

# Efeito da microbiota do solo na atividade fitotóxica de extratos foliares de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

Estela Reis de Andrade, Sarah Christina Caldas Oliveira & Fabian Borghetti

<sup>1</sup> Universidade de Brasília, Laboratório de Termobiologia, Campus Darcy Ribeiro, CEP 70910 - 970, Brasília, DF, Brasil. borghetao@yahoo.com.br

Recebido em 23.VI.2012. Aceito em 10.X.2013

**RESUMO** – Foram avaliados efeitos da microbiota do solo na fitotoxicidade de extratos foliares de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. Extratos preparados com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etilo, acetona, metanol e água foram secos e os precipitados resuspenso em água para os experimentos. A esterilização do solo foi feita por autoclavagem. Plântulas de rabanete e de sorgo foram dispostas em solo autoclavado e não autoclavado, cada qual recebendo as soluções teste. Para o rabanete, a inibição do crescimento radicular foi maior em solo autoclavado, sugerindo que a microbiota reduz a fitotoxicidade dos extratos. Para o sorgo, resultados similares foram obtidos com extrato aquoso. Entretanto, para os demais extratos, a autoclavagem do solo reduziu sua atividade inibitória, sugerindo que a microbiota potencializa a fitotoxicidade dos extratos. O crescimento radicular foi mais afetado que o aéreo. A microbiota do solo reduz a atividade fitotóxica de extratos aquosos, mas sua ação depende da polaridade dos solventes e da espécie-alvo utilizada.

**Palavras-chave:** alelopatia, Cerrado, fitotoxicidade, *Raphanus sativus*, *Sorghum bicolor*

**ABSTRACT** – The effects of soil microbiota on the phytotoxicity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville leaf extracts was evaluated. Leaf extracts were prepared with the solvents hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol, and water, evaporated, and the precipitates were resuspended in water for the experiments. Soil samples were sterilized by autoclaving. Seedlings of radish and sorghum were grown on sterilized and non-sterilized soil, each one receiving the test solutions. For radish, the inhibition of root growth was greater in sterilized than in non-sterilized soil, suggesting the soil microbiota reduces phytotoxicity of the extracts. For sorghum, the inhibition of root growth was greater in sterile than in non-sterile soil for seedlings incubated in aqueous extracts, however, it was lower for seedlings incubated in extracts prepared with organic solvents. For both species the soil microbiota reduced the phytotoxicity of aqueous extracts, but its effects on the phytotoxicity of extracts prepared with organic solvents depends on solvent polarity and the target-species used.

**Key words:** allelopathy, Cerrado, phytotoxicity, *Raphanus sativus*, *Sorghum bicolor*

## INTRODUÇÃO

Alelopatia é a ciência que investiga efeitos causados por compostos químicos produzidos por organismos, denominados aleloquímicos, sobre o desenvolvimento de outros organismos. Uma vez produzidos e liberados, seja por plantas ou microrganismos, os aleloquímicos podem causar efeitos benéficos ou, na maioria das vezes, maléficis ao organismo receptor, o que pode assim dificultar ou facilitar o estabelecimento do organismo produtor (Rice, 1984).

Em condições naturais, a atividade alelopática é dependente de diversos fatores, como a quantidade e atividade dos aleloquímicos liberados pela espécie produtora, as condições climáticas e edáficas do ambiente onde a interação entre as espécies ocorre e a sensibilidade da espécie receptora às substâncias absorvidas do meio. Neste processo, o solo ganha particular importância, por tratar-se do substrato em que parte significativa das interações alelopáticas entre plantas ocorre. Chen (1992) estabelece que, uma vez no solo, os aleloquímicos podem ser retidos, transformados pela biota e/ou transportados

para outros locais através da percolação promovida pela chuva.

Segundo Inderjit (2005), os microrganismos do solo podem atuar alterando ou degradando moléculas orgânicas, modificando a concentração e/ou atividade de tais substâncias, afetando seus efeitos sobre as espécies receptoras. Assim, a concentração e/ou atividade biológica dos aleloquímicos pode sofrer ação da biota do solo antes que as substâncias sejam absorvidas pela planta receptora, conseqüentemente afetando a interação alelopática entre as espécies envolvidas (Inderjit & Weston, 2000). Os solos do Cerrado são peculiares por apresentarem alto teor de alumínio, elevada acidez e baixa disponibilidade de nutrientes (Haridasan, 2000). Em solos com elevada concentrações de íons como o  $Al^{3+}$  e  $H^+$  e baixas concentrações de bases, a acidez é alta, acentuando a fitotoxicidade de ácidos orgânicos protonados (Blum, 2006), e denotando assim a importância de se considerar a influência do substrato em estudos de alelopatia.

A flora brasileira tem-se tornado alvo de crescente interesse em estudos alelopáticos, e diversas espécies têm mostrado algum tipo de atividade alelopática, como *Andira humilis* Mart. ex Benth. (Periotta *et al.*, 2004), *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze (Gatti *et al.*, 2004), *Campomanesia adamantinum* Cambess., *Qualea parviflora* Mart., *Trembleya parviflora* (D. Don) Cogn. (Borghetti *et al.*, 2005), *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Oliveira *et al.*, 2004), *Eugenia dysenterica* DC. (Pina *et al.*, 2009) e *Sapindus saponaria* L. (Grisi *et al.*, 2012). Embora a maioria dos trabalhos faça uso de papel de filtro, alguns têm feito uso de solo como substrato (Aires *et al.*, 2005, Oliveira & Campos, 2006; Silva *et al.*, 2006; Santana *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2007; Pina *et al.*, 2009).

Enquanto alguns autores encontraram que os efeitos alelopáticos na germinação e/ou no crescimento foram mais intensos em substrato solo que em papel de filtro (Oliveira & Campos, 2006; Pina *et al.*, 2009), outros encontraram o contrário, ou seja, os efeitos alelopáticos apresentaram-se mais intensos em substrato papel de filtro que em solo (Hernandes-Terrones *et al.*, 2007). Investigando a alelopatia de extratos de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec.) no crescimento de capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.), Hernandez-Terrones *et al.* (2007) concluíram que microrganismos no solo provavelmente atuariam absorvendo e decompondo compostos fitotóxicos adicionados ao solo pela planta. Portanto, em um estudo alelopático deve-se considerar que este seja, em algum momento da investigação, conduzido

no mesmo substrato de ocorrência das espécies envolvidas, sejam estas aquáticas ou terrestres (Inderjit & Weston, 2000). Desta maneira, os efeitos de natureza alelopática observados em condições controladas serão mais próximos ao que pode vir a ocorrer em condições naturais.

A comparação dos efeitos de solo autoclavado e não autoclavado na atividade fitotóxica é interessante e promissora, pois permite quantificar efeitos da microbiota do solo na estabilidade e bioatividade de substâncias presentes em extratos de plantas e, conseqüentemente, separar os efeitos biológicos da ação física do solo propriamente dito (Kaur *et al.*, 2009). A esterilização do solo pode ser realizada por procedimento de autoclavagem. Dentro desta perspectiva, Silva *et al.* (2006), comparando efeitos de solo esterilizado com solo não esterilizado na atividade alelopática de extratos foliares, encontraram que a ação alelopática das quatro espécies estudadas não foi alterada em ensaios realizados com terra estéril, o que permitiu concluir que as substâncias inibidoras não estariam sendo degradadas pelos microrganismos ou pelas condições físicas do solo.

Resultados similares foram encontrados por Oliveira & Campos (2006) que, utilizando como substrato solo autoclavado e não autoclavado, não encontraram diferenças significativas nos efeitos inibitórios de extratos aquosos de *Solanum palinacanthum* Dunal no crescimento do gergelim (*Sesamum indicum* L.). Estes resultados contrastam com outros estudos que descrevem efeitos mais intensos de extratos de plantas em experimentos que são conduzidos em substrato solo quando comparados ao substrato papel de filtro (Pina *et al.*, 2009). Como alguns trabalhos foram realizados com o uso de extratos aquosos (Aires *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2006; Oliveira & Campos, 2006; Pina *et al.*, 2009), e outros com o uso de extratos preparados com solventes de menor polaridade (Hernández-Terrones *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2009), estes resultados sugerem que os efeitos da biota do solo na atividade alelopática pode ser dependente do grau de polaridade das substâncias obtidas a partir dos extratos de plantas.

Estudos conduzidos com extratos aquosos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, espécie nativa do Cerrado e conhecida como barbatimão, mostraram que a atividade fitotóxica de extratos foliares no crescimento do gergelim foi menor em substrato solo quando comparada com substrato papel de filtro (Guimarães *et al.*, 2009).

Estes resultados sugerem que o solo está de alguma maneira interferindo na atividade biológica dos extratos aquosos adicionados a este substrato.

Face ao exposto, o propósito do presente trabalho foi avaliar efeitos da biota do solo na atividade fitotóxica de extratos de folhas *Stryphnodendron adstringens*, e verificar se tais efeitos dependem do grau de polaridade das substâncias obtidas a partir de extratos foliares desta planta em duas espécies alvo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo dos extratos

Para esse estudo foram coletadas folhas maduras de *Stryphnodendron adstringens* em julho de 2009 na reserva de Cerrado sentido restrito localizada no Laboratório de Termobiologia (15°46'13" S e 46°52'07" W) da Universidade de Brasília. As folhas selecionadas foram secas a 50°C/24 horas e trituradas para preparo dos extratos. Os seguintes solventes orgânicos foram utilizados em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etilo, acetona e metanol. De maneira sequencial e respeitando a ordem de polaridade dos solventes, as folhas foram solubilizadas na proporção de 1:10 (matéria seca / solvente) primeiramente em hexano, sendo conduzidas duas extrações de uma hora cada em banho de ultrassom, com renovação do solvente. Posteriormente, a solução foi filtrada em papel de filtro (Whatman qualitativo), e o material vegetal foi solubilizado no solvente seguinte, repetindo-se assim a mesma proporção e o mesmo procedimento de extração para cada solvente. Para o preparo do extrato aquoso foram utilizadas amostras diferentes daquelas utilizadas para extração em solventes orgânicos, entretanto, provenientes da mesma coleta e das mesmas matrizes.

As soluções obtidas com cada solvente foram secas em rotavapor (Marconi MA 206) até a obtenção de um extrato seco. Posteriormente, os extratos secos obtidos com acetato de etila, acetona, metanol e água foram ressuspensos em água destilada e DMSO (5 µL/mL) nas concentrações de 800, 400 e 200 ppm. Extratos obtidos com hexano e diclorometano não foram utilizados devido a sua baixa solubilidade em água. As soluções aquosas preparadas foram então utilizadas para os bioensaios de crescimento.

### Bioensaios de crescimento

Os bioensaios de crescimento inicial foram conduzidos em latossolo vermelho coletado em área

natural de Cerrado, próximo ao local de ocorrência dos indivíduos de barbatimão. Este solo foi peneirado para remoção de pedras e resíduos vegetais, homogeneizado e utilizado como substrato para os experimentos de crescimento. Para o experimento com solo esterilizado foi realizada autoclavagem em três ciclos de 30 minutos a 120°C. Solo autoclavado e não autoclavado foram distribuídos em recipientes com capacidade de 20g de substrato e em cada um foi adicionado o volume de extrato correspondente a 80% da capacidade de campo (previamente determinada).

As espécies-alvo utilizadas foram sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.). Sementes obtidas comercialmente foram dispostas para germinar em água destilada, a 30°C com fotoperíodo de 12 horas. Sementes germinadas, cuja radícula tivesse aproximadamente 2 mm em comprimento, foram selecionadas para os experimentos visando estudar o efeito dos extratos apenas no crescimento das espécies alvo. Duas sementes de cada espécie foram dispostas separadamente nos recipientes com solo e extrato a serem testados. Cada extrato consistiu em um tratamento, cada qual com três diluições (200, 400 e 800 ppm) e sete repetições, tanto para solo autoclavado como para não autoclavado, para cada espécie-alvo. Como controle positivo foi usado o herbicida não seletivo Glifosato® nas mesmas concentrações dos extratos, e como controle negativo, água destilada.

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento (Precision Scientific®) por cinco dias, a 30°C e fotoperíodo de 12 horas, mantendo-se 80% da capacidade de campo do solo nos recipientes com regas diárias. Após cinco dias, foram medidos os comprimentos das partes aérea e radicular. Estas medidas foram transformadas em porcentagem de inibição em relação ao controle negativo. O experimento foi feito em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os dados foram analisados usando por ANOVA (Análise de Variância) seguido do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

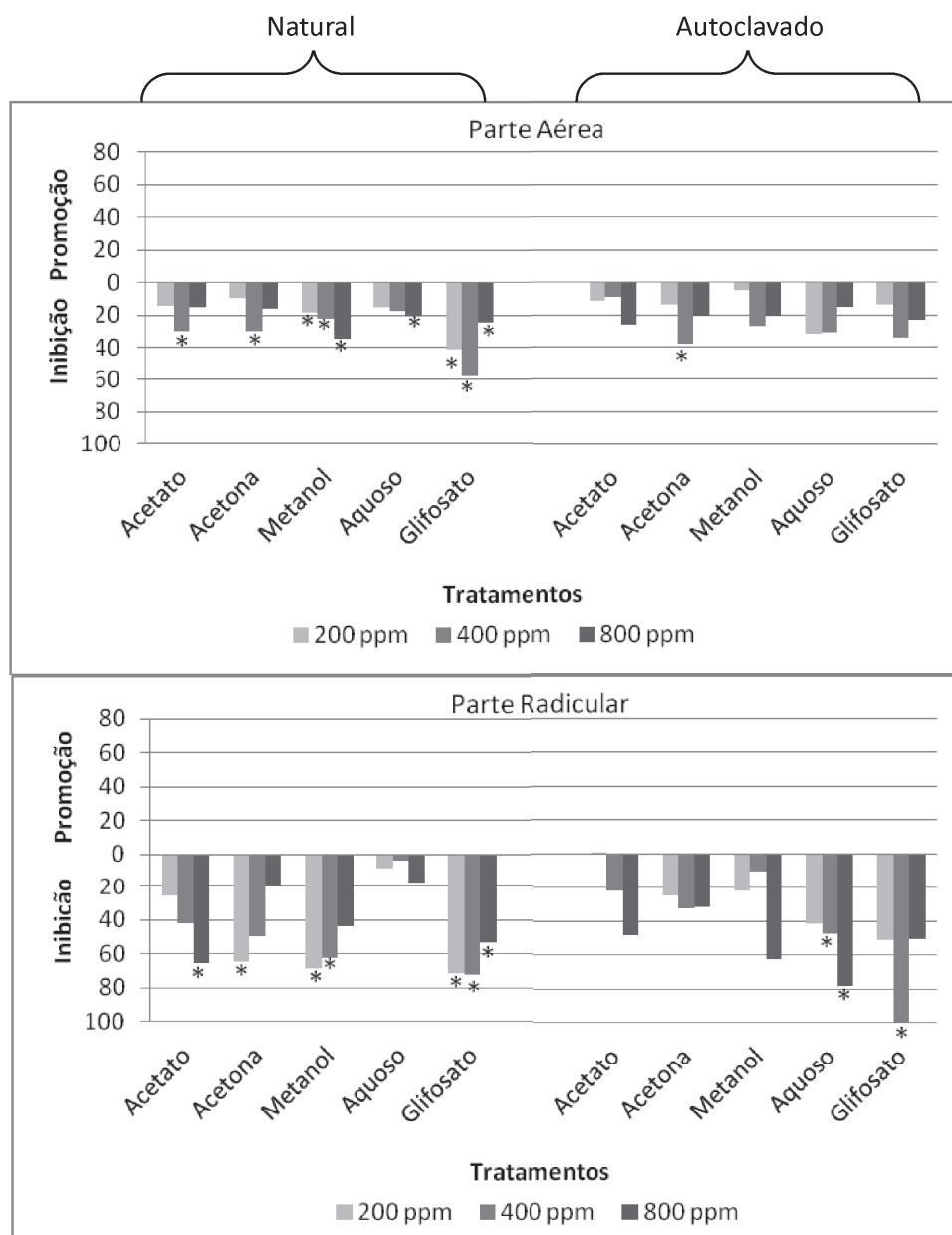
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo encontrou-se que a microbiota do solo reduz o efeito inibitório dos extratos aquosos de folhas do barbatimão, visto que em solo autoclavado os extratos aquosos foram mais inibitórios do crescimento das plântulas de sorgo e de rabanete que em solo não autoclavado (Figs. 1, 2).

Os efeitos inibitórios tornam-se mais evidentes quando se compara o crescimento radicular das

plântulas em teste. Estes resultados sugerem que a microbiota do solo atua absorvendo, degradando ou inativando moléculas bioativas presentes nos extratos. O uso de água como solvente promove a extração de moléculas de natureza mais polar, além de carboidratos, proteínas e compostos glicosilados.

Considerando que este procedimento mais se aproxima ao processo de lixiviação de moléculas polares por efeito das chuvas, a ação da microbiota neste caso estaria sendo provavelmente facilitada em condições naturais, interferindo significativamente na ação fitotóxica de tais moléculas quando liberadas ao solo.



**Fig. 1.** Porcentagem de inibição do crescimento inicial das partes aérea e radicular de *Sorghum bicolor* L. crescidas durante cinco dias sob influência de extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville de diferentes polaridades em substrato solo não autoclavado (natural) e autoclavado. \* Indica diferenças significativas em relação ao controle. Tamanho médio ( $\pm$  desvio padrão) das plântulas crescidas em água destilada: parte aérea:  $3,60 \pm 0,4$  cm; parte radicular:  $7,30 \pm 1,22$  cm.

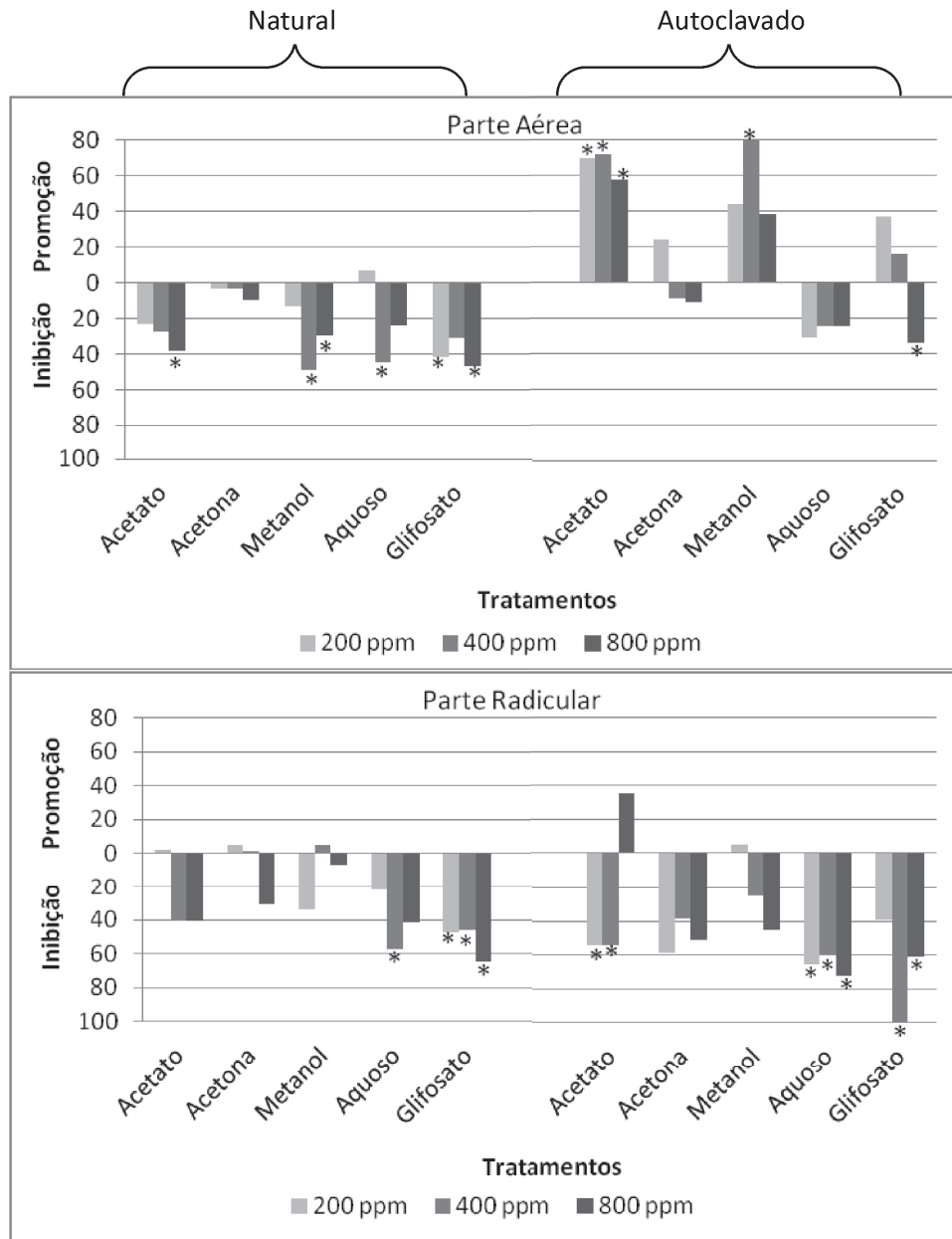


Fig. 2. Porcentagem de inibição do crescimento inicial das partes aérea e radicular das plântulas de *Raphanus sativus* L. crescidas durante cinco dias, sob influência dos extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville de diferentes polaridades em substrato solo não autoclavado (natural) e autoclavado. \* Indica diferenças significativas em relação ao controle. Tamanho médio ( $\pm$  desvio padrão) das plântulas crescidas em água destilada: parte aérea:  $3,51 \pm 0,43$  cm; parte radicular:  $2,70 \pm 0,26$  cm.

Em relação aos extratos preparados com solventes de menor polaridade (acetato de etila, acetona e metanol), os resultados dependeram da espécie-alvo utilizada. No caso do sorgo, a microbiota do solo aparentemente potencializa a fitotoxicidade dos extratos, visto que a autoclavagem do solo, na maior parte dos tratamentos e concentrações, reduziu a atividade inibitória dos extratos em comparação aos tratamentos conduzidos com solo não autoclavado (Fig. 1). Estes efeitos são mais evidentes no

crescimento radicular que no crescimento aéreo das plântulas em teste, um padrão de interferência no crescimento frequentemente relatado em estudos de natureza alelopática (Ferreira, 2004).

No caso do rabanete, de uma maneira geral a autoclavagem do solo aumentou a ação inibitória dos extratos foliares de barbatimão sobre o crescimento inicial desta dicotiledônea, principalmente no que se refere à parte radicular (Fig. 2), sugerindo que a microbiota do solo atua reduzindo o efeito inibitório

dos extratos foliares de barbatimão no crescimento do rabanete, efeito este similar ao observado com o uso de extratos aquosos. A maior inibição do crescimento radicular dessa espécie em solo autoclavado pode ter sido responsável pelo estímulo (indireto) do crescimento da parte aérea das plântulas em teste. Observou-se que, na maior parte dos casos, as plântulas tratadas com os extratos de barbatimão em solo autoclavado apresentaram maior crescimento aéreo em comparação ao controle em água destilada (Fig. 2).

Considerando que o crescimento inicial desta dicotiledônea depende, em boa parte, dos recursos provenientes dos cotilédones (reservas e atividade fotossintética), é possível que a inibição do crescimento radicular por parte dos extratos tenha resultado na redução do transporte de solutos para o sistema radicular e, conseqüentemente, maior disponibilização de recursos para a parte aérea, o que promoveu o seu maior crescimento em relação ao crescimento verificado no controle negativo (Fig. 2).

O uso de extratos aquosos tem sido recomendado em estudos alelopáticos. Trata-se do procedimento que mais se aproxima de uma situação natural, quando a chuva ou umidade do ambiente remove dos tecidos das plantas as substâncias potencialmente alelopáticas (Ferreira, 1998, 2004; Inderjit & Weston, 2000; Inderjit & Callaway, 2003). No presente estudo encontrou-se que a microbiota do solo atua reduzindo o potencial fitotóxico de extratos aquosos no crescimento inicial de sorgo e rabanete, principalmente no que se refere ao crescimento radicular.

O metanol, entre outros solventes orgânicos, tem sido utilizado em estudos fitotóxicos para a extração de princípios ativos (Souza Filho *et al.*, 2005, 2010). Se, por um lado, este tipo de procedimento se afasta da alelopatia, por outro facilita o processo de busca e identificação de moléculas bioativas através de técnicas cromatográficas (Borghetti *et al.*, 2013). O uso de solventes orgânicos, como o acetato de etilo, diclorometano e hexano, possibilita a busca de moléculas ativas em faixas de polaridade mais amplas, procedimento clássico de laboratórios e empresas que buscam por princípios ativos em plantas (Macias *et al.*, 2003).

Os resultados apresentados neste trabalho enaltecem a importância de se testar a atividade e estabilidade de frações e moléculas bioativas de

extratos de plantas tanto em substrato solo, como sobre o desenvolvimento de diferentes espécies-alvo. Frações ativas podem ser encontradas em extratos preparados com clorofórmio, acetato de etilo (Silva *et al.*, 2006; Hernández-Terrones *et al.*, 2007), diclorometano (Hernández-Terrones *et al.*, 2007) e metanol (Souza-Filho *et al.*, 2010). Assim, identificar quais frações são menos afetadas pelas condições de solo é importante para direcionar a busca por substâncias que sejam mais estáveis neste tipo de substrato, otimizando a busca por moléculas bioativas de maior estabilidade sob condições naturais.

Uso de espécies que coexistam naturalmente é outra premissa em estudos alelopáticos (Ferreira, 2004; Inderjit & Weston, 2000; Inderjit & Callaway, 2003). Entretanto, para bioensaios fitotóxicos que avaliam a atividade biológica de extratos, ou mesmo de moléculas, recomenda-se optar por espécies-alvo de fácil obtenção e pronto uso, que tenham germinação e crescimento rápido, e que produzam resultados rápidos e reproduzíveis (Pennacchio *et al.*, 2005). Macias *et al.* (2000) obtiveram resultados satisfatórios utilizando as espécies cultivadas *Daucus carota* L., *Lactuca sativa* L., *Lycopersicon esculentum* L., *Allium cepa* L., *Triticum aestivum* L. e *Zea mays* L. O gergelim (Carvalho *et al.*, 2001) e o sorgo (Carmo *et al.*, 2007), também atendem a esses critérios.

Neste estudo, encontrou-se o sorgo como uma potencial alternativa para estudos fitotóxicos e alelopáticos preliminares com monocotiledôneas. Suas sementes são pequenas, de fácil obtenção no mercado, apresentam germinação rápida e uniforme, e o crescimento inicial das mudas é também rápido e homogêneo. Além disto, conforme apresentado, as plântulas são sensíveis aos extratos de diversas polaridades, mostrando boa uniformidade nas respostas aos extratos testados.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (processo 193.000.424/2008) pelo apoio financeiro. A primeira autora agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).

## REFERÊNCIAS

- Aires, S.S., Ferreira, A.G. & Borghetti, F. 2005. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* A. St-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. *Acta Botânica Brasilica*, 19(2): 339-344.
- Blum, U. 2006. Allelopathy: a soil system perspective. *In* Allelopathy: a physiological process with ecological implications. (Reigosa, M. J., Pedrol, N. & González, L., eds). Springer, Dordrecht Heidelberg London New York p. 299-340.
- Borghetti F., Silva L.C.R., Pinheiro J.D., Varella B.B. & Ferreira A.G. 2005. Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil. *In* Fourth World Congress on Allelopathy. The George Sturt University, Wagga Wagga, Australia. p. 388-390.
- Borghetti, F., Lima, E.C. & Silva, L.C.R. 2013. A simple procedure for purification of active fractions in aqueous extracts of plants with allelopathic properties. *Acta Botanica Brasilica* 27(1): 50-53.
- Carmo F.M.S., Borges, E.E.L. & Takaki, M. 2007. Alelopatia de extratos aquosos de canela – sassafras (*Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer. *Acta Botânica Brasilica*, 21(3): 697-705.
- Carvalho, P.G.B., Borghetti, F., Buckeridge, M.S., Morhy, L. & Ferreira-Filho, E.X.F. 2001. Temperature-dependent germination and endo-b-mannase activity in sesame seeds. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(2): 139-148.
- Chen, I. 1992. A conceptual framework for assessing allelochemicals in soil environment. *In* Allelopathy: Basic and applied Aspects (Rizvi, S. J. & Rizvi, V., eds.). Londres: Capman & Hall. p. 21-29.
- Ferreira, M.L. 1998. Síntese e avaliação da atividade herbicida de quinonas. 151 p. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Ferreira, A.G. 2004. Interferência, competição e alelopatia. *In* Germinação: do básico ao aplicado (Ferreira, A.G. & Borghetti, F., eds). Artmed, p.251-262.
- Gatti, A.B., Perez, S.C.J.G.A. & Lima, M.I.S. 2004. Allelopathic activity of aqueous extracts of *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze in the germination and growth of *Lactuca sativa* L. and *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasilica*, 18(3): 459-472.
- Grisi, P.U., Gualtieri, S.C.J., Ranal, M.A. & Santana, D.G. 2012. Allelopathic interference of *Sapindus saponaria* root and mature leaf aqueous extracts on diaspore germination and seedling growth of *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. *Brazilian Journal of Botany*, 35(1): 1-9.
- Guimarães, L.E.S, Andrade, E.R. & Borghetti, F. 2009. Efeito fitotóxico de extratos de folhas de *Stryphnodendron adstringens* em diferentes substratos sobre o desenvolvimento do gergelim. *In* Anais do XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Fortaleza, 179-180.
- Haridasan, M. 2000. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 54-64.
- Hernandez-Terrones, M.G., Nascimento, E., Morais, S.L., Londe, G. & Chang, R. 2007. Ação Alelopática de extratos de embaúba (*Cecropia pachystachya*) no crescimento de capim-colonião (*Panicum maximum*). *Planta Daninha*, 25(4): 21-26.
- Inderjit & Weston, L.A. 2000. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? *Journal of Chemical Ecology*, 26(9): 2111-2118.
- Inderjit & Callaway, R.M. 2003. Experimental design for the study of allelopathy. *Plant and soil*, 256(1): 1-11.
- Inderjit. 2005. Soil microorganisms: An important determinant of allelopathic activity. *Plant and Soil*, 4: 227-236.
- Kaur, H., Kaur, R., Kaur, S., Baldwin, I.T. & Inderjit. 2009. Taking Ecological Function Seriously: Soil Microbial Communities Can Obviate Allelopathic Effects of Released Metabolites. *PLoS ONE* 4(3): e4700. doi:10.1371/journal.pone.0004700.
- Macias, F.A, Galindo, J., Castellano, D. & Velasco, R. 2000. Sesquiterpene lactones with potencial use a natural herbicides models. 2. Guaianolides. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48(11): 2512-2541.
- Macias, F.A., Molinillo, J.M.G., Chinchilla, D. & Galindo, J.C.G. 2003. Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals. CRC Press, 392 p.
- Oliveira, S.C.C. & Campos, M.L. 2006. Allelopathic effects of *Solanum paniculatum* leaves on germination and seedling growth. *Allelopathy Journal*, 18: 331-338.
- Oliveira, S.C.C., Ferreira, A.G. & Borghetti, F. 2004. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* sob diferentes temperaturas. *Acta Botanica Brasilica*, 18(3): 401-406.
- Pennacchio, M., Jefferson, L. V. & Havens, K. 2005. *Arapdopsis thaliana*: a new test species for phytotoxic bioassays. *Journal of Chemical Ecology*, 31(8): 1877-1885.
- Periotto, F., Perez, S.C.J.G. & Lima, M.I.S. 2004. Efeito alelopático de *Andira humilis* na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* e *Raphanus sativus*. *Acta Botanica Brasilica*, 18(3): 425-430.
- Pina, G.O., Borghetti, F., Silveira, C.E.S. & Pereira L.A.R. 2009. Effects of *Eugenia dysenterica* leaf extracts on the growth of sesame and radish. *Allelopathy Journal*, 23(2): 313-322.
- Rice, E.L. 1984. Allelopathy. Academic Press. New York. 422 p. Santana, D.G., Ranal, M.A., Mustafa, P.C.Y. & Silva, R.M.G. 2006. Germination measurements to evaluate allelopathic interactions. *Allelopathy Journal*, 17(1): 43-52.
- Silva, G.B., Martim, L., Silva, C.L., Young, M.C.M. & Ladeira, A.M. 2006. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. *Hoehnea*, 33(3): 331-338.
- Souza Filho, A.P.S., Pereira, A.A.G. & Bayma, J.C. 2005. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. *Planta daninha*, 23(1): 25-32.
- Souza Filho, A.P.S., Gilhon, G.M.S.P. & Santos, L.S. 2010. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da

atividade alelopática em condições de laboratório –  
Revisão Crítica. *Planta daninha*, 28(3): 689-697.  
Souza, L.M., Canani, G.B., Aires, S.S., Borghetti, F.

2007. Efeito alelopático de folhas de quatro espécies  
do Cerrado sobre o crescimento de gergelim. *Revista  
Brasileira de Biociências*, 5(2): 540-542.