAcOET8 e herbicida comercial foram fitotóxicas e inibiram o crescimento radicular em todas as concentrações testadas (Fig. 3D). As frações acetato etílicas de cascas e

folhas maduras e o Sanson40® inibiram o crescimento da parte aérea das plântulas de amendoim-bravo. Os efeitos inibitórios mais acentuados foram observados nas plântulas crescidas em contato com as frações FAcOET1, FAcOET3, FAcOET5, FAcOET6 e herbicida comercial (Fig. 3C).

As frações provenientes dos extratos CHx, CACoET e FAcOET e o herbicida comercial Sanson40® foram fitotóxicos para as plântulas levando ao surgimento de anomalias em ambas as espécies-alvo. Nas plântulas de amendoim-bravo foram observados atrofia severa de caules e raízes ou ausência dessas partes, necrose de folhas, parte aérea e raízes, enrolamento do hipocótilo e inversão gravitópica (tabela 1). Nas plântulas de capim-arroz foram observadas atrofia de caules e raízes e necrose de folhas e raízes primárias (tabela 2).

As plântulas de capim-arroz crescidas em meio contendo as frações CHx1 e CHx3, a 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>, apresentaram 45% e 60%, de anomalias, respectivamente. As frações FAcOET5 e FAcOET7 levaram ao surgimento das maiores porcentagens

**Tabela 1.** Porcentagem de plântulas anormais de amendoim-bravo observadas nos tratamentos com os extratos brutos e frações de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius* a 0,8, 0,4 e 0,2 mg.mL<sup>-1</sup>. Legenda: A: atrofia, N: necrose, EH: enrolamento do hipocótilo e IG: inversão gravitópica.

Espécie-alvo: amendoim bravo						
Tratamentos	Porcentagem de anomalias em cada concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )			Anomalias		
	0,8	0,4	0,2	0,8	0,4	0,2
CHx	17.5	22.5	12.5	A	A/N	A
CACoET	45	27.5	22.5	A/N/EH	A/N	A/N
CH <sub>2</sub> O	37.5	17.5	12.5	A/N/EH	A/N	A
FHx	27.5	20	20	A/EH	A/EH	A
FAcOET	25	30	22.5	A/N/EH	A/N/EH	A/EH
FH <sub>2</sub> O	12.5	22.5	10	A/EH	A/EH	A
CACoET1	5	17.5	45	A/IG	A/IG	A/N/EH/IG
CACoET2	37.5	20	10	A/N/IG	A/IG	A/IG
CACoET3	45	22.5	22.5	A/IG	A/IG	A/IG
CACoET4	35	27.5	5	A/IG	A/IG	IG
CACoET5	45	52.5	27.5	A/IG	A/IG	A/IG
CACoET6	17.5	10	2.5	A/IG	A/IG/EH	IG
CHx1	12.5	7.5	30	A/N	A/N	A/N
CHx2	25	17.5	15	A/N/EH	A/N	A/EH
CHx3	0	0	7.5	---	---	A/EH
CHx4	27.5	17.5	20	A	A/N	A/EH
CHx5	12.5	2.5	.5	A	A	A/N
FAcOET1	57.5	12.5	17.5	A/N/EH	A	A/EH
FAcOET2	5	5	5	A/IG	A	A
FAcOET3	40	10	37.5	A/N/EH/IG	A/N	A/EH
FAcOET4	15	7.5	25	A/N/EH	A	A/N/EH
FAcOET5	10	10	22.5	A/N	A/N/EH	A/N/EH
FAcOET6	0	2.5	27.5	---	A	A
FAcOET7	30	20	7.5	A/N/EH	A/N/EH	A/N
FAcOET8	37.5	25	2.5	A/N/EH	A/N/EH/IG	IG
Sanson®	57.5	37.5	22.5	A/N/EH	A/EH	A/N

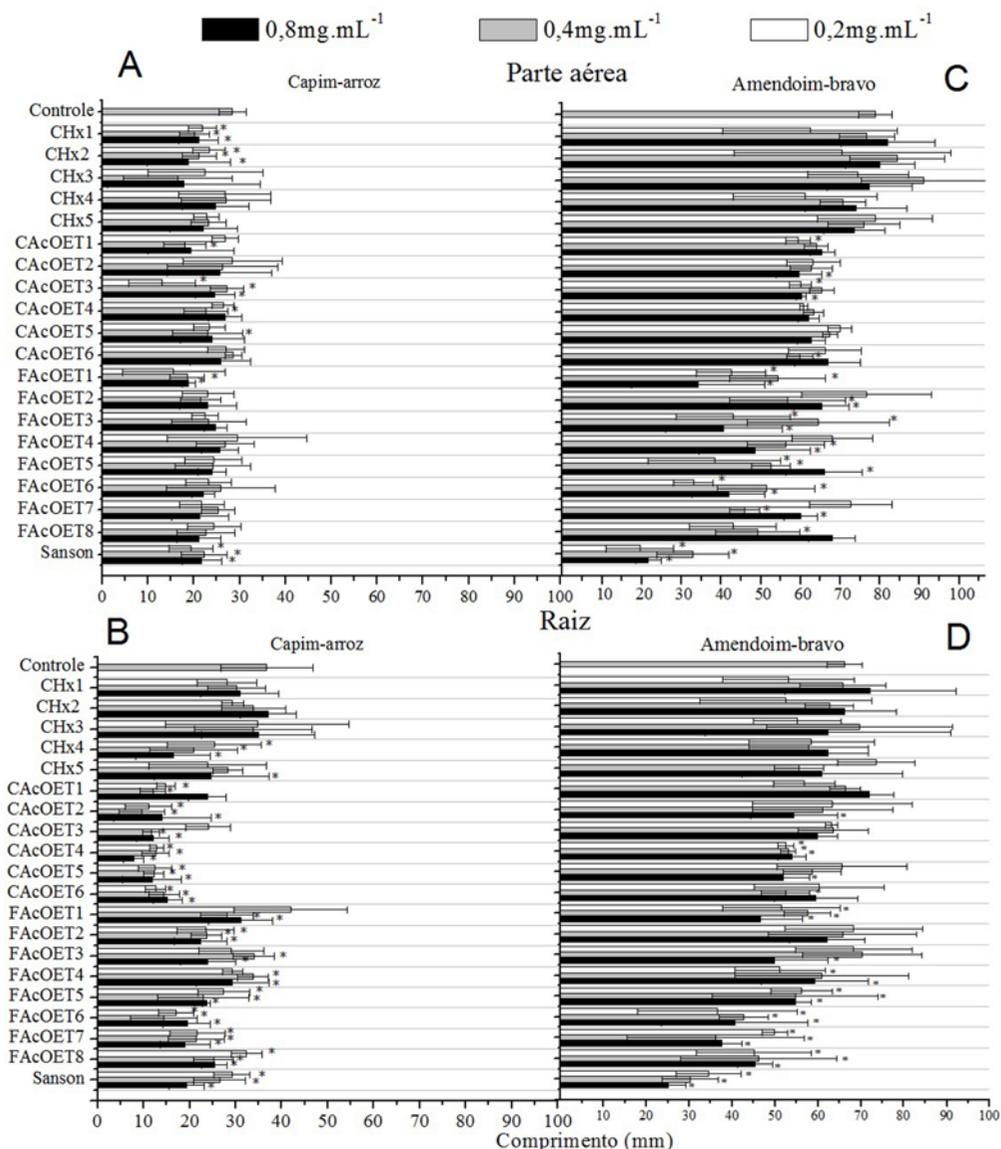
de anomalias nas plântulas de capim-arroz, 67,5 e 62,5%, respectivamente, a 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>. As plântulas de amendoim-bravo crescidas em meio contendo as frações FAcOET1, FAcOET3 e FAcOET8 e herbicida comercial apresentaram as maiores porcentagens de anomalias. Dentre as frações provenientes do extrato CAcOET, as frações CAcOET2, CAcOET3 e CAcOET5 levaram ao surgimento das maiores porcentagens em ambas as espécies-alvo.

**DISCUSSÃO**

As fases de germinação e crescimento das plântulas são as etapas mais sensíveis no desenvolvimento dos indivíduos

(Blum, 1995). Do ponto de vista ecológico, o efeito fitotóxico no crescimento da plântula após sua germinação controla mais eficientemente o tamanho da população de espécies infestantes de culturas, pois o banco de sementes é esgotado (Jacobi e Ferreira, 1991).

Os extratos acetato etílicos de ambos os órgãos foram mais fitotóxicos para o desenvolvimento das espécies-alvo aqui estudadas (Fig. 2; Fig. 3; tabela 1; tabela 2). Este solvente é utilizado para a extração de fitotoxinas de restos vegetais (An *et al.*, 2000). Além disso, com a metodologia de extração química utilizada nesse trabalho é esperado que os compostos de polaridade intermediária



**Figura 3.** Comprimento médio da parte aérea das plântulas de capim-arroz (A) e amendoim-bravo (B) e das raízes de capim-arroz (C) e amendoim-bravo (D) crescidas sob efeito das frações hexânicas de cascas e acetato etílicas de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius* (\*) Difere (*p* < 0,05) do controle. As barras representam o desvio padrão dos dados.

como fenóis, terpenóides, flavonóides e alcalóides estejam presentes nos extratos acetato etílicos (Jatobá, 2012). Substâncias fitotóxicas pertencem principalmente a esses grupos (Kim *et al.*, 2005). No estudo realizado por Oliveira *et al.*, (2013) o extrato acetato etílico de folhas de *Solanum cernuum* (Solanaceae) promoveu efeitos fitotóxicos sobre a germinação e vigor de plântulas de sorgo, alface e picão-preto. Utilizando extratos de *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) de polaridades variadas, Oliveira *et al.*, (2012) observaram que os efeitos inibitórios mais acentuados sobre o crescimento inicial das plântulas de cebola, alface, tomate e agrião foram promovidos pelo extrato acetato etílico.

Diversas substâncias de baixa polaridade, como monoterpenos, monoterpenos oxigenados, diterpenos e triterpenos, apresentam atividade fitotóxica (Souza Filho *et al.*, 2010; Trevisan *et al.*, 2012). A partir da metodologia utilizada no presente estudo espera-se que esses compostos

estejam presentes no extrato hexânico devido a afinidade desse solvente por substâncias de baixa polaridade (Jatobá, 2012; Trevisan *et al.*, 2012). No estudo realizado por Silva *et al.*, (2011) o extrato hexânico de folhas de *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae) provocou acentuado efeito inibitório no crescimento dos hipocótilos e raízes primárias de plântulas de pepino.

Em estudos sobre alelopatia, extratos de folhas são os mais frequentemente utilizados (Novaes *et al.*, 2013). No trabalho realizado por Sausen *et al.*, (2009) os extratos foliares aquosos de *Eugenia involucrata* (Myrtaceae) e *Acca sellowiana* (Myrtaceae) foram fitotóxicos para o processo germinativo e de crescimento de plântulas de tomate e cebola. Poucos trabalhos avaliam a fitotoxicidade dos extratos de cascas (Novaes *et al.*, 2013). Evidências indicam que a localização dos aleloquímicos está relacionada com a facilidade de liberação desses compostos no ambiente (Souza Filho *et al.*, 2011). A presença de cascas

**Tabela 2.** Porcentagem de plântulas anormais de capim-arroz observadas nos tratamentos com os extratos brutos e frações de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius* a 0,8, 0,4 e 0,2 mg.mL<sup>-1</sup>. Legenda: A: atrofia, N: necrose, EH: enrolamento do hipocótilo e IG: inversão gravitropica.

Espécie-alvo: capim-arroz						
Tratamentos	Porcentagem de anomalias em cada concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )			Anomalias		
	0,8	0,4	0,2	0,8	0,4	0,2
CHx	5	15	7.5	A	A	A
CACoET	10	12.5	15	A	A	A/N
CH <sub>2</sub> O	7.5	5	2.5	A	A	A
FHx	2.5	22.5	20	A	A/N	A/N
FACoET	7.5	10	0	A/N	A	-----
FH <sub>2</sub> O	7.5	5	2.5	A	A	A
CACoET1	35	27.5	27.5	A/N	A/N	A/N
CACoET2	60	60	65	A/N	A	A/N
CACoET3	55	57.5	30	A/N	A/N	A/N
CACoET4	17.5	35	22.5	A	A/N	A/N
CACoET5	40	5	10	A/N	A/N	A/N
CACoET6	25	5	7.5	A	A/N	A/N
CHx1	45	35	17.5	A/N	A	A
CHx2	37.5	22.5	10	A	A/N	A
CHx3	60	40	60	A	A	A
CHx4	22.5	7.5	12.5	A	A/N	A/N
CHx5	20	20	22.5	A/N	A	A/N
FACoET1	42.5	37.5	42.5	A/N	A/N	A/N
FACoET2	35	30	32.5	A/N	A/N	A/N
FACoET3	57.5	40	42.5	A/N	A/N	A/N
FACoET4	47.5	35	27.5	A/N	A/N	A/N
FACoET5	67.5	40	37.5	A/N	A/N	A/N
FACoET6	40	20	7.5	A/N	A/N	A
FACoET7	62.5	50	10	A/N	A/N	N
FACoET8	25	42.5	27.5	A/N	A/N	A/N
Sanson®	62.5	22.5	40	A/N	A/N	A/N

grossas nas espécies do cerrado auxilia na proteção contra a herbivoria e o fogo das queimadas, além disso, a presença de metabólitos secundários nesse tecido auxiliam na sua defesa (Marquis *et al.*, 2002, Coutinho, 2002). No estudo realizado por Gulzar e Siddiqui (2013) o extrato aquoso de cascas de *Terminalia arjuna* (Combretaceae) afetou drasticamente a germinação e o crescimento das raízes e parte aérea de plântulas de *Cassia sophera* (Fabaceae).

De acordo com Ranal (2006) e Ferreira (2004) a interferência no desenvolvimento das plântulas é uma resposta do metabolismo desses indivíduos. Os metabólitos secundários vegetais podem atuar na planta receptora alterando a estrutura das membranas celulares, inclusive dos receptores e sinalizadores ali presentes, sendo capazes também de causar interferências no ciclo celular, modificar a ação de diversos hormônios, alterar a conformação de enzimas e o processo de transcrição e tradução. Estes compostos podem ainda produzir uma série de perturbações no metabolismo energético, no balanço hídrico, funcionamento estomático, sequestro de espécies reativas de oxigênio ou mesmo uma combinação de vários desses fatores (Lotina-Hennsen *et al.*, 2006).

As duas espécies infestantes utilizadas nesse trabalho diminuem a produtividade das espécies cultivadas em monoculturas levando a prejuízos econômicos e seu controle se faz por meio da utilização de herbicidas sintéticos (F.A.O, 2009; Hong, 2004). Diversos estudos (Bridges *et al.*, 1992, Nester *et al.*, 1979) relacionam a presença de *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) com perdas significativas de produtividade em culturas de amendoim, soja e feijão. *Echinochloa crus-galli* (Poaceae) ocorre com grande frequência e distribuição em todas as regiões produtoras de arroz sendo uma das principais espécies que invadem campos de arroz no sul do Brasil (Andres *et al.*, 2007). As espécies invasoras de culturas se consolidam por meio da competição por recursos com as espécies de interesse agrícola (Marambe e Amarasingh, 2002; Tanveer *et al.*, 2013).

As raízes das espécies receptoras dos aleloquímicos foram os órgãos mais sensíveis à ação dos extratos brutos e suas frações. Este acentuado efeito inibitório no crescimento das raízes primárias é bem documentado na literatura sendo considerado uma das características que melhor indica a fitotoxicidade de extratos vegetais e está relacionado à prematura lignificação das paredes celulares (Suzuki *et al.*, 2008; Maraschin-Silva e Áquila, 2005). Alguns autores sugerem que a acentuada fitotoxicidade observada nas raízes ocorre devido ao contato mais íntimo deste órgão com os extratos (Chung *et al.*, 2001). Os aleloquímicos não são muito específicos e um mesmo composto pode apresentar diversas funções, dependendo de sua concentração e forma de translocação (Maraschin-Silva e Áquila, 2005).

O herbicida comercial Sanson 40® é classificado como seletivo, de ação sistêmica, pertencente ao grupo químico sulfoniluréia. É indicado para o controle de espécies

infestantes de mono e eudicotiledôneas. Atua sobre a acetolactato sintetase (ACL), que catalisa a primeira reação da síntese de aminoácidos de cadeia ramificada (Jakelaitis *et al.*, 2005). É considerado um produto muito perigoso ao meio ambiente, altamente móvel e persistente na natureza, apresentando alto potencial de deslocamento (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013). Os estudos na área da alelopatia tornaram-se uma importante ferramenta para a identificação de espécies que produzem substâncias que possam ser utilizadas como herbicidas naturais, mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente (Imatomi, 2010). Dessa forma, nos últimos anos, esses estudos têm se direcionado para a sua aplicação na agricultura. O uso desses metabólitos como herbicidas sobre espécies invasoras de cultivos agrícolas visa desenvolver uma agricultura mais sustentável. (Chon *et al.*, 2003).

Os compostos naturais possuem vantagens sobre os sintéticos, como ausência de moléculas halogenadas, menor meia vida e maior solubilidade em água, permitindo que os mesmos sejam utilizados em baixas concentrações (Oliveros-Bastidas, 2008). Neste trabalho as espécies receptoras responderam de forma distinta aos extratos, demonstrando que a sensibilidade destas aos compostos fitotóxicos, sob condições controladas, depende das condições fisiológicas e bioquímicas como já havia demonstrado Kobayashi (2004) em outro estudo. Os aleloquímicos de *Blepharocalyx salicifolius* podem se tornar fundamentais em sistemas agroecológicos, pois podem ser aplicados como herbicidas seletivos.

## CONCLUSÃO

Extratos e frações de cascas e folhas maduras de *B. salicifolius* exercem efeito fitotóxico sobre espécies invasoras de cultivos agrícolas. As frações CAcOET2, CAcOET3, CAcOET4, CAcOET5 e CAcOET6 apresentaram atividade inibitória superior ao apresentado pelo herbicida comercial em todas as concentrações testadas, fornecendo subsídios para a utilização dessas frações como herbicidas naturais.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às agências de fomento FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

## REFERÊNCIAS

- Aibu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer J, Mason T. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrason Sonochem.* 2004;11(3-4):261-265. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.015>
- An M, Haig T, Pratley JE. Phytotoxicity of vulpia residues: ii. separation, identification, and quantitation of allelochemicals

- from *Vulpia myuros*. J Chem Ecol. 2000;26(6):1465-1476. Doi: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1005539809774>
- Andres A, Concenço G, Melo PTBS, Schmidt M, Resende RG. Detecção da resistência de capim-arroz (*Echinochloa* sp.) ao herbicida quinclorac em regiões orizícolas do sul do Brasil. Planta Daninha. 2007;25(1):221-226. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582007000100025>
- Blum U. The value of model plant – microbe – soil systems for understanding processes associated with allelopathic interaction: one example. In: Inderjit KMM, Dakshini FA, Einhell IG, editors. Allelopathy: Organisms, Processes and Applications. ACS Symposium Series; 1995. p. 127-131.
- Brasil. Regras para a análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Brasília; 2009. p. 395.
- Bridges DC, Brecke BJ, Barbour JC. Wild poinsettia (*Euphorbia haterophylla*) interference with peanut (*Arachis hypogaea*). Weed Sci. 1992;40(1):37-42.
- Chung IM, Ahn JK, Yun SJ. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Crop Prot. 2001;20(10):921-928. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00046-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00046-1)
- Chon SU, Kim YM, Lee JC. Herbicidal potential and quantification of causative allelochemicals from several Compositae weeds. Weed Res. 2003;43(6):444-450. Doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.0043-1737.2003.00361.x>
- Cipollini D, Rigsby CM, Barto EK. Microbes as target and mediators of allelopathy in plants. J Chem Ecol. 2012;38(6):714-727. <http://dx.doi.org/10.1007/s10886-012-0133-7>
- Coutinho LM. O bioma do cerrado. In: Klein AL, editor. Eugen Warmim e o cerrado brasileiro: um século depois. Editora da Unesp, São Paulo; 2002. p. 77-92.
- Denardi L, Marchiori JNC. Anatomia ecológica da madeira de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K) Berg. Ciência Florestal. 2005;15(2):119-127. Doi: 10.5902/19805098
- FAO. The lurking menace of weeds. 2009. Available from: <http://www.fao.org/News/story/em/item/29402/icode/> (Cited 7th August 2013).
- Ferreira AG. Interferência: competição e alelopatia. In: Ferreira AG, Borghetti F, editors. Germinação do Básico ao Aplicado. Artmed. Brasil; 2004; p. 251-261.
- Grisi PU, Gualtieri SCJ, Anese S, Pereira VC, Forim MR. Efeito do extrato etanólico de *Serjania lethalis* no controle de plantas daninhas. Planta Daninha. 2013;31(2):239-248. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582013000200001>
- Gulzar A, Siddiqui MB. Evaluation for allelopathic impact of *Terminalia arjuna* (Roxb.) wight and arn bark against *Cassia sophera*. Afr J Agric Res. 2013;8(39): 4937-4940. Doi: 10.5897/AJAR2012.2181
- Hong NH. Paddy weed control by higher plants from Southeast Asia. Crop Prot. 2004;23(3):255-261. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2003.08.008>
- Imatomi M. Estudo alelopático de espécies da família Myrtaceae do Cerrado. [Tese de doutorado]. São Carlos: Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos. 2010.
- Imatomi M, Novaes P, Gualtieri SCJ. Interespecific variation in allelopathic potential of the Myrtaceae family. Acta Bot Brasilica. 2013;27(1):54-61. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062013000100008>
- Jacobi US, Ferreira AG. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (D.C) OK. sobre espécies cultivadas. Pesqui Agropecu Bras. 1991;26(7):935-943.
- Jakelaitis A, Silva AF, Silva AA, Ferreira LR, Freitas FCL, Vivan R. Influência de herbicidas e de sistemas de semeadura de *Brachiaria brizantha* consorciada com milho. Planta Daninha. 2005;23(1):59-67. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582005000100008>
- Jatobá L. Compostos com potencial alelopático em *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze. [Dissertação de mestrado]. São Carlos: Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos. 2012.
- Kobayashi K. Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. Weed Biol Manag. 2004;4(1):1-7. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1445-6664.2003.00112.x>
- Kim YO, Johnson JD, Lee EJ. Phytotoxic effects and chemical analysis of leaf extracts from three *Phytolaccaceae* species in South Korea. J Chem Ecol. 2005;31(5):1175-1186. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10886-005-4255-z>
- Köeppen W. editor. Climatologia com um estúdio de los climas de la tierra. Fondo de Cultura Economica; 1948.
- Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2th ed. Editora Plantarum. Nova Odessa; 1998. p. 244.
- Lotina-Hennsen B, King-Diaz B, Aguilar MI, Hernandez Terrones MG. Plant secondary metabolites. Targets and mechanisms of allelopathy. In: Reigosa MJ, Pedrol N, González L, editors. Allelopathy – A Physiological Process With Ecological Implications. Springer. Netherlands; 2006. p. 229-265.
- Macías FA, Molinillo JMG, Galindo JCG, Varela RM, Simonet AM, Castellano D. The use of allelopathic studies in the search for Natural Herbicides. J Crop Prod. 2001;4(2):237-255. Doi: 10.1300/J144v04n02\_08
- Maraschin-Silva F, Áquila MEA. Potencial alelopático de *Dodoneaea viscosa* (L.) Jacq. Ilheringia. 2005;60(1):91-98.
- Marquis RJ, Morais HC, Diniz IR. Interactions among cerrado plants and their herbivores: unique or typical. In: Oliveira PS, Marquis RJ, editors. The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna. Columbia University Press, New York; 2002. p. 306-328.
- Mairesse LAS, Costa EC, Farias Jr, Fiorin RA. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). Revista da FZVA. 2007;12(2):1-12.

- Marambe B, Amarasinghe L. Propanil-resistant barnyardgrass [*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.] in Sri Lanka: Seedling growth under different temperatures and control. *Weed Biol Manag.* 2002;2(4):194-199. Doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1445-6664.2002.00068.x>
- Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sanson 40 [online] ®. Available form: [http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas\\_Herbicidas/SANSON\\_40\\_SC.pdf](http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas_Herbicidas/SANSON_40_SC.pdf) (Acesso em: 09 de novembro de 2013).
- Moreno LF. Efectos alelopáticos de *Rumex crispus* L. sobre *Pisum sativum* L. *Acta biol. Colomb.* 1989;1(5):35-43.
- Mourao Junior M, Souza Filho APS. Diferenças no padrão da atividade alelopática em espécies da família Leguminosae. *Planta Daninha.* 2010;28(spe):939-951. Doi: 10.1590/S0100-83582010000500002
- Nester PR, Harger TR, McCormick LL. Weed watch-wild poinsettia. *Weeds Today.* 1979;11(1):2425.
- Novaes P, Molinillo JMG, Varela RM, Macías FA. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savana) plants. *Phytochem Ver.* 2013;12(4):839-855. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-013-9315-3>
- Oliveira SCC, Gualtieri SCJ, Macias FA, Gonzales JMG, Varela RM. Estudo Fitoquímico de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St Hil. Solanaceae. *Acta Bot Brasilica.* 2012;26(3):607-618. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062012000300010>
- Oliveira LGA, Duque FFB, Valdenir J, Schimldt ER, Almeida MS. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum cernuum* Vell. *Revista Ciência Agronômica.* 2013.44(3):538-543. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062012000300010>
- Oliveros-Bastidas AJ. El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. *Química Viva.* 2008;7(1):1-34.
- Otsuka H. Purification by solvent extraction using partition coefficient. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI, editors. *Natural Products Isolation. Methods in Biotechnology.* Humana Press; Estados Unidos, 2005. p. 269-273.
- Ranal MA, Santana DG. How and why to measure the germination process?. *Rev Bras Bot.* 2006;29(1):1-11. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>
- Rice, EL. *Allelopathy.* 2 ed. Academic Press, Nova Iorque, 1984. 422 p.
- Sausen TL, Löwe TR, Figueiredo LS, Buzatto CR. Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de folhas de *Eugenia involucrata* DC. e *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret. *Polibotanica.* 2009;(27):145-158.
- Silva PB, Medeiros ACM, Duarte MCT, Ruiz ALTG, Kolb RM, Frei F, et al. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). *Rev bras plantas med.* 2011;13(4):447-455.
- Siqueira EP, Oliveira DM, Johann S, Cisalpino PS, Cota BB, Rabello A, et al. Bioactivity of the compounds isolated from *Blepharocalyx salicifolius*. *Rev Bras Farmacogn.* 2011;21(4):645-651. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000111>
- Souza Filho APS, Guilhon GMSP, Santos LS. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. *Planta Daninha.* 2010;28(3):698-697. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582010000300026>
- Souza FILHO APS, Trezzi MM, Inoue MH. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. *Planta Daninha.* 2011;29(3):709-716. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582011000300025>
- Suzuki LS, Zonetti PC, Ferrarese MLL, Ferrareze-Filho O. Effects of ferulic acid on growth and lignification of conventional and glyphosate-resistant soybean. *Allelopathy J.* 2008;21(1):155-154.
- Tanveer A, Khaliq A, Javaid MM, Chaudhry MN, Awan I. Implications of weeds of genus *Euphorbia* for crop production: a review. *Planta Daninha.* 2013;31(3):723-731. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582013000300024>
- Trevisan RR, Lima CP, Miyazaki CMS, Pesci FA, Silva CB, Hirota BCK, et al. Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. *Rev bras plantas med.* 2012;14(3):494-499. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000300011>
- Vivot EP, Sánchez C, Cacik F, Sequin C. Actividad antibacteriana em plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, Docencia y Tecnología.* 2012; 23(45):165-185.
- Wandscheer ACD, Pastorini LH. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. *Cienc Rural.* 2008;38(4):949-953. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000400007>