

Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius

Cristina Peitz de Lima^{1,3}, Miriam Machado Cunico², Roberta Rafaela Trevisan¹,
Andressa Frizzo Philippsen², Obdúlio Gomes Miguel² e Marilis Dallarmi Miguel¹

Recebido em 1/11/2010. Aceito em 22/03/2011

RESUMO

(Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius). Alelopatia é um processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas. Devido à toxicidade dos herbicidas sintéticos para o meio ambiente e para a saúde humana tem-se aumentado o interesse na exploração da alelopatia como uma alternativa para o controle de plantas daninhas. O presente trabalho avaliou efeito dos extratos dos frutos de *Euterpe edulis* Martius sobre o desenvolvimento de cipselas e plântulas de *Lactuca sativa* Linné, foram determinados o índice de velocidade de germinação, o crescimento da radícula e do hipocótilo. Para a avaliação da toxicidade dos extratos foi realizado o ensaio de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach determinando-se a CL_{50} e percentual de mortalidade. A fração remanescente demonstrou efeito alelopático, pois todas as concentrações alteraram os valores do índice de velocidade de germinação e as concentrações de 0,2 e 0,4 mg inibiram tanto o crescimento da radícula quanto o crescimento do hipocótilo. No ensaio de toxicidade todos os extratos apresentaram CL_{50} superior a 1000 ppm e 0% de mortalidade das artemias, indicando a não toxicidade dos extratos.

Palavras-chave: alelopatia, palmeira Juçara, Mata Atlântica, toxicidade

ABSTRACT

(Allelopathic effects and toxicity against *Artemia salina* Leach of extracts of the fruit of *Euterpe edulis* Martius). Allelopathy is a process involving secondary metabolites produced by plants that influence growth and development of agricultural systems. Because of the toxicity of synthetic herbicides to the environment and human health, there has been increased interest in exploiting allelopathy as an alternative for weed control. This study evaluated the effect of extracts of *Euterpe edulis* Martius fruits on the development of cypselae and seedlings of *Lactuca sativa* Linné; the germination speed index, radicle and hypocotyl growth were determined. To evaluate the toxicity of the extracts the toxicity test against *Artemia salina* Leach was used, where the LC_{50} and mortality rate were determined. The remaining fraction showed allelopathic effect, all concentrations altered the values of the index of germination speed and the concentrations of 0.2 and 0.4 mg inhibited both radicle growth and hypocotyl growth. In the toxicity test all extracts showed LC_{50} greater than 1000 ppm and mortality rate of 0%, indicating no toxicity of the extracts.

Key words: allelopathy, Atlantic Forest, Juçara palm tree, toxicity

Introdução

A alelopatia é definida como qualquer processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, microrganismos e fungos que, uma vez liberados no ambiente, influenciam o crescimento e o desenvolvimento de sistemas biológicos naturais ou implantados, seja de forma positiva ou negativa (Carmo *et al.* 2007). A alelopatia produz efeitos sobre diversidade de ecossistemas terrestres e

aquáticos, incluindo influências na sucessão de plantas e padrões de vegetação, na inibição da fixação de nitrogênio e nitrificação, na inibição da germinação e decomposição de sementes (Gorla & Perez 1997). A competição gerada pelo desenvolvimento de plantas daninhas em áreas de cultivo de culturas comerciais afeta o desenvolvimento destas, reduzindo a produtividade e a qualidade produto (Tokura & Nóbrega 2006). Além disso, disputam com as culturas os elementos nutritivos, a água, os raios solares e

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

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

³ Autor para correspondência: cristinapeitz@hotmail.com

o espaço, em virtude disso as culturas invadidas crescem mal e por vezes morrem. O uso de herbicidas sintéticos, embora seja considerado um método de controle eficaz para um número considerável de espécies de plantas daninhas, é questionado quanto ao seu impacto ambiental (Souza Filho *et al.* 2006). O uso inadequado de herbicidas aumenta a resistência de plantas daninhas a algumas classes destes pesticidas. Estudos relacionados à ação alelopática são úteis na busca de novas moléculas com ação herbicida ou reguladora do crescimento, geralmente pertencentes a classes de metabólitos secundários, menos prejudiciais ao ambiente quando comparados aos agroquímicos sintéticos (Magiero *et al.* 2009).

Os agrotóxicos ao permanecerem no ambiente ou atingirem o meio aquático, oferecem riscos para espécies animais por sua toxicidade, além da possibilidade de acumulação ao longo da cadeia alimentar. Assim, na pesquisa sobre novos herbicidas são necessários estudos de ecotoxicidade. Para estimar os efeitos deletérios de agrotóxicos sobre o ambiente, freqüentemente são utilizados testes de toxicidade aguda. Os peixes e invertebrados aquáticos são sensíveis às variações de parâmetros ambientais e por isso são utilizados como modelos para testes de poluentes (Barbieri 2004). Dentre os testes utilizados podemos destacar o ensaio de letalidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, que é utilizado para o tanto para o monitoramento de efluentes, como para a determinação da toxicidade aguda.

Ensaio de laboratório com papel de filtro e caixa Gerbox são utilizados para demonstrar a atividade alelopática de extratos e compostos. Uma das espécies mais amplamente utilizadas nos bioensaios é a alface (*Lactuca sativa* Linné), pois as cipselas (frutos) são pequenas, possuem grande área de superfície de contato, fazendo com que sejam bastante sensíveis ao meio que as rodeia, não requerendo nenhuma manipulação, além do contato com o meio (Malheiros & Peres 2001).

Visto o exposto acima tornam-se necessários estudos com extratos de plantas para avaliar o potencial alelopático bem como a toxicidade dos mesmos, para a procura de novos modelos de moléculas herbicidas. Não são relatados estudos alelopáticos sobre os frutos da espécie *Euterpe edulis* Martius, palmeira conhecida como palmito doce ou juçara, de ocorrência natural na Mata Atlântica (Lima *et al.* 2008). Sendo assim presente trabalho objetivou avaliar o efeito alelopático dos extratos do fruto *E. edulis* sobre cipselas e plântulas de *L. sativa* e além da toxicidade frente a náuplios de *A. salina*.

Material e métodos

Preparo dos extratos

Os frutos foram coletados no município de Garuva, SC. Os mesmos foram imersos em 4 L de água destilada e despulpados. A polpa foi extraída por maceração em mistura

6 L de etanol e água, por duas semanas. A polpa foi filtrada e o extrato obtido foi concentrado a um quarto do volume. Após o extrato concentrado foi particionado com solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila conforme a metodologia e em equipamento Soxhlet modificado de Carvalho *et al.* (2009), obtendo-se as frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente (fração final do extrato após a partição com todos os solventes).

Atividade alelopática

Para o teste do crescimento foi utilizado cipselas de *L. sativa* (alface), classe fiscalizada, cultivar Baba de Verão, fornecedor Top Seeds, lote 24716, com 99% de germinação detectados por meio de teste padrão de germinação. Foram preparadas soluções em concentrações decrescentes de 0,8; 0,4; 0,2 e 0,1 mg mL⁻¹ das frações da polpa, utilizando os solventes, hexano, clorofórmio, acetato de etila e água para dissolver as soluções. Um mL de cada uma das soluções foi impregnado em folha de papel Whatman número 6, o material permaneceu em estufa a uma temperatura de 50 °C por 24 horas. Após a evaporação dos solventes, os papéis de filtro correspondentes a cada diluição foram colocados em caixas gerbox sob fluxo laminar. As caixas gerbox foram previamente desinfetadas com hipoclorito de sódio. Na seqüência foram adicionados 6 mL de água destilada e distribuídas 20 cipselas de *L. sativa* em cada caixa gerbox. Após as caixas foram colocadas em um germinador Mangelsdorf, marca Biomatic, previamente regulado a uma temperatura de 24 °C. Em paralelo houve a germinação dos controles dos solventes utilizados e de água nas mesmas condições de preparo. Passados sete dias, foram efetuadas as leituras em papel milimetrado dos comprimentos da radícula e do hipocótilo.

O mesmo procedimento de preparo, com as mesmas concentrações e controles utilizados para o teste de crescimento foi realizado para o teste da germinação. Verificou-se diariamente quantas sementes germinaram na presença das frações, em comparação com os controles no período de cinco dias, uma vez que dentro deste período todas as sementes germinaram. Desta forma, foi possível avaliar se a fração inibiu ou estimulou a germinação. Os resultados foram submetidos à análise de acordo com a germinação do grupo controle. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentavam extensão radicular igual ou superior a 2 mm (Lobo *et al.* 2008).

O índice de velocidade de germinação foi calculado por meio da seguinte fórmula $IVG = G1/N1 + G2/N2 + G3/N3 + G4/N4 + G5/N5$, onde G1, G2... G5, Gn é o número de sementes germinadas e N1, N2 .. N5, Nn é o número de dias após a sementeira (Hoffmann *et al.* 2007).

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Para análise estatística, foi utilizado o programa SISVAR (Ferreira 2000) e a comparação das médias realizada por meio do teste Scott-Knott com 5% de probabilidade (Centenaro *et al.* 2009).

Ensaio de toxicidade frente aos nauplios de Artemia salina

Muitos agrotóxicos além das características alelopáticas apresentam efeitos tóxicos para o meio ambiente e para a saúde humana, uma vez que resíduos destes permanecem nos alimentos, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso, ter ação imunodepressora ou ser cancerígeno (Caldas & Souza 2000). O presente ensaio foi realizado no sentido de verificar se os extratos testados apresentam características poluidoras do meio ambiente. Uma baixa toxicidade pode ser considerada uma característica interessante para utilização de extratos vegetais com propriedades alelopáticas em ambientes naturais para controle de plantas daninhas. Para a análise foi utilizada a metodologia de (Meyer *et al.* 1982) adaptada. Os cistos de *A. salina* foram incubados em água do mar artificial (35 g de sal marinho dissolvidos em 1 L de água destilada) na concentração de 0,5 mg mL⁻¹. A cultura foi mantida sob aeração e agitação constantes, em uma temperatura entre 26 a 30 °C por 48 horas para a eclosão dos mesmos. Na primeira hora do processo foi mantida a iluminação de 20 W e o pH no período de 48 horas foi verificado e ajustado ente 8 a 9. Após a eclosão dos cistos, 10 larvas de *Artemia salina* foram transferidas para tubos contendo água artificial do mar, com três diferentes concentrações das frações obtidas do extrato da polpa do fruto de *E. edulis*: 10, 100 e 1000 ppm. Foi utilizado sulfato de quinidina como controle positivo de toxicidade nas mesmas concentrações e a água do mar artificial como controle negativo.

Os náuplios foram incubados por 24 horas, decorrido este período de contato os sobreviventes foram contados. Os dados foram analisados pelo método Probits (Finney 1962) e expressos como CL₅₀ (concentração letal média) e percentual de mortalidade. São consideradas tóxicas as substâncias quando a CL₅₀ foi menor que 1000 ppm. Resultados com 100% de mortalidade significam elevada toxicidade e de 0% sem toxicidade.

Resultados

Análise da atividade alelopática

No bioensaio do crescimento as avaliações do comprimento dos hipocótilos e das radículas das plântulas de alface submetidas às frações obtidas do extrato etanólico da polpa de *E. edulis* podem ser observados nas Tab. 1 e Tab. 2, respectivamente. Em ambos as frações hexano, clorofórmio e acetato de etila foram estatisticamente iguais ao controle água, não demonstrando assim efeito sobre o crescimento das plântulas. No entanto a fração remanescente demonstrou uma inibição sobre o crescimento da parte aérea, nas concentrações de 0,2 e 0,4 mg, indicando o potencial alelopático da mesma. Também foi demonstrado efeito alelopático da fração remanescente nestas mesmas concentrações sobre o crescimento da radícula, como pode observado na Tab. 2. A Fig. 1 representa o efeito da fração

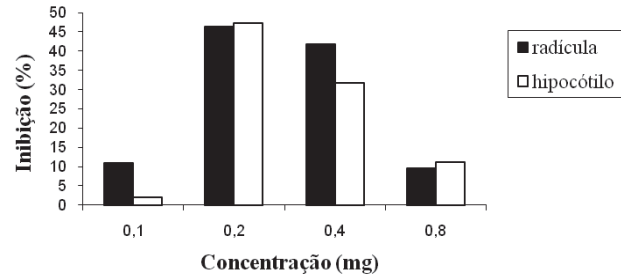


Figura 1. Efeito da fração remanescente do extrato do fruto de *E. edulis* sobre a inibição do crescimento de plântulas de *Lactuca sativa*.

remanescente sobre o percentual de inibição do crescimento, que foi calculado pela comparação da média do crescimento do controle água e a média da fração remanescente. Na concentração de 0,2 mg houve inibição do crescimento do hipocótilo em 47,29% e na concentração de 0,4 mg ocorreu 31,75% de inibição do crescimento. Da mesma forma foi verificada a inibição sobre o desenvolvimento da radícula, na concentração de 0,2 houve inibição de 46,3% e na concentração de 0,4 mg 41,76%.

A fração remanescente também alterou o índice de velocidade de germinação (Tab.3), todas as concentrações foram estatisticamente diferentes do controle, contribuindo também para o potencial alelopático desta fração. As outras frações demonstraram ser estatisticamente iguais ao controle.

Análise toxicológica

Os resultados do ensaio de toxicidade frente aos náuplios de *A. salina* podem ser observados na Tab. 4. O controle positivo sulfato de quinidina apresentou uma CL₅₀ de 50,12 ppm. Em relação à taxa de mortalidade na concentração de 1000 ppm de sulfato de quinidina, 100% das artemias morreram, na concentração de 100 ppm 80%, e na concentração de 10 ppm a taxa de mortalidade foi de 0%. Para todas as frações obtidas do extrato etanólico da polpa a CL₅₀ foi superior a 1000 ppm, e em nenhuma das concentrações testadas foi verificada a mortalidade das artemias, ou seja em todas as concentrações a taxa de mortalidade foi de 0%.

Discussão

No teste de crescimento nota-se que a fração remanescente demonstrou inibição tanto sobre o crescimento do hipocótilo e quanto o da radícula nas concentrações de 0,2 e 0,4 mg, demonstrando ação alelopática. De forma geral, as raízes mostram-se mais sensíveis à ação de substâncias presentes nos extratos quando comparados com as demais estruturas das plântulas, fato este que pode ser explicado pelas raízes estarem em contato direto com o aleloquímico (Borella & Pastorini 2009), porém este fato não ocorreu,

Tabela 1. Médias do comprimento dos hipocótilos das plântulas de alface, observados nos ensaios submetidos a diferentes concentrações das frações obtidas do extrato etanólico da polpa de *Euterpe edulis*

Tratamento	Média do comprimento \pm DP (cm)			
	FH	FC	FACoEt	FR
0,1 mg	3,70 \pm 0,42 a	3,41 \pm 0,15 a	3,89 \pm 0,36 a	2,99 \pm 0,21 a
0,2 mg	3,91 \pm 0,41 a	3,19 \pm 0,41 a	4,10 \pm 0,25 a	1,56 \pm 0,28 b
0,4 mg	3,81 \pm 0,20a	3,23 \pm 0,38 a	3,69 \pm 0,33 a	2,02 \pm 0,22 b
0,8 mg	3,97 \pm 0,22 a	3,20 \pm 0,09 a	3,78 \pm 0,24 a	3,3 \pm 0,22 a
Controle	3,62 \pm 0,27 a	2,90 \pm 0,20 a	3,28 \pm 0,14 a	2,96 \pm 0,36 a
Solventes	3,76 \pm 0,23 a	3,23 \pm 0,27 a	3,28 \pm 0,47 a	3,2 \pm 0,23 a

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (n=20). FH = fração hexano; FC = fração clorofórmio, FACoEt = fração acetato de etila; FR = fração remanescente

Tabela 2. Médias do comprimento das radículas das plântulas de alface, observados nos ensaios submetidos a diferentes concentrações das frações obtidas do extrato etanólico da polpa de *Euterpe edulis*.

Tratamento	Média do comprimento \pm DP (cm)			
	FH	FC	FACoEt	FR
0,1 mg	4,24 \pm 0,28 a	4,03 \pm 0,38 a	3,89 \pm 0,17 a	3,73 \pm 0,23 a
0,2 mg	4,0 \pm 0,32 a	4,01 \pm 0,21 a	4,48 \pm 0,16 a	2,25 \pm 0,68 b
0,4 mg	3,64 \pm 0,46 a	3,99 \pm 0,37 a	4,29 \pm 0,41 a	2,44 \pm 0,25 b
0,8 mg	3,70 \pm 0,44 a	3,81 \pm 0,27 a	4,60 \pm 0,07 a	3,79 \pm 0,34 a
Controle	4,21 \pm 0,07 a	3,81 \pm 0,24 a	3,56 \pm 0,34a	4,19 b \pm 0,09 a
Solventes	4,17 \pm 0,08 a	4,16 \pm 0,57 a	3,84 \pm 0,68 a	3,88 \pm 0,35 a

Médias e desvio padrão seguidos da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (n=20). FH = fração hexano; FC = fração clorofórmio, FACoEt = fração acetato de etila; FR = fração remanescente.

Tabela 3. Médias do índice de velocidade de germinação de cipselas de alface, observados nos ensaios de diferentes concentrações das frações obtidas do extrato etanólico da polpa de *Euterpe edulis*.

Tratamento	IVG			
	FH	FC	FACoEt	FR
0,1 mg	4,75 a	5,0 a	3,95a	4,25 b
0,2 mg	4,75 a	5,0 a	3,83 a	3,75 c
0,4 mg	4,75 a	4,75 b	3,83 a	3,50 c
0,8 mg	4,50 a	5,0 a	3,70 a	3,50 c
Controle	5,0 a	5,0 a	4,50 a	4,75 a
Solventes	5,0 a	5,0 a	4,25 a	4,75 a

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (n=5). FH = fração hexano; FC = fração clorofórmio, FACoEt = fração acetato de etila; FR = fração remanescente.

pois a inibição do crescimento foi proporcional em ambas as estruturas na concentração de 0,2 mg, no entanto na concentração de 0,4 mg foi observado maior sensibilidade da radícula ao extrato

É importante salientar que a natureza química dos aleloquímicos é muito diversa e alguns só atuam em presença de outros, em combinações e proporções específicas, sendo difícil distinguir e identificar os efeitos individuais, devido à complexidade biológica do processo. (Pereira *et al.* 2008).

Assim pode-se explicar a maior atividade alelopática apresentada pela concentração 0,2 mg.

A fração remanescente além de inibir o crescimento das plântulas também modificou o índice de velocidade de germinação, todas as concentrações foram estatisticamente diferentes do controle. As alterações nos padrões de germinação podem resultar em efeitos sobre a permeabilidade das membranas, transcrição e tradução do DNA, funcionamento de mensageiros secundários, na respiração com o

Tabela 4. Teste de toxicidade para *A. salina* das frações obtidas do extrato etanólico da polpa de *E. edulis*.

Tratamento	CL ₅₀ (ppm)	Intervalo de confiança de 95% (ppm)	Concentração (ppm)	Percentual de mortalidade (%)
Fração hexano	> 1000	-	10	0%
			100	0%
			1000	0%
			10	0%
Fração clorofórmio	> 1000	-	100	0%
			1000	0%
			10	0%
			100	0%
Fração acetato de etila	> 1000	-	100	0%
			1000	0%
			10	0%
			100	0%
Fração remanescente	> 1000	-	100	0%
			1000	0%
			10	0%
			100	0%
Sulfato de quinidina	50,12	35,8-70,16	100	80%
			1000	100%

seqüestro de oxigênio pelos fenóis e formação de enzimas (Ferreira & Aquila 2000). A fração remanescente apresenta compostos fenólicos, alguns compostos fenólicos podem atuar como inibidores da germinação (Ducca & Zonetti 2008), justificando os resultados encontrados. As sementes com IVG alterado levam mais tempo para germinar, pois possuem maior dificuldade para alongar o sistema radicular, uma vez que ficam mais tempo em contato com os aleloquímicos (Hoffmann *et al.* 2007). Os resultados evidenciam que a fração remanescente diminuiu a velocidade de desdobramento e translocação dos componentes nutritivos, conseqüentemente diminuindo a velocidade de germinação e o desenvolvimento das estruturas.

O ensaio de toxicidade frente aos náuplios de *A. salina* é utilizado como método alternativo para a determinação da toxicidade, pois demonstra a sensibilidade da *A. salina* a substâncias tóxicas (Utyama *et al.* 2007). Os testes de toxicidade são necessários para avaliar a poluição aquática, uma vez os testes físico-químicos não são eficazes para detectar os efeitos deletérios causados à biota, bem como não detectam várias classes de compostos químicos poluentes (Barbieri 2004). Devido a sua ampla distribuição geográfica e resistência ambiental, a *Artemia* sp é utilizada para inúmeros estudos de ecotoxicidade e na avaliação de produtos como pesticidas, derivados do petroquímicos e dispersantes, metais pesados, derivados carcinogênicos e metabólitos de microorganismos desde a década de 50 (Bevilacqua *et al.* 2008). Em relação ao presente ensaio foi verificado que as frações obtidas do extrato etanólico apresentaram uma CL₅₀ superior a 1000 ppm indicando que as frações não são tóxicas, também foi verificado 0% de mortalidade nas concentrações estudadas, confirmando a não toxicidade das frações.

A aplicação indiscriminada de agrotóxicos afeta tanto a saúde humana quanto ecossistemas naturais. Os impactos na saúde podem atingir tanto os aplicadores dos produtos, os membros da comunidade e os consumidores dos alimentos contaminados com resíduos (Soares *et al.* 2003). O desejo crescente de substituir os insumos químicos sintéticos nos agroecossistemas por materiais produzidos naturalmente motiva pesquisas aplicadas à alelopatia, isto porque os benefícios da pesquisa alelopática podem ser utilizados para melhorar a sustentabilidade dos sistemas de produção e a conservação da vegetação natural ou seminatural, pois representam uma alternativa biológica com ação específica e menos prejudicial ao meio ambiente (Tur *et al.* 2010). Porém os produtos naturais estão sujeitos aos mesmos problemas tóxicos dos pesticidas. Assim pesquisas alelopáticas devem estar associadas a estudos de ecotoxicidade e toxicidade para humanos, uma vez que substâncias desenvolvidas e utilizadas como agrotóxicos podem causar danos ao meio ambiente e a saúde humana.

Com base nos resultados e nas condições em que foram realizados os experimentos, conclui-se que a fração remanescente do extrato da polpa de *E. edulis* demonstrou efeito alelopático sobre cipselas e plântulas de *L. sativa*, bem como ausência de toxicidade frente aos náuplios de *A. salina*. Mais estudos devem ser conduzidos com espécies invasoras e com ensaios alelopáticos de campo a fim de complementar a aplicação da fração remanescente na pesquisa de novos modelos de herbicidas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pela bolsa de estudos concedida a primeira autora, e a Andrey Pabst, da empresa Alicon Alimentos, pelo fornecimento do material vegetal.

Referências bibliográficas

- Barbieri, E. Emprego de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes) e *Artemia salina* (Crustacea) para determinar a toxicidade aguda da água de produção de petróleo em Sergipe, Brasil. 2004. **Biologia Geral e Experimental** 5: 26-29.
- Bevilacqua, A.H.V.; Suffredini, I.B. & Bernardi, M.M. 2008. Toxicidade de Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), em *Artemia* SP: comparação da preparação comercial e do óleo puro. 2008. **Revista Instituto Ciências Saúde** 26: 157-160.
- Borella, J. & Pastorini, L.H. 2009. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Revista Biotemas** 22: 67-75.
- Caldas, E.D. & Souza, L.C.D. 2000. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública** 34(5): 529-37.
- Carmo, F.M. da S.; Borges, E.E. de L. & Takaki, M. 2007. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botânica Brasileira** 21: 697-705.
- Carvalho, J.L. de S.; Cunico, M.M.; Dias, J. de F.G.; Miguel, M.D. & Miguel, O.G. 2009. Termoeabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., Brassicaceae por sistema soxhlet modificado. **Química Nova** 32: 1031-1035.
- Centenaro C.; Corrêa L.G.P.; Karas M.J.; Virtuoso S.; Dias J.F.G.; Miguel O.G. & Miguel M.D. 2009 Contribuição ao estudo alelopático de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae. **Revista Brasileira Farmacognosia** 19: 304-8.
- Ducca, F. & Zonetti, P. da C. 2008. Efeito alelopático do extrao aquoso da aveia preta (*Avena strigosa* Schreb) na germinação e desenvolvimento de soja (*Glycine max* L. Merrill). **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente** 1: 101 -109.
- Ferreira, D.F. 2000. Sistema de análises de variância para dados balanceados. (SISVAR). **Pacote computacional**. Lavras, UFLA.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 12: 175-204.
- Finney, D.J. 1962. **Probit Analysis**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Lima, L.S.H.; Franco, E.T.H. & Schumacher, M.V. 2008. Crescimento de mudas de *Euterpe edulis* Martius em resposta a diferentes doses de fósforo. **Ciência Florestal** 18: 461-70.
- Gorla, M. & Perez, S.C.J.G.A. 1997. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes** 19: 260-265.
- Hoffmann, C.E.F.; Neves, L.A. das; Bastos, C.F. & Wallau, G. da L. 2007. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias** 6: 11-21.
- Lobo, L.T.; Castro, K.C.F.; Arruda, M.S.P.; Silva, M.N. da; Arruda, A.C.; Müller, A.H.; Arruda, G. M.S.P.; Santos, A.S. & Souza Filho, A.P. da S. 2008. Potencial alelopático de catequinas de *Tachigali myrmecophylla* (Leguminosae). **Química Nova** 31: 493-497.
- Malheiros, A. & Peres, M.T.L.P. 2001. Alelopatia: interações químicas entre espécies. Pp: 504-523. In: Yunes, R.A. & Calixto, J.B. (Eds). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, Ed. Argos.
- Magiero, E.C.; Assmann, J.M.; Marchese, J.A.; Capelin, D.; Paladini M.V. & Trezzi, M.M. 2009. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** 11: 317-324.
- Meyer, B.N.; Ferrigni, N.R.; Putnam, J.E.; Jacobsen, L.B.; Nichols, D.E. & McLaughlin, L.J. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica** 45: 31- 34.
- Milhome, M.A.L.; Sousa, D. de O.B. de; Lima, F. de A.F. & Nascimento, R.F. do. 2009. Avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas aplicados na agricultura do Baixo Jaguaribe, CE. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental** 14: Pp. 363-372.
- Pereira, B.F.; Sbrissia, A.F. & Serrat, B.M. 2008. Alelopatia intra-específica de extratos aquosos de folhas e raízes de alfafa na germinação e no crescimento inicial de plântulas de dois materiais de alfafa: crioulo e melhorado. **Ciência Rural** 38: 561-564.
- Soares, W.; Moritz, R.V.R. & Moro, S. 2003 Trabalho rural e fatores de risco associados ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, **Cadernos de Saúde Pública** 19(4): 1117-1127.
- Souza Filho, A.P.S.; Santos, R.A.; Santos, L.S.; Guilhon, G.M.P.; Santos, A.S.; Arruda, M.S.P.; Muller, A.H & Arruda, A.C. 2006. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha** 24: 649-656.
- Tokura, L.K. & Nóbrega, L.H.P. 2006. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Scientiarum Agronomy** 28: 379-384.
- Tur, C.M.; Borella, J. & Pastorini, L.H. 2010. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. **Revista Biotemas** 23: 13-22.
- Utyama, I.K.A; Andrade, D. de; Watanabe, E.; Pimenta, F.C. & Ito, I.Y. 2007. Determinação da atividade antibacteriana e toxicidade do ácido acético e vinagres branco e tinto. **Revista Eletrônica de Farmácia** IV: 202-207