

# CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE FITOTÓXICA DAS FRAÇÕES DE BAC29

Beatriz Pereira Moreno<sup>1</sup>, Aline Aparecida Rodolpho de Andrade<sup>2</sup>, Gislaine Cristiane Mantovanelli<sup>3</sup>, Letycia Lopes Ricardo<sup>4</sup>, Emy Luiza Ishii-Iwamoto<sup>5</sup>, Debora Cristina Baldoqui<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Doutora em Química, Universidade Estadual de Maringá – UEM pereira.moreno@hotmail.com

<sup>2</sup>Aluna de graduação de Química, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista Fundação Araucária  
alineandrade70@gmail.com

<sup>3</sup>Pós-Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá – UEM Bolsista Capes  
laine\_mantovanelli@hotmail.com

<sup>4</sup>Professora, Doutora, Departamento de Engenharias e Exatas, Universidade Federal do Paraná-UFPR, Palotina-PR.  
Letycia.ricardo@ufpr.br

<sup>5</sup>Co-orientadora, Doutora, Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá-UEM  
eliwamoto@uem.br

<sup>6</sup>Orientadora, Doutora, Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá-UEM  
dcbaldoqui@uem.br

## RESUMO

A agricultura moderna tem como foco principal altas produtividades e torna-se dependente do uso de insumos químicos como estimulantes de crescimento e defensivos agrícolas sintéticos para o controle de plantas daninhas, as quais geram grandes perdas econômicas. O uso de palhadas mostra-se relevante para várias finalidades como a reciclagem dos nutrientes do solo, melhoria das características do solo e principalmente a inibição da germinação e desenvolvimento inicial de plantas daninhas, as quais causam prejuízos nas lavouras de interesse comercial. No intuito de continuar o estudo de palhadas com efeito fitotóxico realizado por nosso grupo, foi escolhida a espécie BAC29, a qual apresenta relatos na literatura quanto ao seu potencial fitotóxico, mas não apresentam relatos quanto seu estudo fitoquímico. O estudo fitoquímico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 resultou no isolamento de sete substâncias: sitosterol, estigmasterol, daucosterol, ácido vanílico, apigenina, apigenina-7-O-glicosídeo e luteolina-7-O-glicosídeo. Essas substâncias estão sendo relatadas pela primeira vez na espécie BAC29 e no seu gênero, com exceção do sitosterol, apigenina, apigenina-7-O-glicosídeo e luteolina-7-O-glicosídeo. A avaliação da atividade fitotóxica das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 foi realizada sobre a germinação e o crescimento inicial das plântulas das plantas daninhas: *Amaranthus hybridus*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla* e *Urochloa decumbens*. A frações FDM foi a mais eficiente em inibir os parâmetros analisados e a planta daninha mais sensível as frações testadas foi *A. hybridus*, e a menos sensível foi *U. decumbens*.

**Palavras-chave:** *Amaranthus hybridus*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla*, fenólicos e *Urochloa decumbens*.

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura moderna tem como foco principal altas produtividades e torna-se dependente do uso de insumos químicos como estimulantes de crescimento e defensivos agrícolas sintéticos. Sem herbicidas, o trabalho nas áreas de plantio seria um dos principais custos associados a produção. Entretanto, o uso desses produtos tem provocado constantes insatisfações de ordem social em função dos riscos à saúde humana e dos prejuízos ambientais que promovem. Além disso, a exploração insustentável dos recursos naturais na agricultura gerou uma degradação generalizada do solo, o que também contribui a começar a repensar estratégias para a produção de alimentos (RAMESH, 2015).

O emprego de novas formas de manejo ou o uso integrado de métodos culturais, biológicos, mecânicos e físicos de controle das plantas daninhas são essenciais para substituir ou até mesmo reduzir o uso de controle químico na agricultura, visto que o uso indevido de herbicidas causa muitos problemas ao meio ambiente e ao homem (COSTA et al., 2018). Pesquisadores e empresas envolvidas com agrotóxicos tiveram seu interesse despertado para a busca de novas moléculas, que possam ser empregadas ou sirvam como protótipos para novos herbicidas naturais. As vantagens do uso de herbicidas naturais incluem a ausência de compostos halogenados, novos tipos de modos de ação, interações

mais específicas com as plantas daninhas, uso de baixas concentrações e baixa toxicidade. Dentro deste contexto, a alelopatia pode ser uma ferramenta muito útil na descoberta de novas substâncias com potencial herbicida e que sejam mais específicas e eficientes (FUENTES-GANDARA et al., 2019).

Na literatura já existem relatos de herbicidas comerciais derivados de produtos naturais, como exemplos: os produtos naturais identificados das bactérias *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygroscopicus* conhecidos como bialafos, um pró-herbicida que nas plantas são convertidas no composto ativo e fosfinotricina (WU et al., 2014); As tricetonas, uma nova classe de herbicidas derivados dos metabólitos secundários leptospermona, isoleptospermona, flavesona, grandiflorona, as quais estão presentes nos óleos das folhas de *Leptospermum*, *Eucalyptus* e *Corymbia* e são precursores das substâncias nitisinona, sulcotriona, mesotriona, tembotriona, bicilopirona (OLIVEROS-BASTIDAS, 2008; DUMAS et al., 2017); E a cinmetilina, um herbicida seletivo para o controle de gramíneas em plantações de arroz, o qual é um herbicida derivado do monoterpeneo natural 1,4-cineol (eucaliptol) (CAMPE et al., 2018).

Estudos mostram que o uso de palhadas de algumas espécies controla a emergência de plantas daninhas. Essa capacidade se deve ao fato da cobertura vegetal e/ou seus restos vegetais na superfície do solo reduzir a emergência e o estabelecimento de plantas daninhas, seja através do efeito físico, como também do efeito químico e/ou alelopático, além de proteger o solo da radiação solar e aumentar a eficiência da ciclagem de nutrientes. Um exemplo, é o uso do da palhada do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) no controle de plantas daninhas na cultura de milho e também no controle de *Bidens pilosa* reduzindo sua germinação (RIZZARDI; SILVA; VARGAS, 2006; MORAES et al., 2010). Também foi relatado o controle de plantas daninhas presentes na cultura de soja, utilizando a palhada de *Pennisetum maximum* (milheto) (FREITAS; RODRIGUES; SILVA, 2006). Além disso, a utilização da palhada de *Crotalaria spectabilis* e *Sorghum bicolor* incorporada ao solo ou sob a superfície inibiu a emergência de *Ipomoea triloba*, *Euphorbia heterophylla* e *Cenchrus echinatus* (GOMES et al., 2014).

O uso de palhadas mostra-se relevante para várias finalidades como a reciclagem dos nutrientes do solo, melhoria das características do solo e principalmente a inibição da germinação e desenvolvimento inicial de plantas daninhas, as quais causam prejuízos nas lavouras de interesse comercial. Sendo assim, continuando o trabalho de nosso grupo de pesquisa com palhadas que apresentam efeitos fitotóxicos no campo, o objetivo desse trabalho foi realizar o estudo fitoquímico das frações FHEX, FDM e FAE obtidas a partir do fracionamento líquido-líquido do extrato bruto da espécie denominada BAC29, sendo que esse estudo consiste no isolamento de substâncias químicas presentes nas partes aéreas da planta em estudo. Além da avaliação do efeito fitotóxico das mesmas frações frente as plantas daninhas *Amaranthus hybridus*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla* e *Urochloa decumbens*, as quais estão presentes nas plantações de arroz, milho e soja no Brasil (devido a cláusulas de um acordo firmado entre a UEM e a multinacional BASF, os resultados são confidenciais, e, portanto, a espécie BAC29 não pôde ser nomeada nesse trabalho).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL VEGETAL

A espécie BAC29 foi cultivada em campo aberto na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá, no distrito de Iguatemi, Estado do Paraná, Brasil (23°20'58,86"S e 52°04'27,56"O) entre dezembro de 2014 e março de 2015. As sementes foram obtidas da empresa Agro Cosmos (Cosmos Agrícola Produtos e Serviços Rurais Ltda, Brasil) e foram semeadas manualmente e incorporadas ao solo com auxílio de uma

grade niveladora, sendo que a colheita foi realizada de 90 a 100 dias após a emergência das plântulas. As partes aéreas coletadas foram, então, secas em estufa com circulação forçada de ar e em seguida foram moídas em triturador ou desintegrador forrageiro a fim de se obter o material vegetal com tamanho de partículas uniformes.

## 2.2 PREPARAÇÃO E FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO

As partes aéreas de BAC29 (502,98 g), após serem secas e moídas, foram submetidas à extração com metanol, à frio, por maceração exaustiva. Após remoção do solvente com o auxílio do concentrador de amostras Rocket Synergy da Genevac à temperatura de 35°C sob vácuo obteve-se 49,24 g do extrato bruto metanólico (EB).

Para o fracionamento foram utilizados 47,00 g de EB, os quais foram dissolvidos em 700 mL de H<sub>2</sub>O/MeOH 1:1, e posteriormente submetidos à partição com cada um dos solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol. Após a remoção dos solventes com o auxílio do concentrador de amostras Rocket Synergy à temperatura de 35°C sob vácuo, obtiveram-se as frações hexano (FHEX, 7,82 g), diclorometano (FDM, 1,85 g), acetato de etila (FAE, 4,04 g), butanol (FBUT, 3,22 g) e hidrometanol (FHM, 14,94 g). Essa preparação e fracionamento foram conduzidos no Laboratório de Síntese Orgânica e Produtos Naturais-GSPN da Universidade Estadual de Maringá sob orientação da Profa. Dra. Debora Cristina Baldoqui. Neste trabalho será discutido apenas o isolamento dos constituintes químicos e atividade fitotóxica das frações FHEX, FDM e FAE, as quais se mostraram mais ativas em screening realizado com o extrato bruto e as demais frações de BAC29.

## 2.3 ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FRAÇÕES FHEX, FDM e FAE DE BAC29

Parte da fração FHEX (2,06 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel 60 e foi eluída utilizando um com gradiente crescente de polaridade de hexano, hexano a acetato de etila, acetato de etila e acetato de etila a metanol, obtendo-se 120 frações. As frações da coluna FHEX foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em 17 frações. A fração FHEX-20 (121,4 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel sendo eluída com um gradiente crescente de polaridade de hexano, hexano a clorofórmio, clorofórmio e clorofórmio a metanol, obtendo-se 27 frações. As frações foram reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em CCD em 5 frações. A fração FHEX-20-03 levou ao isolamento da mistura de substâncias 1 e 2 (22,1 mg). Já a fração FHEX-75 (76,8 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel e utilizando como eluente um gradiente crescente de polaridade de hexano, hexano a clorofórmio, clorofórmio e clorofórmio a metanol, obtendo-se 21 frações. Após análise por CCD, as frações foram reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em 5 frações. A fração FHEX-75-14 levou ao isolamento da substância 3 (8,7 mg).

Parte da fração FDM (1,62 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel 60 e foi eluída utilizando um gradiente crescente de polaridade de hexano, hexano a clorofórmio, clorofórmio e clorofórmio a metanol, obtendo-se 69 frações. As frações da coluna FDM foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em 12 frações. A fração FDM-01 (133,3 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel e utilizando como eluente um gradiente crescente de polaridade de hexano, hexano a clorofórmio, clorofórmio e clorofórmio a metanol, obtendo-se 26 frações. Após análise por CCD, as frações foram reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em 8 frações. A fração FDM-01-01ppt apresentou um precipitado branco em forma de agulhas, o qual levou ao reisolamento da mistura de substâncias 1 e 2 (8,9 mg). A fração FDM-30 (153,4 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel e sendo eluída com um gradiente crescente de polaridade de hexano, hexano a acetato de etila,



acetato de etila e acetato de etila a metanol, obtendo-se 24 frações. As frações foram reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em CCD em 9 frações. A fração FDM-30-02ppt apresentou um precipitado amarelo amorfo, o qual levou ao isolamento da substância 4 (11,2 mg). Já a fração FDM-30-02sob (61,6 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica com sephadex LH-20 utilizando como eluente  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  50% de modo isocrático e foram obtidas 6 frações. Após análise por cromatografia em camada delgada, as frações foram reunidas em 4 frações. A fração CA-FDM-30-02sob-06 resultou no isolamento da mistura de substâncias 4 e 5 (6,3 mg).

Parte da fração FAE (2,72 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica em sephadex LH-20 utilizando como eluente  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  50% de modo isocrático e foram obtidas 70 frações. Após análise por cromatografia em camada delgada, as frações foram reunidas em 13 frações. A fração FAE-40 levou ao reisolamento da substância 5 e ao isolamento da mistura de substâncias 6 e 7 (15,9 mg). Já a fração FAE-47 apresentou um sólido amorfo amarelado, o qual resultou no reisolamento da mistura de substâncias 6 e 7 (26,3 mg).

As substâncias isoladas foram identificadas por análises de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , obtidos em espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear, da marca Bruker e modelo AVANCE III HD, de 300 MHz ou de 500 MHz. Como solvente para as amostras foram utilizados DMSO ou  $\text{CDCl}_3$ . A interpretação dos dados foi realizada com auxílio de correlações bidimensionais de COSY, HSQC e HMBC.

## 2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOTÓXICA DAS FRAÇÕES FHEX, FDM e FAE DE BAC29

As frações hexano (FHEX), diclorometano (FDM) e acetato de etila (FAE) foram avaliados frente a quatro plantas daninhas: *A. hybridus*, *B. pilosa*, *E. heterophylla* e *U. decumbens*. Os parâmetros avaliados foram: taxa de germinação (%), comprimento das raízes primárias (mm), comprimento dos caules primários (mm), comprimento total (mm), biomassa fresca (mg) e biomassa seca (mg).

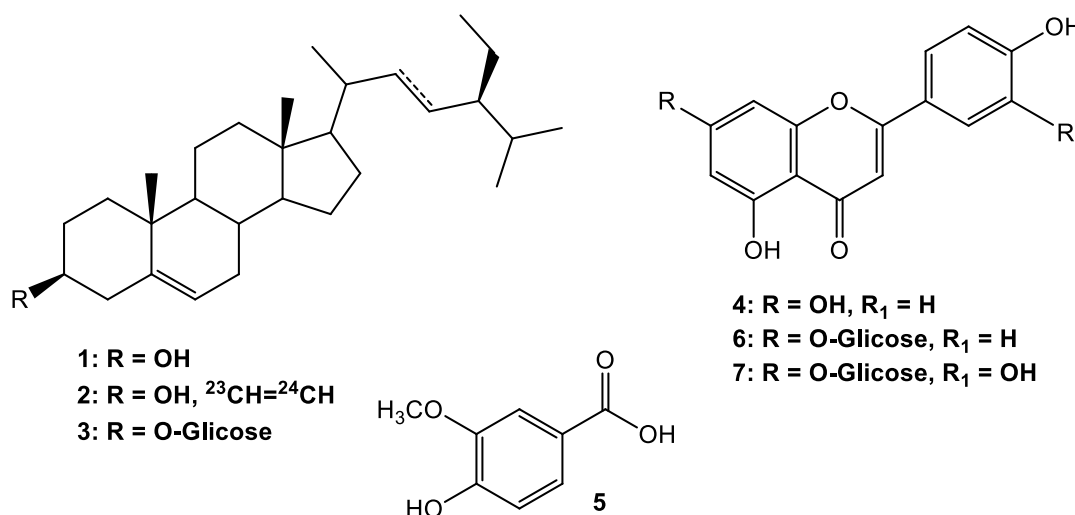
Primeiramente, 25 mg dos tratamentos FHEX, FDM e FAE foram dissolvidos em 25 mL de metanol 100%. Em cada caixa de germinação (11 x 11 cm) foram adicionados 5 mL das soluções metanólicas sobre duas folhas de papel germitest. Na caixa de germinação do controle foi apenas adicionado metanol. Durante 24 horas as caixas de germinação (tratamentos e controle) permaneceram em repouso em câmara de fluxo laminar para a completa evaporação do metanol. Após as 24 horas em repouso, foram adicionados 10 mL de água destilada em cada caixa de germinação, de modo que a concentração final na caixa de germinação de cada tratamento fosse de  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  (ARANITI et al., 2014, com modificações).

As sementes de cada planta daninha testada foram selecionadas, quanto ao tamanho e à forma e foram submetidas a um procedimento de higienização de forma específica para cada espécie conforme descritos a seguir: *A. hybridus* - 5 min em solução de 2% de NaClO; Água destilada; *B. pilosa* - 5 min em solução de 2% de NaClO; Água destilada; *E. heterophylla* - Água destilada; *U. decumbens* - 15 min em  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; Água destilada. Após a higienização das sementes, estas foram levadas para a câmara de fluxo laminar para serem semeadas. Em cada caixa de germinação foram dispostas 50 sementes de cada espécie, os quais foram desinfetados em câmara de fluxo laminar com luz UV, vedados com plástico filme e depois colocados em câmara de germinação com fotoperíodo e temperatura específicos para cada espécie (*A. hybridus* e *B. pilosa* - 8 horas claro,  $30^\circ\text{C}$  e 16 horas escuro,  $20^\circ\text{C}$ ; *E. heterophylla* - 12 horas claro,  $25^\circ\text{C}$  e 12 horas escuro,  $25^\circ\text{C}$ ; *U. decumbens* - 12 horas claro,  $35^\circ\text{C}$  e 12 horas escuro,  $20^\circ\text{C}$ ). Na câmara de germinação a densidade do fluxo de fótons foi de  $230 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para todas as espécies testadas e para uma semente ser considerada como germinada a raiz deveria ter 2 mm ou mais.

Após 96 horas da semeadura para *B. pilosa* e *E. heterophylla* e 168 horas para *A. hybridus* e *U. decumbens*, as plântulas que germinaram foram contadas para determinação da taxa de germinação e medidas para a avaliação do crescimento de raízes e caules. Em seguida, as plântulas foram pesadas em balança analítica, para obtenção da biomassa fresca e levadas à estufa de secagem com temperatura constante de 60°C onde permaneceram por 48 horas, para em seguida serem colocadas em um dessecador e após atingir o peso constante foram pesadas para determinação da biomassa seca

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico das frações FHEX, FDM e FAE obtidas das partes aéreas de BAC29 resultou no isolamento de 7 substâncias, as quais tiveram suas estruturas foram elucidadas mediante a comparação de seus dados de RMN uni e bidimensionais com os dados da literatura. A fração FHEX proporcionou o isolamento de três fitoesteróis, o sitosterol (1), o estigmasterol (2) (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012) e o daucosterol (3) (KOJIMA et al., 1990). Já a fração FDM proporcionou o reisolamento da mistura de substâncias sitosterol e estigmasterol, além do isolamento do flavonoide apigenina (4) (SILVA et al., 2015) e do ácido fenólico ácido vanílico (5) (LIU et al., 2017). Além disso, na fração FAE foi reisolado o ácido vanílico e os flavonoides apigenina-7-O-glicosídeo (6) e luteolina-7-O-glicosídeo (7) (DEHAGHI et al., 2016) (Figura 1).



**Figura 1:** Estrutura das substâncias isoladas da espécie BAC29

Fonte: Os autores

Na literatura há o relato da atividade fitotóxica dessas substâncias, sendo que os fitoesteróis  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol, quando utilizados numa concentração de 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para cada, apresentaram efeitos inibitórios nos três parâmetros analisados, taxa de germinação das sementes, comprimento das plântulas e a biomassa fresca de *Vigna unguiculata* (KPOVIESSI et al., 2008). Já o daucosterol testado na concentração de 336  $\mu\text{g mL}^{-1}$  inibiu o desenvolvimento das plântulas de *Lactuca sativa* (BARATELLI et al., 2012).

A apigenina testada na concentração de 10  $\text{mg mL}^{-1}$  apresentou efeito inibitório sobre a germinação de *Raphanus sativus* (BASILE et al., 2000). Em outro estudo a apigenina mostrou efeito inibitório significativo sobre a germinação, respiração e crescimentos das plântulas de *Lactuca sativa* utilizando concentrações de 10 a 35  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (dose dependente) (CÉSPEDES et al., 2006).

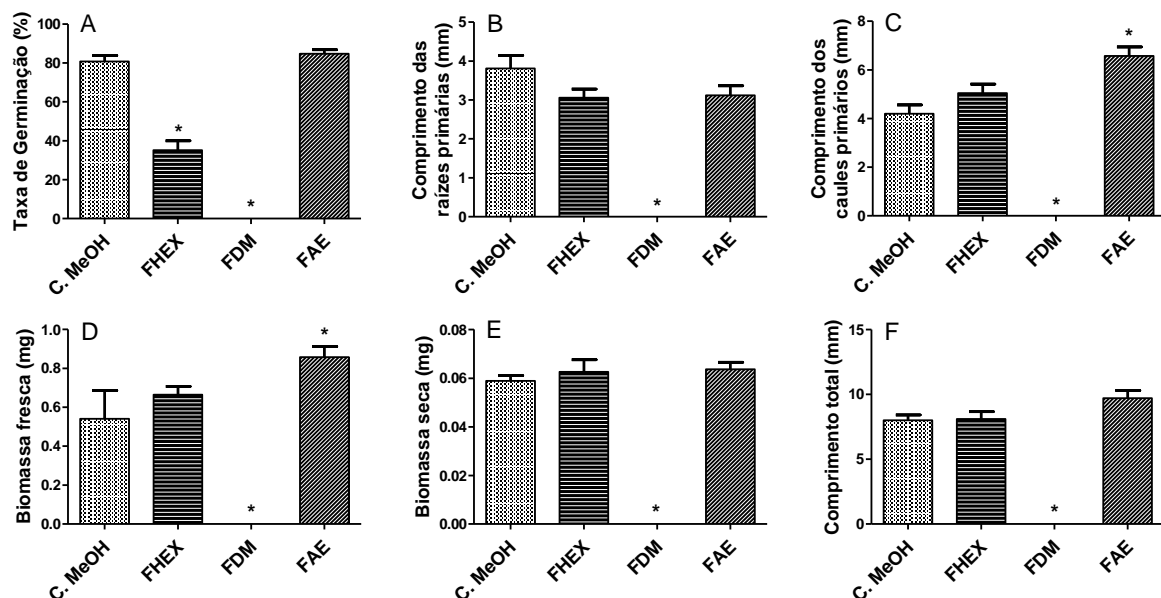
No caso do ácido vanílico, este já é conhecido como um aleloquímico (MACÍAS et al., 2007). Alguns relatos na literatura mostram que o ácido vanílico inibe a absorção de fósforo, diminui o comprimento das radículas, a biomassa fresca e seca, e aumenta a

atividade da enzima fenilalanina amônia-liase de *Glycine max* nas concentrações de 0,5 e 1  $\mu\text{M}$ , além de inibir o comprimento das radículas de *Vicia faba* nas concentrações de 200 e 400  $\mu\text{M}$  (HERRIG et al., 2002; ASADUZZAMAN; ASAO, 2012). Quando testado em baixas concentrações (0,1, 0,5 e 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) o ácido vanílico estimula a germinação, o crescimento das plântulas, e os efeitos de algumas enzimas antioxidantes de *Lycopersicon esculentum*, enquanto que em concentrações mais altas (2 e 4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) ocorre o contrário, inibindo-as (GHAREIB; ABDELHAMED; IBRAHIM, 2010).

Na literatura também há o relato sobre o potencial fitotóxico da luteolina-7-O-glicosídeo, sendo que foi testada nas concentrações de 0,1 e 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , e inibe a germinação e o comprimento das radículas e hipocótilos da planta *Raphanus sativus* L, (SENATORE et al., 2007).

O efeito fitotóxico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 na concentração de 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  foi analisado quanto aos seguintes parâmetros: taxa de germinação (%), o crescimento das raízes primárias (mm), o crescimento dos caules primários (mm), a biomassa fresca (mg), a biomassa seca (mg) e o comprimento total das plântulas (mm) frente a quatro plantas daninhas, *A. hybridus*, *B. pilosa*, *E. heterophylla* e *U. decumbens*. Os resultados significativos entre os valores médios dos tratamentos e o valor do controle estão indicados por meio de asteriscos nos gráficos e foram discutidos abaixo. Esses resultados foram identificados através da análise de variância (ANOVA), realizado pelo software StatisticaTM, utilizando o teste de Duncan para identificar as diferenças significativas em um nível de 5% ( $p \leq 0,05$ ) e estão marcados nos gráficos 1, 2, 3 e 4 com asteriscos. Todos os dados foram comparados e discutidos em relação aos seus respectivos controles.

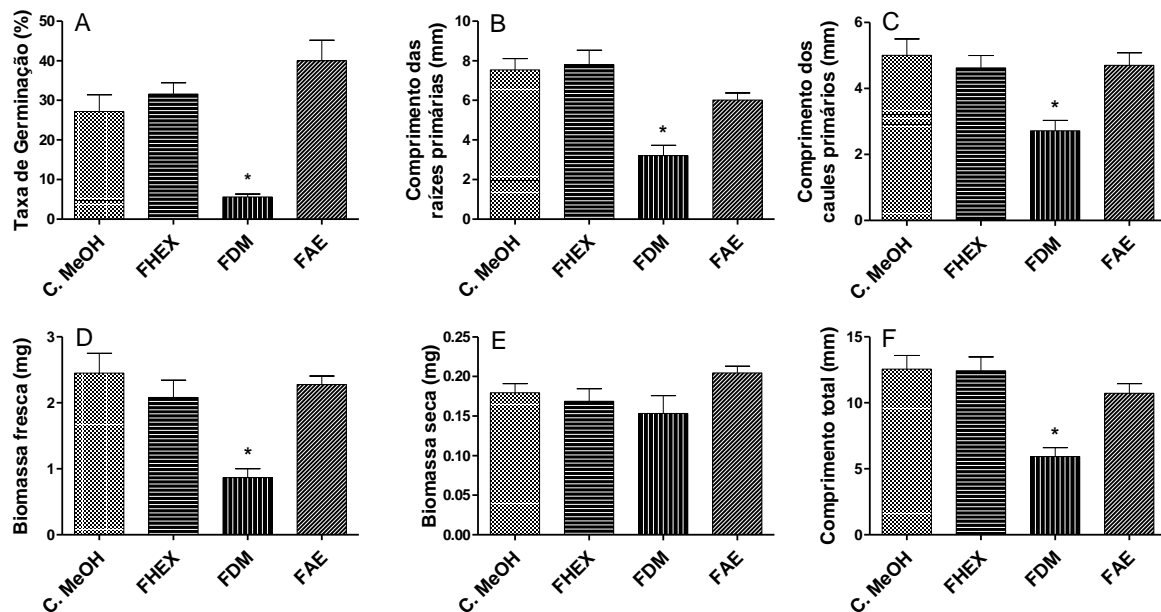
Pela análise do gráfico 1 observa-se que a taxa de germinação (A) das sementes de *A. hybridus* foi alterada pelas frações FHEX e FDM, as quais inibiram esse parâmetro em 56,44 % e 100 %, respectivamente. Como a germinação das sementes de *A. hybridus* foi totalmente inibida pela fração FDM, os outros cinco parâmetros também tiveram inibição de 100 % (B, C, D, E e F). Já a fração FAE alterou o comprimento dos caules primários (C) e a biomassa fresca (D), estimulando esses parâmetros em 56,89 % e 58,35 %, respectivamente.



**Gráfico 1:** Efeito fitotóxico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 sobre os parâmetros analisados de *A. hybridus*.

Fonte: Dados da pesquisa

Já a análise do gráfico 2 mostrou que a taxa de germinação (A) das sementes de *B. pilosa* foi alterada pela fração FDM, a qual inibiu esse parâmetro em 79,41 %. Além disso, a fração FDM alterou mais quatro parâmetros, inibindo em 57,58 % o comprimento das raízes primárias (B), 45,74 % o comprimento dos caules primários (C), 64,61 % a biomassa fresca (D) e 52,85 % o comprimento total (F) das plântulas de *B. pilosa*. Também foi observado que o parâmetro biomassa seca não foi alterado por nenhum dos tratamentos.

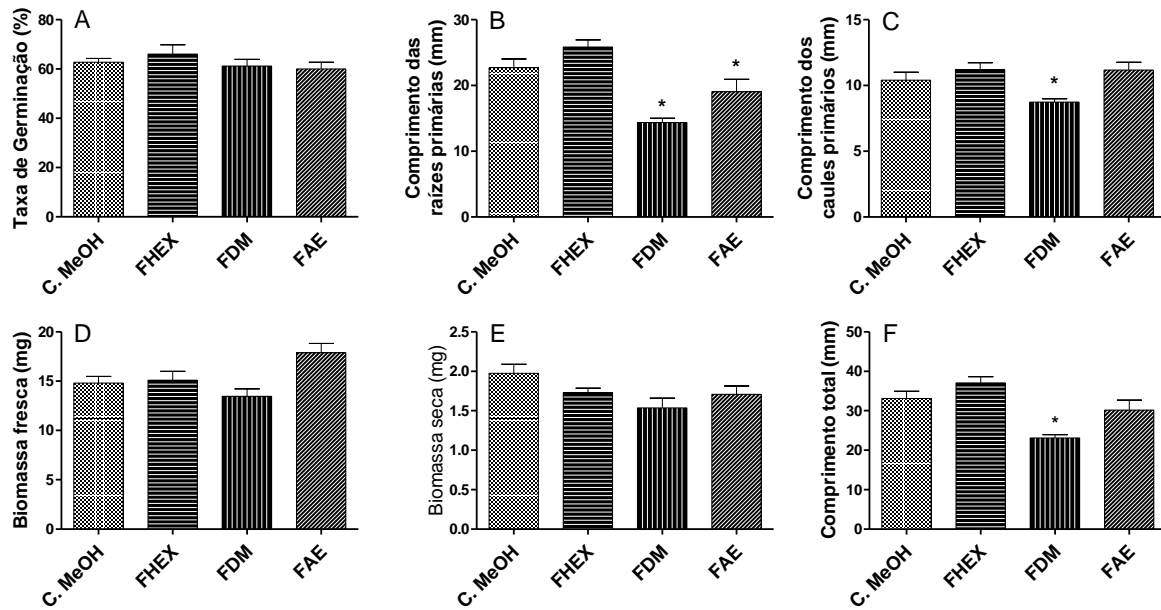


**Gráfico 2:** Efeito fitotóxico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 sobre os parâmetros analisados de *B. pilosa*.

**Fonte:** Dados da pesquisa

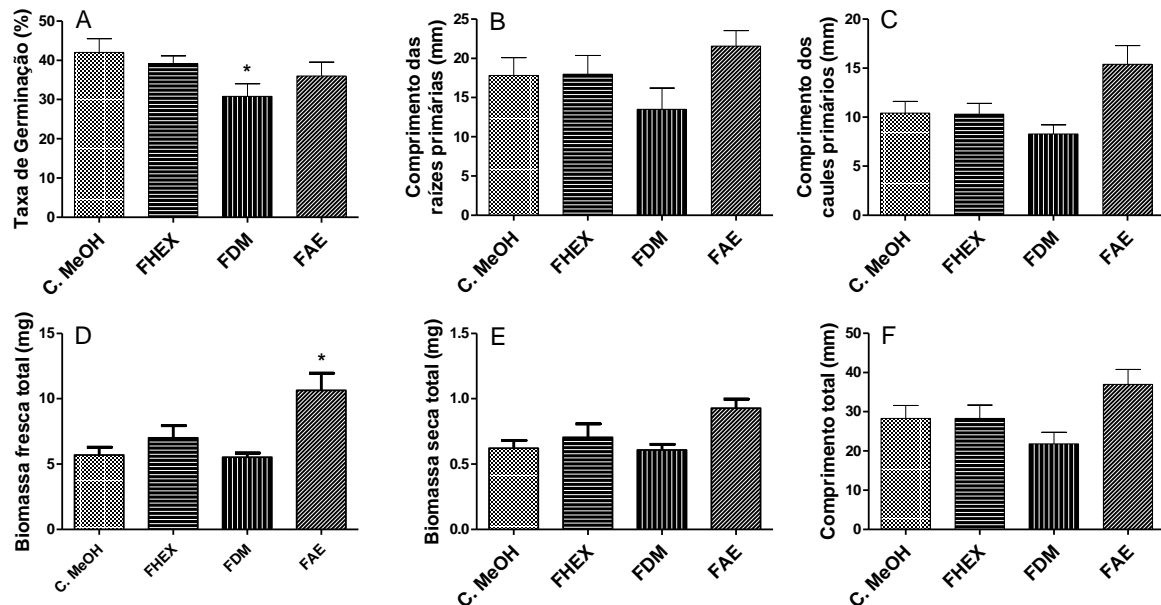
Analisando o gráfico 3, observa-se que a taxa de germinação (A) das sementes de *E. heterophylla*, as biomassas fresca (D) e seca (E) não foram alteradas por nenhuma das frações testadas. No entanto, o comprimento das raízes primárias (B) foi inibido em 36,72 % pela fração FDM e em 16,20 % pela fração FAE. Já o comprimento dos caules primários (C) foi inibido em 16,10 % pela fração FDM. Além disso, a fração FDM também alterou o comprimento total (F) das plântulas de *E. heterophylla*, inibindo-a em 30,22 %. Nesse caso, a fração FHEX não alterou os parâmetros analisados dessa planta daninha.





**Gráfico 3** Efeito fitotóxico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 sobre os parâmetros analisados de *E. heterophylla*.  
 Fonte: Dados da pesquisa

Ao analisar o gráfico 4 observou-se que os parâmetros, comprimento das raízes primárias (B), comprimento dos caules primários (C), biomassa seca (E) e comprimento total (F) de *U. decumbens* não foram alterados pelos tratamentos. A taxa de germinação das sementes de *U. decumbens* (A) foi inibida em 26,67 % pela fração FDM. Já a biomassa fresca foi estimulada em 87,17 % pela fração FAE. Além disso, a fração FHEX não alterou os parâmetros analisados de *U. decumbens*.



**Gráfico 4:** Efeito fitotóxico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 sobre os parâmetros analisados de *U. decumbens*.  
 Fonte: Dados da pesquisa

Os resultados obtidos para a atividade fitotóxica se apresentam como negativos ou positivos indicando efeitos inibitórios ou estimulantes, respectivamente. O fenômeno de



inibição da resposta biológica em baixas concentrações, pode estar relacionado com perturbações em processos essenciais como por exemplo: divisão celular; alteração do metabolismo energético, ou seja, a substância pode influenciar os processos necessários ao desenvolvimento da plântula, como a síntese de macromoléculas, o transporte de íons e a reparação de danos na membrana plasmática; causar um estresse oxidativo com possível comprometimento da atividade enzimática, ou geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), alterando com isto a funcionalidade das membranas; desbalanço da ação hormonal; comprometimento da integridade ou da membrana plasmática ou da parede celular; alteração das trocas gasosas, como por exemplo, assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, transpiração e a concentração intercelular de CO<sub>2</sub>; fotossíntese; estresse hídrico; mudança na síntese do DNA, entre outros (ALAM et al., 2018; MARTENDAL et al., 2018).

Já o fenômeno de estímulo da resposta biológica em baixas concentrações, seguido de inibição em concentrações mais elevadas é relativamente comum em estudos de avaliação de efeitos de aleloquímicos, e é conhecido como hormese (SALGADO et al., 2013). Esse termo, que vem do grego “hormaein”, significa “excitar”, foi originalmente definido como um comportamento bifásico, no qual uma característica biológica é estimulada por baixas doses de uma substância, mas inibida por altas doses do mesmo (DAYAN; DUKE, 2006). A confirmação deste fenômeno dá-se através de uma curva dose-resposta. Os mecanismos pelos quais essas substâncias estimulam o crescimento das plantas não são bem conhecidos, sendo que alguns aleloquímicos podem agir nos sistemas naturais de regulação do crescimento, sendo conhecidos como reguladores de crescimento (AMANULLAH; SEKAR; VINCENT, 2010). Outra possibilidade é a interferência das substâncias ativas sobre a ação dos fito-hormônios. Estes são responsáveis pela regulação do processo de germinação e pelo crescimento inicial das plantas, assim como o fazem os herbicidas mimetizadores de auxinas (DEPUYDT; HARDTKE, 2011). Neste caso, geralmente a alteração ocorre na morfologia das raízes, ocorrendo um possível aumento do comprimento, mas com afinamento das mesmas.

Somando a essas explicações, há ainda as sensibilidades diferentes de cada planta daninha aos extratos de plantas, o que não é incomum, já que vários fatores podem estar relacionados a essa sensibilidade, como: as propriedades físico-químicas das substâncias presentes nesses extratos, as diferenças nas características anatômicas, fisiológicas e bioquímicas de cada planta daninha (QUASEM; ISSA, 2018). Inclusive, já foi descrito na literatura que, por exemplo, a suscetibilidade de plantas daninhas aos extratos de plantas pode estar relacionada ao tamanho da semente (SYNOWIEC et al., 2017). Souza Filho et al. (2003) avaliou os efeitos fitotóxicos de *Calopogonium mucunoides* frente as plantas daninhas *Mimosa pudica*, *Urena lobata*, *Senna obtusifolia* e *Senna occidentalis* e os resultados obtidos mostraram que a intensidade dos efeitos fitotóxicos variaram negativamente em função do aumento do tamanho das sementes das plantas daninhas. Geralmente, espécies de sementes pequenas possuem menos reserva nutricional para sustentar a fase inicial de crescimento das plântulas do que espécies de sementes grandes e, também, possuem maior comprimento de raiz por unidade de massa de raiz, o que contribui para uma área de superfície de absorção relativamente maior através da qual os extratos ou substâncias são absorvidos (KRUIDHOF et al., 2011). Menos absorção e translocação de substâncias ou extratos ou uma maior degradação metabólica também podem contribuir para as diferentes sensibilidades das plantas daninhas (DAYAN; DUKE, 2006).

#### 4 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 resultou no isolamento de sete substâncias, os fitoesteróis sitosterol, estigmasterol, e o daucosterol, o ácido fenólico ácido vanílico, e as flavonas apigenina, apigenina-7-O-glicosídeo e luteolina-

7-O-glicosídeo. Essas substâncias estão sendo relatadas pela primeira vez na espécie BAC29 e no seu gênero, com exceção do sitosterol, apigenina, apigenina-7-O-glicosídeo e luteolina-7-O-glicosídeo. A análise dos resultados da atividade fitotóxica utilizando as frações FHEX, FDM e FAE de BAC29 mostraram que a fração FDM apresentou os melhores resultados significativos frente *A. hybridus*, sendo que FDM inibiu em 100 % essa planta daninha. Assim como, a fração FDM foi a mais eficaz, alterando pelo um dos parâmetros analisados nas cinco plantas daninhas. Já a fração FHEX se mostrou a menos eficaz em alterar os parâmetros das plantas daninhas testadas. A planta daninha mais sensível as frações testadas foi *A. hybridus*, enquanto que *U. decumbens* foi a planta daninha menos sensível. Da fração FDM foram isolados a apigenina e o ácido vanílico, os quais apresentam atividade fitotóxica relatada na literatura. Os dados obtidos corroboram o uso da espécie BAC29 na agricultura especialmente em sistemas de rotação de cultura e como cobertura morta, visto que desta espécie vegetal foram isolados compostos com potencial fitotóxico. O uso dessas estratégias pode contribuir para a redução do uso de herbicidas, o que viabiliza uma maior preservação dos recursos naturais, além de diminuir contaminações da água, de alimentos, e do próprio homem.

## REFERÊNCIAS

ALAM, M. A. et al. Potential allelopathic effects of rice plant aqueous extracts on germination and seedling growth of some rice field common weeds. **Italian Journal of Agronomy**, v. 13, n. 2, p. 134-140, 2018.

AMANULLAH, M. M.; SEKAR, S. E.; VINCENT, S. Plant growth substances in crop production. **Asian Journal of Plant Science**, v. 9, n. 4, p. 215-222, 2010.

ARANITI, F. et al. Phytotoxic activity of *Cachrys pungens* Jan, a mediterranean species: separation, identification and quantification of potential allelochemicals. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p.1071–1083, 2014.

ASADUZZAMAN, M.; ASAOA, T. Autotoxicity in beans and their allelochemicals. **Scientia Horticulturae**, v. 134, p. 26-31, 2012.

BARATELLI, T. G. et al. Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 119–125, 2012.

BASILE, A. et al. Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. **Fitoterapia**, v. 71, p. 110-116, 2000.

CAMPE, R. et al. A new herbicidal site of action: Cinmethylin binds to acyl-ACP thioesterase and inhibits plant fatty acid biosynthesis. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 148, p. 116-125, 2018.

CÉSPEDES, C. L. et al. Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora. M.T.H. KHAN, A. ATHER (Eds.), **Advances in Phytomedicine: Lead Molecules from Natural Products. Discovery and New Trends**, Elsevier B.V., Netherlands, 2006.

CHATURVEDULA, V. S. P.; PRAKASH, I. Isolation of Stigmasterol and  $\beta$ -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, p. 239-242, 2012.

COSTA, N. V et al. Métodos de controle de plantas daninhas em sistemas orgânicos: breve revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 25-44, 2018.

DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. **Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications**. Springer, Amsterdã, 2006.

DEHAGHI, N. K. et al. Phytochemistry and antioxidant activity of *Lallemantia iberica* aerial parts. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 3, p. 27-34, 2016.

DEPUYDT, S.; HARDTKE, C. S. Hormone signaling crosstalk in plant growth regulation. **Current Biology**, v. 21, p. 365-373, 2011.

DUMAS, E. et al. Fate and ecotoxicological impact of new generation herbicides from the triketone family: An overview to assess the environmental risks. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 136–156, 2017.

FREITAS, S. P.; RODRIGUES, J. C.; SILVA, C. M. M. Manejo de plantas daninhas no plantio direto da soja (*Glycine max*) sobre o milheto (*Pennisetum maximum*). **Planta Daninha**, v. 24, p. 481-487, 2006.

FUENTES-GANDARA, F. et al. Selective fractionation and isolation of allelopathic compounds from *Helianthus annuus* L. leaves by means of high-pressure techniques. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 32–41, 2019.

GHAREIB, H. R. A.; ABDELHAMED, M. S.; IBRAHIM, O. H. Antioxidative effects of the acetone fraction and vanillic acid from *Chenopodium murale* on tomato plants. **Weed Biology and Management**, v. 10, n. 1, p. 64-72, 2010.

GOMES, D. S. et al. Supressão de plantas espontâneas pelo uso de cobertura vegetal de crotalária e sorgo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 2, p. 206-213, 2014.

HERRIG, V. et al. Peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activities, phenolic acid contents, and allelochemicals-inhibited root growth of soybean. **Biological Research**, v.35, n.1, p. 1-16, 2002.

KOJIMA, H. et al. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 2351-2355, 1990.

KPOVIESSI, D. S. S. et al. Cytotoxic activities of sterols and triterpens identified by GC-MS in *Justicia anselliana* (NEES) T. Anders active fractions and allelopathic effects on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) plant. **Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie**, v. 26, p. 59-67, 2008.

KRUIDHOF, H. M. et al. Selective weed suppression by cover crop residues: effects of seed mass and timing of species' sensitivity. **Weed Research**, v. 51, p. 177–186, 2011.

LIU, F. F. et al. Assignments of 1H and 13C NMR Signals of 26 Metabolites Associated with the Shikimate Pathway. **Chinese Journal Magnetic Resonance**, v. 34, n. 3, p. 311-322, 2017.

MACÍAS, F. A. et al. Allelopathy - a natural alternative for weed control. **Pest Management Science**, v. 63, n. 4, p. 327-348, 2007.

- MARTENDAL, C. O. et al. Effects of *Ocimum gratissimum* L. extract on the germination, respiration and growth of *Euphorbia heterophylla* L. **Allelopathy Journal**, v. 44, p. 29-44, 2018.
- MORAES, P. V. D. et al. Efeito alelopático de plantas de cobertura, na superfície ou incorporadas ao solo, no controle de picão - preto. **Revista FZVA**, v. 17, p. 51-67, 2010.
- OLIVEROS-BASTIDAS, A. J. El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. **Revista Química Viva**, v. 1, p. 1-34, 2008.
- QUASEM, J. R.; ISSA, N. N. Germination and growth management of some common annual weeds by phytotoxicity of selected vegetable crops. **Scientia Horticulturae**, v. 233, p. 431–445, 2018.
- RAMESH, K. Weed Problems, Ecology, and Management Options in Conservation Agriculture: Issues and Perspectives. D. L. SPARKS (Ed.), **Advances in agronomy, volume 131**, Academic Press, Elsevier, 2015.
- RIZZARDI, M. A.; SILVA, L. F.; VARGAS, L. Controle de plantas daninhas em milho em função de quantidade de palha de nabo forrageiro. **Planta Daninha**, v. 24, p. 263-270, 2006.
- SALGADO, P. de C. et al. Avaliação do potencial citotóxico, moluscicida e alelopático dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Revista Brasileira de Biociência**, v. 11, p. 197-202, 2013.
- SENATORE, F. et al. Phytogrowth-inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum*. **Fitoterapia**, v. 78, p. 244–247, 2007.
- SILVA, L. A. L. et al. Phytochemical analysis of *Vernonanthura tweedieana* and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 375–381, 2015.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C. Efeitos alelopáticos do calopogônio em função de sua idade e da densidade de sementes da planta receptora. **Planta Daninha**, v. 21, p. 211-218, 2003.
- SYNOWIEC, A. et al. Phytotoxic potential of essential oils from temperate climate plants against the germination of selected weeds and crops. **Journal of Pest Science**, v. 90, p. 407–419, 2017.
- WU, G. et al. Characterization of a novel cold-adapted phosphinothricin N-acetyltransferase from the marine bacterium *Rhodococcus* sp. strain YM12. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 104, p. 23–28, 2014.