



Análise fitoquímica e potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Protium calendulinum* (Burseraceae) na germinação de *Lactuca sativa*

Phytochemical analysis and allelopathic potential of the ethanolic extract of the leaves of *Protium calendulinum* (Burseraceae) in the germination of *Lactuca sativa*

Andreia Crizostomo Barata⁽¹⁾; Nicanor Tiago Bueno Antunes⁽²⁾;
Ruth Crisostomo Paiva⁽³⁾; Sâmia Raysa Pinto Nogueira⁽⁴⁾; Jander Savedra Nunes⁽⁵⁾;
Odineia do Socorro Pamplona Freitas⁽⁶⁾

⁽¹⁾ORCID: 0000-0002-2975-5947, Graduanda em Ciências: Química e Biologia; Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Itacoatiara, Amazonas; BRAZIL. Email: andreia.crizostomo@outlook.com;

⁽²⁾ORCID: 0000-0002-9101-340X, Mestre em Ciências Biológicas (Entomologia); Instituto de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas; BRAZIL. Email: tiagobueno.a@hotmail.com;

⁽³⁾ORCID: 0000-0003-2233-7176, Graduanda em Ciências: Química e Biologia; Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Itacoatiara, Amazonas; BRAZIL. Email: ruth.crisostomo@outlook.com;

⁽⁴⁾ORCID: 0000-0001-8154-6184, Mestre em Ciências e Tecnologia para Recursos Amazônicos; Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Itacoatiara, Amazonas; BRAZIL. Email: samia.nogueira17@gmail.com;

⁽⁵⁾ORCID: 0000-0003-3512-9114, Mestre em Ciências e Tecnologia para Recursos Amazônicos; UFAM, Itacoatiara, Amazonas; BRAZIL. Email: jsavedranunes@hotmail.com;

⁽⁶⁾ORCID: 0000-0003-3512-9114 Docente do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) da UFAM, Itacoatiara, Amazonas, BRAZIL. Email: odineia@ufam.edu.br.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 13 de março de 2020; Aceito em: 17 de junho de 2020; publicado em 10 de 10 de 2020. Copyright© Autor, 2020.

RESUMO: A maioria dos estudos químicos de *Protium* investigam principalmente os óleos essenciais extraídos da resina. No entanto, não há informações quanto à composição química do extrato das folhas, e quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes. Este trabalho descreve a identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico obtido das folhas de *Protium calendulinum* e a investigação do seu potencial alelopático sobre *Lactuca sativa*. As folhas de *P. calendulinum* foram coletadas em julho de 2019, na área de vegetação da Universidade Federal do Amazonas - UFAM. Para a obtenção do extrato etanólico bruto (EB), foram adicionados 3 litros de álcool etílico 96% sobre 3 kg de folhas. A solução foi deixada em repouso por 15 dias e submetida à destilação em rotaevaporador a 70° C. A prospecção fitoquímica do extrato EB foi realizada qualitativamente. Também foram feitas análises espectrofotométricas de varredura do EB no intervalo de 240 nm a 700 nm. Para o teste de alelopatia, o EB foi diluído nas concentrações de 125 mg/L⁻¹, 250 mg/L⁻¹, 500 mg/L⁻¹ e 1000 mg/L⁻¹. Foi determinada a condutividade elétrica das concentrações do extrato e os valores utilizados para determinar o potencial osmótico. Para o bioensaio de alelopatia foram colocadas 50 sementes de *L. sativa* em placas de Petri, com papel filtro e adicionados 04 mL das concentrações. Para o controle negativo utilizou-se água destilada. O potencial alelopático foi avaliado por meio da porcentagem de germinação, Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento do hipocótilo e radícula. Posteriormente, determinou-se a concentração de clorofila e carotenoides das plântulas. Para avaliar o efeito das concentrações sobre porcentagem de germinação, IVG, comprimento do hipocótilo e da radícula foi utilizada regressão linear, seguida da análise de variância (Teste F). Os resultados fitoquímicos do extrato de *P. calendulinum* evidenciaram a presença de flavonas, saponinas, catequinas, fenóis e antocianinas. Aliado aos resultados da prospecção fitoquímica, os dados da análise espectrofotométrica confirmaram a presença de uma ampla variedade de metabólitos na faixa entre 240 a 400 nm. Os resultados do potencial osmótico variaram entre -0,0003 MPa e -0,0011 MPa e estão de acordo com o limite de tolerância. Já para o potencial alelopático, foi observado que com o aumento da concentração do extrato houve redução significativa na germinação, IVG, hipocótilo e radícula (p < 0,01). Tais efeitos corroboram os resultados da prospecção fitoquímica, uma vez que, flavonas e saponinas em elevadas concentrações afetam a porcentagem de germinação, retardam o IVG e reduzem o crescimento do hipocótilo e radícula. Também houve redução dos teores de clorofila b nas plântulas conforme o aumento da concentração do extrato EB. As substâncias identificadas nesse estudo podem estar associadas ao elevado potencial alelopático apresentado pelo extrato EB das folhas de *P. calendulinum*, mesmo em baixas concentrações. Essas substâncias podem contribuir para a caracterização e futuros estudos relacionados a essa espécie.

PALAVRAS-CHAVES: Metabólitos secundários, aleloquímicos, farmacologia.

ABSTRACT: Most *Protium* chemical studies mainly investigate essential oils extracted from the resin. However, there is no information regarding the chemical composition of the leaf extract, and when there are no chemical studies on the species, the phytochemical analysis can identify the relevant secondary metabolite groups. In this context, the aim of the study was to identify the secondary metabolites of the ethanolic extract, obtained from the leaves of *Protium calendulinum* and to investigate their allelopathic potential on *Lactuca sativa*. *P. calendulinum* leaves were collected in July 2019, in the vegetation area of the Federal University of Amazonas - UFAM. To obtain the crude ethanolic extract (CEE), 3 liters of 96% ethyl alcohol on 3 kg of leaves were added. The solution was left to stand for 15 days and subjected to distillation in a rotary evaporator at 70° C. The phytochemical prospecting of the CEE as carried out in a qualitative way. CEE spectrophotometric analyzes were also performed, measured in the range of 240 nm to 700 nm. For the allelopathy test, EB was diluted in the following concentrations: 125 mg/L⁻¹, 250 mg/L⁻¹, 500 mg/L⁻¹ and 1000 mg/L⁻¹. The electrical conductivity of the extract concentrations was determined, and the values used to determine the osmotic potential. The allelopathy bioassay was carried out on *L. sativa* seeds, 50 seeds were placed in Petri dishes and then added 04 mL of the concentrations. For the negative control, distilled water was used. The allelopathic potential was evaluated by means of the germination percentage, IVG (Germination Speed Index), length of the hypocotyl and radicle. After the test, the chlorophyll and carotenoid assay were performed. To assess the effect of concentrations on percentage of germination; IVG; length of the hypocotyl and length of the radicle, linear regression was used, followed by analysis of variance (Test F). The results obtained in the phytochemical prospecting of the extract of *P. calendulinum* showed the presence of Flavones, Saponins, Catechins, Phenols and Anthocyanins. Coupled with the results of phytochemical prospecting, the spectrophotometric analysis data confirm the presence of a wide variety of metabolites in the range between 240 and 400 nm. For the osmotic potential, the results obtained varied between -0,0003 MPa and -0,0011 MPa, and are in accordance with the tolerance limit. The results demonstrate that the increased concentration of the extract had a significant effect on germination, IVG, hypocotyl and radicle (p < 0.01). This effect corroborates the results of phytochemical prospecting, since flavones and saponins in high concentrations affect the germination percentage, delay the speed with which the seeds germinate and reduce the growth of the hypocotyl and radicle. The levels of chlorophyll b decreased as the CEE concentration increased. The results obtained reveal the presence of different classes of secondary metabolites present in the extract of the leaves of *P. calendulinum*. And, possibly, due to the presence of these compounds, the extract has a high allelopathic potential, affecting the germination and initial growth of *L. sativa*, even in low concentrations.

KEYWORDS: Secondary metabolites, allelochemicals, pharmacology.

INTRODUÇÃO

Burseraceae é uma família botânica que se destaca nas pesquisas farmacológicas, na consolidação de atividades terapêuticas de longa duração e nas descobertas de novas propriedades associadas as resinas, presentes na maioria das espécies (SIANI et al., 1999). A família possui 649 espécies classificadas em 18 gêneros (PLANT LIST, 2013), com distribuição em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, em parte da Europa, Ásia e Oceania (DALY; FINE, 2011). No Brasil, ocorrem cinco gêneros e 112 espécies, com a maioria das espécies nativas na região Amazônica (FLORA DO BRASIL, 2020). Dentre esses gêneros, na região Amazônica, destaca-se *Protium* Burm. F., com 70 espécies descritas (FINE et al., 2005).

Dessas espécies, *Protium calendulinum* Daly possui uma distribuição difundida na Guiana Francesa, Peru, Venezuela, Equador, Colômbia e Brasil (TROPICOS, 2020). Ocorre em terras altas e raramente em florestas baixas, encontradas tipicamente em solos argilosos e argilo-arenosos (DALY, 2007). Sabe-se que a espécie floresce de setembro a janeiro, e seus frutos são colhidos principalmente em setembro a abril (DALY, 2007).

A composição química de *P. calendulinum* ainda é desconhecida, pois não há estudos disponíveis na literatura que abordem o assunto. No entanto, para o gênero há diversos trabalhos, principalmente voltados aos óleos essenciais extraídos da resina, como os estudos realizados para *P. giganteum* e *P. aracouchine* (FREITAS et al., 2011), *P. grandifolium*, *P. hebetatum*, *P. paniculatum* e *P. subserratum* (DÍAZ et al., 2011) e poucos estudos realizados com extratos etanólico, obtido das folhas, em que foi verificado a presença de cumarinas, esteróides, flavonóides, lignanas e outros derivados (e.g. RUDIGER; SIANI; JUNIOR, 2007; COSTA et al., 2012; ZOGHBI et al., 1993). Em geral, essas substâncias descritas para o gênero possuem atividade alelopática (MEDEIROS, 1990; MALHEIROS; PERES, 2001; MACIAS; GALINDO; MOLINILO, 2005; FUJII; HIRADATE, 2007; OTUSANYA; ILORI, 2012).

A atividade alelopática pode ser definida como o processo que envolve metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos, que afetam o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas (IAS, 1996; OLIVEROS; BASTIDAS et al., 2009). De modo mais amplo, a alelopatia pode ser

referida tanto para inibição quanto para o estímulo ao desenvolvimento da planta (RICE, 1984). Para confirmar o efeito alelopático de determinadas substâncias é necessário realizar bioensaios, o qual utiliza o material biológico para indicar a ação das substâncias sobre um determinado organismo (PIRES et al., 2001).

Diante do exposto, o objetivo do estudo foi identificar os metabólitos secundários do extrato etanólico obtido das folhas de *P. calendulinum* e investigar o seu potencial alelopático sobre *Lactuca sativa* L.

MATERIAL E MÉTODO

As folhas de *Protium calendulinum* foram coletadas em julho de 2019, na área de vegetação da Universidade Federal do Amazonas – UFAM (3°05'22.7" S; 59°57'45.66" W), em Manaus, Amazonas. A espécie foi identificada pelo botânico MSc. Magno Luís Vásquez Pilco, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen (Cod. ACC384B).

Para a obtenção do extrato etanólico bruto (EB), foi utilizado o método proposto por Freire (2015), em que foram adicionados 3 litros de álcool etílico 96% sobre 3 kg de folhas trituradas. A solução foi deixada em repouso a temperatura ambiente por 15 dias e, posteriormente, a solução foi filtrada e submetida à destilação em rotaevaporador a 70° C.

A prospecção fitoquímica do EB foi realizada por método qualitativo, baseado em princípios colorimétricos, de acordo com o método descrito por Matos (2009). Os metabólitos secundários investigados foram: flavonas, flavonoides, taninos, saponinas, catequinas, fenóis, leucoantocianidinas, antocianidinas, antocianinas e chalconas. Os resultados foram comparados com o grupo controle (em branco) e entre si para visualizar alteração de cor ou precipitação. A presença da classe de metabólito secundário foi registrada como positivo (+) e a ausência de cor e precipitação como negativo (-). Também foram feitas análises espectrofotométricas do extrato EB. Os espectros foram medidos no intervalo de 240 nm a 700 nm, em espectrômetro modelo

UV5200- Global Trade Technology, com cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico.

Para o teste de alelopatia, o extrato EB foi diluído nas seguintes concentrações: 125 mg/L⁻¹, 250 mg/L⁻¹, 500 mg/L⁻¹ e 1000 mg/L⁻¹. Foi determinada a condutividade elétrica (CE) das concentrações do extrato com auxílio de condutivímetro e os valores utilizados para determinar o potencial osmótico (PO), pela fórmula proposta por Ayers e Westcot (1994), em que o potencial osmótico em atmosfera (ATM) = - 0,36* CE, com posterior transformação dos dados de ATM para MPa. O limite de tolerância do PO foi fixado a -0,2 MPa, para que não interferisse nas variáveis avaliadas (GATTI; PEREZ; LIMA, 2004; OLIVEIRA et al., 2012).

A análise do potencial alelopático das concentrações do EB de *P. calendulinum* foi realizado sobre sementes de *Lactuca sativa* L. (alface), de acordo com o método descrito por Macías et al. (2005). Assim, 50 sementes de *L. sativa* foram colocadas em cada placa de Petri (90 mm x 10 mm) com papel Whatman nº 6 e adicionados 4,0 mL das concentrações do EB. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada concentração e como controle negativo, utilizou-se 4,0 mL água destilada.

Todas as placas foram incubadas em câmara de germinação e crescimento por 7 dias, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. O ensaio foi concluído quando observada a paralisação da germinação por 3 dias consecutivos. O potencial alelopático foi avaliado de acordo com Maguire (1962), por meio da porcentagem de germinação, Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento do hipocótilo e da radícula.

Após o teste de germinação e crescimento, foi realizado o ensaio de clorofila total, pelo método proposto por Souza et al., (2014), em que 10 plântulas primárias foram cortadas e transferidas para tubos de ensaio com 5,0 mL de etanol 96%. Os tubos foram embrulhados em papel alumínio e deixados em temperatura ambiente por 24 horas. As leituras de absorbâncias de todas as soluções foram feitas com espectrofotômetro a 666 nm para clorofila A (TChlCa), 653 nm para clorofila B (TChlCb) e 470 nm para carotenoides (TCarC). Os teores foram calculados conforme as equações (1), (2) e (3) e os resultados expressos em mg/g.

Equação 1.

$$TChlCa = (15.65 \times A_{666}) - (7.340 \times A_{653})$$

Equação 2.

$$TChlCb = (27.05 \times A_{653}) - (11.21 \times A_{666})$$

Equação 3.

$$TCarC = (1000 \times A_{470}) - (2.860 \times TChlCa) - (129,2 \times [TChlCb/245])$$

O teor de clorofila total (TChlC) foi determinado pela soma aritmética dos teores de TChlCa e TChlCb. Este ensaio foi realizado conforme descrito por Dere, Gunes e Sivaci (1998).

Para a análise dos dados, foi considerado como variável independente as concentrações testadas do extrato EB e como variáveis dependentes: porcentagem de germinação; IVG; comprimento do hipocótilo e comprimento da radícula. A normalidade dos dados foi testada por Shapiro-Wilk e foi considerado que os valores das variáveis dependentes não diferiram de uma distribuição normal, com $p > 0,05$.

Para avaliar o efeito das concentrações sobre as variáveis dependentes foi utilizado de regressão linear, seguida da análise de variância (Teste F), para verificar se a inclinação obtida diferiu de zero. Todas as análises foram feitas com o software estatístico GraphPad Prism, versão 7.00 (GraphPad Software Inc., 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *P. calendulinum* evidenciaram a presença dos seguintes metabolitos secundários: Flavonas, Saponinas, Catequinas, Fenóis e Antocianinas (Tabela 1).

Tabela 1. Prospecção fotoquímica do extrato etanólico das folhas de *P. calendulinum*.

Metabólitos Secundários	Resultados
Flavonas	+
Flavonoides	-
Taninos	-
Saponinas	+
Catequinas	+
Fenóis	+
Leucoantocianidinas	-
Antocianidinas	-
Antocianinas	+
Chalconas	-

Parâmetros: presente (+); ausente (-)

Cada classe de metabólitos secundários inclui compostos que possuem diversas atividades biológicas, as flavonas, por exemplo, podem atuar como protetores da luz ultravioleta (co-pigmentos), contra insetos (dissuasores alimentares), fungos, vírus e bactérias; como antioxidantes inibidores de enzimas e agentes alelopáticos (VARGAS-SIMON et al., 2000). Já, as saponinas possuem ações farmacológicas como anti-inflamatória, larvicida, hipocolesterolemiantes, expectorante, ventrópica, moluscicida e cicatrizante (LOPES et al., 2011).

Catequinas, por sua vez, pertencem a um grupo de polifenóis e possuem uma série de atividades biológicas, como antioxidantes, quimioprotetora, termogênicas, anti-inflamatória e anticarcinogênica (SCHMIDT et al., 2008), protegem o organismo contra os efeitos dos radicais livres, auxiliando na prevenção contra doenças cardiovasculares, diabetes e envelhecimento acelerados (SIMÕES et al., 2010). A presença de compostos fenólicos na planta, sejam fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SOUZA et al., 2007) sugerem que o extrato tem potencial atividade anti-inflamatória.

Já as antocianinas possuem potencial farmacológico e atuam como antioxidante, anti-inflamatório, inibição da oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL), diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares e de câncer (CARDOSO; LEITE; PELUZIO, 2011).

Aliado aos resultados da prospecção fitoquímica, os dados da análise espectrofotométrica confirmam a presença de uma ampla variedade de metabólitos na

faixa entre 240 e 400 nm (figura 1). Dentro desse intervalo do espectro, é possível detectar a presença de algumas substâncias, como antocianinas, com comprimento de onda entre 260 a 280 nm (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008); flavonas, entre 304 e 350 nm (SIMÕES et al., 2000); e saponinas, entre 200 a 400 nm (VIGO; NARITA; MARQUES, 2003). Para comprimentos de onda acima de 400 nm, não foi detectado valores representativos de absorbância. Em geral, valores entre 405 e 420 nm são característicos para a presença de flavonoides e taninos (SOBRINHO et al., 2008; MARQUES et al., 2012; GRANATO et al., 2013), os quais não foram detectados nesse estudo.

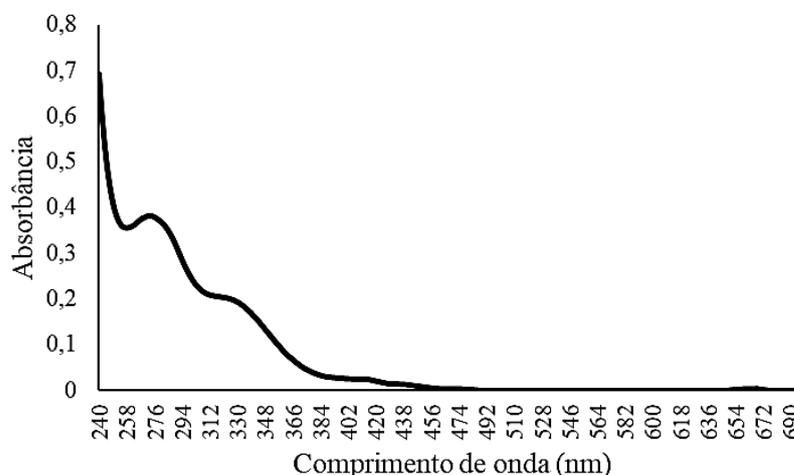


Figura 1. Perfil obtido por espectrofotometria em 240 nm a 700 nm, do extrato etanólico das folhas de *P. calendulinum*.

Para o potencial osmótico, os resultados obtidos variaram entre -0,0003 MPa, na menor concentração, e -0,0011 MPa, na maior concentração (Tabela 2).

Tabela 2. Potencial osmótico das diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *P. calendulinum*.

Concentração (mg/L ⁻¹)	Potencial osmótico (MPa)
125	-0.0003
250	-0.0005
500	-0.0007
1000	-0.0011

Assim, verifica-se que os resultados estão de acordo com o limite de tolerância recomendado, o qual deve estar abaixo de $-0,2$ MPa para ser ideal e não interferir nas variáveis avaliadas (GATTI; PEREZ; LIMA, 2004; OLIVEIRA et al., 2012). A verificação do potencial osmótico é fundamental em avaliações de efeito alelopático, devido ocorrer interferência nos resultados da alelopátia, pois atua diretamente na fase de ativação do metabolismo durante a embebição da semente (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Os resultados da regressão linear e da análise de variância (Teste F) evidenciam que o aumento da concentração do extrato etanólico teve um efeito significativo nas variáveis germinação, IVG, hipocótilo e radícula, testadas na alelopátia ($p < 0,01$) (Figura 2).

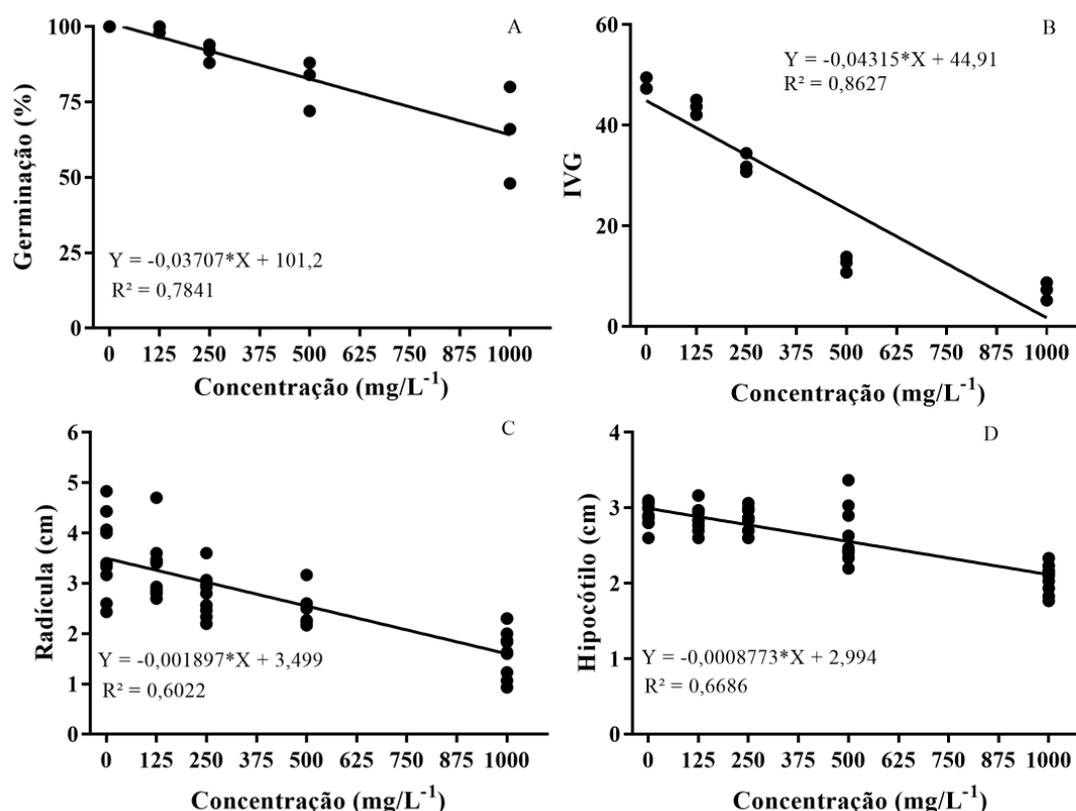


Figura 2. Análises de regressão linear das variáveis: porcentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (IVG) (B), comprimento da radícula (C) e comprimento do hipocótilo (D), das plântulas de *L. sativa*, submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *P. calendulinum*.

Esse efeito corrobora os resultados da prospecção fitoquímica, uma vez que, flavonas e saponinas, em elevadas concentrações, afetam a porcentagem de germinação e retardam a velocidade com que as sementes germinam (Figura 2A e 2B) (ZUANAZZI, 2000; SOUZA et al., 2005; MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2006; TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010; GRISI et al., 2012). Estas substâncias alteram vários processos fisiológicos e bioquímicos, como as estruturas citológicas, permeabilidade da membrana, absorção de minerais, movimento dos estômatos, síntese de pigmentos, produção de fotossíntese, síntese de proteínas, respiração celular, atividade enzimática, relações hídricas e no material genético, induzindo alterações no DNA e RNA (ALMEIDA, 1988; SIQUEIRA, 1991; RIZVI; RIZVI, 1992).

Na figura 2C e 2D, evidenciou-se que o aumento das concentrações do extrato EB promovem uma redução no crescimento do hipocótilo e radícula das plântulas. Em muitos casos, observa-se que uma substância pode estimular o crescimento vegetal em baixas concentrações e inibir em concentrações mais altas, como o observado nesse estudo (RICE, 1984; RICE, 1992; SOUZA et al., 2005).

Os teores de clorofila total, clorofila a e carotenoides não foram influenciados pelas diferentes concentrações do extrato etanólico (Teste F, $p > 0,05$). Já para clorofila b há uma redução do teor conforme o aumento da concentração do EB (Teste F, $p = 0,04$) (Figura 3).

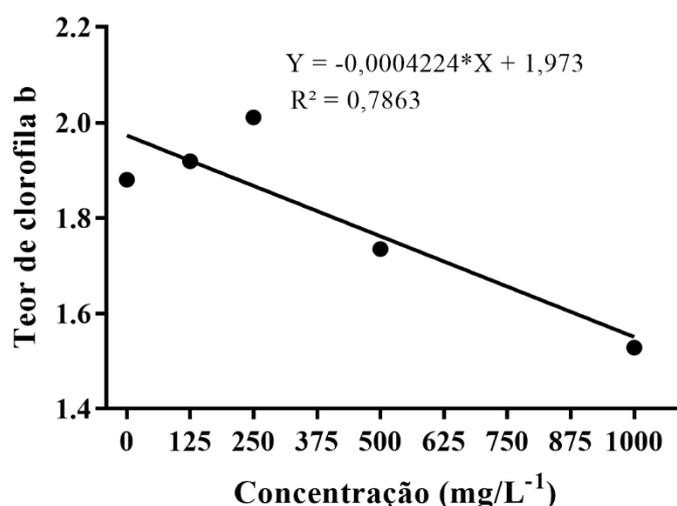


Figura 3. Resultado das análises de regressão linear do teor de clorofila b das plântulas de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *P. calendulinum*

As moléculas de clorofila constituem um sistema de pigmentos responsáveis pela absorção e transferência de energia radiante (FERRI, 2004) e os aleloquímicos podem inibir a fotossíntese por induzir mudanças nessas moléculas (CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007). Os aleloquímicos responsáveis pela inibição da fotossíntese são os fenóis, presente no EB de *P. calendulinum*, que altera o transporte de elétrons e a fosforilação nos fotossistemas (RIZVI; RIZVI 1992).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam a presença de diferentes classes de metabólitos secundários no extrato etanólico das folhas de *Protium calendulinum*. E, possivelmente, devido à presença desses compostos, o extrato possui um elevado potencial alelopático, afetando a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa*, mesmo em baixas concentrações. Estas informações poderão ser úteis para descoberta de novos compostos, que servirão de base para futuras pesquisas farmacológicas e para o desenvolvimento de compostos bioativos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e apoio técnico para realização dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, F.S. A alelopátia e as plantas. *Circular*, n. 53, p. 60, Londrina, 1988.
2. AYERS, R.S; WESTCOT, D.W. *Water quality for agriculture*. (FAO. Irrigation and Drainage Paper). Rome, FAO, 1994.
3. CARDOSO, L.M; LEITE, J.P.V; PELUZIO, M.D.C.G. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. *Revista Colombiana de Ciências Químico- Farmacêuticas*, v. 40, n. 1, p. 116-138, maio, 2011.
4. CARMO, F.M.D; BORGES, E.E.D.L; TAKAKI, M. Alelopátia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorífera* (Vell.) Rohwer). *Acta Botanica Brasilica*, v. 21, n. 3, p. 697-705, janeiro, 2007.
5. COSTA, T.D.O.G; ALMEIDA, R.A.D; KOOLEN, H.H.F; SILVA, F.M.A.D; PINTO, A.C. Constituintes químicos do caule de *Protium hebetatum* (Burseraceae). *Acta Amazonica*, v. 42, n. 4, p. 557-560, 2012.
6. DALY, D.C. A new section of *Protium* from the neotropics. Studies in neotropical Burseraceae XIII. *Brittonia*, v. 59, n. 1, p. 1-24, 2007.
7. DALY, D.C; FINE, P.V.A. A new Amazonian section of *Protium* (Burseraceae) including both edaphic specialist and generalist taxa. studies in neotropical Burseraceae XVI. *Systematic Botany*, v. 36, n. 4, p. 939-949, 2011.
8. DERE, S; GUNES, T; SIVACI, R. Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, v. 22, n.1, p. 13-17, janeiro, 1998.
9. DÍAZ, I.E; FRANA, S.A; PACIENCIA, M.L.B; SUFFREDINI, I. Estudo comparativo da presença de triterpenos pentacíclicos em resinas em espécies do gênero *Protium* da família Burseraceae. 4º Congresso da Sociedade Brasileira de Espectrometria de Massas, 2011.
10. FERREIRA, A.G; BORGHETTI, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre, Artmed, 2004.
11. FERRI, M.G. *Fisiologia vegetal*, São Paulo: Editora EPU, 2004.
12. FINE, P.V.A; DALY, D.C.D.B; MUÑOZ, G.V; ITALO, M; KENNETH, M.C. The contribution of edaphic heterogeneity to the evolution and diversity of

Burseraceae trees in the western Amazon. *Evolution*, v. 59, n. 7, p. 1464-1478, abril, 2005.

13. FLORA DO BRASIL. Flora do Brasil 2020 em Construção. Jardim do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 19 jan. 2020.

14. FREIRE, T.C. Extrato vegetal de Piper com potencial atividade antifúngica contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Ambientais como requisito parcial para obtenção do título de mestra. Universidade Federal de Rondônia. Programa de pós-graduação em ciências ambientais. Rolim de Moura, 2015.

15. FREITAS, J.G.R; CAMARA, C.A.G; MORAES, M.M; SILVA, H.C.H. Volatile constituents of two species of *Protium* from the Atlantic rainforest in the state of Pernambuco, Brazil. *Natural Product Communications*, v. 6, n.0, p.1727-30, novembro, 2011.

16. FUJII, Y; HIRADATE, S. *Allelopathy: new concepts & methodology*. Enfield, Science, 2007.

17. GATTI, A.B; PEREZ, S.C.J.G.D.A; LIMA, M.I.S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasilica*, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

18. GRANATO, E.M; GRANATO, M.M; GERENUTTI, M; SILVA, M.G; FERRAZ, H.O; VILA, M.M.D.C. Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 94, n. 2, p. 130-135, 2013.

19. GraphPad Prism v. 7.00. GraphPad Software Inc., San Diego, CA. 2016.

20. GRISI, P.U; RANAL, M.A; GUALTIERI, S.C.J; SANTANA, D.G. Allelopathic potential of *Sapindus saponaria* L. leaves in the control of weeds. *Acta Scientiarum*, v. 34, n. 2, p. 1-9, janeiro-março, 2012.

21. IAS. *International Allelopathy Society Constitution*. First word Congress on Allelopathy. A Science for the future. Cadiz: Universidad de Cadiz, 1996.

22. LOPES, T.D.C; GONÇALVES, J.D.R.S; SOUZA, N.S; MORAES, D.F.C; AMARAL, F.M.M; ROSA, I.G. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das

folhas de *Caryocar brasiliense* Camb.* *Cadernos de Pesquisa*, v. 18, n. 3, p. 23-30, 2011.

23. MACIAS, F.A; GALINDO, J.C.G; MOLINILLO, J.M.G. *allelopathy: Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*. Boca Raton, CRC PRESS, 2005.

24. MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

25. MALHEIROS, A; PERES, M.T.L.P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R.A; CALIXTO, J.B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*, Chapecó, Argos, 2001.

26. MARASCHIN-SILVA, F; AQUILA, M. E. A. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. *Revista Árvore*, v. 30, n. 4, p. 547-555, 2006.

27. MARÇO, H.P; POPPI, R.J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, abril, 2008.

28. MARQUES, G.S; MONTEIRO, R.P.M; LEÃO, W.D.F; LYRA, M.A.M; PEIXOTO, M.S; ROLIM-NETO, P.J; XAVIER, H.S; SOARES, L.A.D.L. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* link. *Química Nova*, v. 35, n. 3, p. 517-522, dezembro, 2012.

29. MATOS, F.J.D.A. *Introdução à fitoquímica experimental*. Fortaleza, UFC, 2009.

30. MEDEIROS, A.R.M.D. Alelopatia e suas aplicações. *Horti sul*, v. 1, n. 3, p. 27-32, janeiro-março, 1990.

31. OLIVEIRA, A.K; COELHO, M.D.F.B; MAIA, S.S.S; DIÓGENES, F.É.P; FILHO, S.M. Atividade alelopática de extratos de diferentes partes de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae). *Acta Botanica Brasilica*, v. 26, n. 3, p. 685-690, junho, 2012.

32. OLIVEROS-BASTIDAS, A.D.J; MACIAS, F.A; FERNÁNDEZ, C.C; MARÍN, D; MOLINILLO, J.M.G. Exudados dela a raiz y su relevância actual em las interacciones alelopáticas. *Química Nova*, v. 32, n. 1, p.198-213, 2009.

33. OTUSANYA, O; ILORI, O. Phytochemical screening and the phytotoxic

effects of aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *International Journal Biology*, v. 4, n.3, p. 97-101, junho, 2012.

34. PIRES, N.D.M; PRATES, H.T; PEREIRA, I.A; OLIVEIRA, R.S; FARIA, T.C.L. Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. *Scientia Agrícola*, v. 58, n. 1, p. 61-65, 2001.
35. RICE, E. Allelopathy effects on nitrogen cycling. In: RIZVI, S.J.H; RIZVI, H (Eds.) *Allelopathy: Basic and applied aspects*. London: Chapman; Hall, 1992.
36. RICE, E. *Allelopathy*. New York, Academic Press, 1984.
37. RIZVI, V; RIZVI, S.J.H. *Allelopathy Basic and applied aspects*. London, Chapman & Hall, 1992.
38. RUDIGER, A.L; SIANI, A.C; JUNIOR, V.F.D.V. The chemistry and pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. F. (Burseraceae), *Pharmacognosy Reviews*, v. 1, n.1, p. 93-104, janeiro-maio, 2007.
39. SCHMIDT, B; RIBNICKY, D; POULEV, A; LOGENDRA, S; CEFALU, W; RASKIN, I. A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism Clinical and Experimental*. v. 57, n. 7, Suppl 1, p. S3-S9, 2008.
40. SIANI, A.C; RAMOS, M.F.D.S; MENEZES-DE-LIMA, O.J; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R.R.B; FERNADEZ-FERREIRA, E; SOARES, R.O.A; ROSAS, E.C; SUSUNAGA, G.S; GUIMARÃES, A.C; ZOGHBI, M.D.G.B; HENRIQUES, M.G. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *European Journal of Pharmacology*, v. 66, n. 1, p. 57-69, julho, 1999.
41. SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P; GOSMAN, G; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, 2000.
42. SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P; GOSMANN, G; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Florianópolis/SC: Editora da UFSC/UFRGS, 2010.
43. SIQUEIRA, J.B.G. Estudo fitoquímico do gênero *Protium*: *P. unifoliolatum* (Engl.) e *P. laxiflorum* Engl. Msc. Thesis, University of Amazon, Manaus, Brazil, 1991.

44. SOBRINHO, T.J.D.S.P; SILVA, C.H.T.P.D; NASCIMENTO, J.E.D; MONTEIRO, J.M; ALBUQUERQUE, U.P.D; AMORIM, E.L.C.D. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n. 4, p. 684-689, outubro-dezembro, 2008.
45. SOUZA, J.N.S; SILVA, E.M; SILVA, M.N; ARRUDA, M.S.P; LARONDELLE, Y; ROGEZ, H. Identification and antioxidant activity of several flavonoids of *Inga edulis* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.18, n. 6, p.1276-1280, janeiro, 2007.
46. SOUZA, P.C; CANTELI, V.C.D; VERDAM, M.C.S; KALEGARI, M; CAMPOS, R; HIROTA, B.C.K; MIGUEL, O.G.M; MIGUEL, M.D. Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, n. 2, p. 189-195, 2014.
47. SOUZA, S.A.M.S; CATTELAN, L.V; VARGAS, D.P; PIANA, C.F.D.B; BOBROWSKI, V.L; ROCHA, B.H.G. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiiis.). *UEPG-Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 11, n. 3-4, p. 7-14, setembro-dezembro, 2005.
48. THE PLANT LIST. The Plant List (2013). Version 1.1. Disponível em: www.theplantlist.org. Acesso em: 19 jan. 2020.
49. TROPICOS. ORG. MISSOURI BOTANICAL GARDEN. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/50308227>. Acesso em: 11 jun. 2020.
50. TUR, C.M; BORELLA, J; PASTORINI, L.H. alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. *Biotemas*, v. 23, n. 2, p. 13-22, junho, 2010.
51. VARGAS-SIMÓN, G; SOTO-HERNÁNDEZ, R.M; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, M.T; ESCALANTE-ESTRADA, J.A.S. Análise fitoquímico preliminar del fruto de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.): flavonoles y flavonas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, v. 6, n. 2, p. 195-202, julho-dezembro, 2000.
52. VIGO, C.L.S; NARITA, E; MARQUES.L.C. Validação da metodologia de quantificação espectrofotométrica das saponinas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pederson – Amaranthaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, n. 2, p. 46-

49, 2003.

53. ZOGHBI, M.D.B.Z; SIQUEIRA, J.B.G; WOLTER, E.L.A; JÚNIOR, O.L.P. Constituintes químicos de *Protium paniculatum* (Burseraceae). *Acta Amazonica*, v. 23, n. 2-3, p. 187-189, junho, 1993.

54. ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000.