



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS



RICLECIA FRAGA SANTOS

O efeito das técnicas de extração na ação alelopática de diferentes órgãos da espécie exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)

Itabaiana – SE

2023

RICLECIA FRAGA SANTOS

O efeito das técnicas de extração na ação alelopática de diferentes órgãos da espécie exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade Federal de Sergipe, como requisito necessário para a obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais

Orientador: Prof. Dr. Marcos Vinícius Meiado

Co-Orientador: Prof. Dr. Moacir dos Santos Andrade

Itabaiana – SE

2023

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA PROFESSOR ALBERTO CARVALHO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237e Santos, Riclecia Fraga
O efeito das técnicas de extração na ação alelopática de diferentes órgãos da espécie exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) / Riclecia Fraga Santos; orientação: Marcos Vinicius Meiado. – Itabaiana, 2022.
59 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Universidade Federal de Sergipe, 2022.

1. Ciências naturais. 2. Alelopatia. 3. Metabólitos 4. Ultrassom. I. Meiado, Marcos Vinicius. (orient.). II. Título.

CDU 581.524.13

FOLHA DE APROVAÇÃO

O efeito das técnicas de extração na ação alelopática de diferentes órgãos da espécie exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)

Riclecia Fraga Santos

APROVADA pela banca examinadora composta por:

Orientador: Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado

Examinadora Externa: Profa. Dr. Joana Paula Bispo Nascimento

Examinador externo: Prof. Dr. Luiz Palhares Neto

Itabaiana – SE

2023

Ao meu tio Reginaldo Fraga (*in memoriam*) e aos meus avós, Raimunda e Antônio, exemplos de integridade, força, coragem e amor.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Ao bondoso e fiel, Deus, por me sustentar até aqui. Teus planos sempre foram melhores que os meus. Gratidão por todo cuidado e proteção!

Aos meus pais, Railda Fraga e Conrado Santos por tamanha compreensão. Para sempre serão minha maior e melhor referência em: educação, cumplicidade, entrega e amor. Aos meus irmãos, José Carlos, Claudemir, Lucas, José Wilson e Matheus por serem meu ponto de abrigo e carinho, e por ficarem felizes com as minhas conquistas. Juntos somos mais fortes. Esta vitória é nossa. Amo vocês!

Ao meu orientador e amigo, Marcos Vinicius Meiado, por toda dedicação, cuidado e abrigo. Eu não teria chegado até aqui sem a sua ajuda e orientação. Eu sempre te levarei em meu coração. Isso é só o começo de uma linda parceria e de muitos trabalhos que virão! Que venha o doutorado. Gratidão!

Ao meu amigo Bruno de Santana Santos, minha eterna gratidão! Você foi ímpar e muito necessário para que eu chegasse até aqui. Você foi meu braço direito em todos os momentos. Obrigada por cada momento compartilhado: do campo ao laboratório; da realização dos experimentos a discussão dos resultados; dos momentos de choros aos de alegrias. Dos perrengues aos lanches compartilhados. Sim! Bruno esteve presente em tudo e eu sou muito grata por tanto. Conte sempre comigo, meu amigo-irmão!

À minha amiga Cristianne, por todo incentivo, e por ter sempre uma palavra de conforto em cada momento difícil. É sempre maravilhoso e mais leve dividir os momentos contigo. Do LAFISE para a vida. Conte sempre comigo, minha amiga-irmã!

À minha prima-irmã Eliene e a Carol, por vibrarem em todas as minhas conquistas. Eu amo vocês!

Aos meus amigos Daianne, Eliziane e Santiago, por não soltarem a minha mão. Juntos formamos um quarteto singular. Vocês foram abrigo nos momentos de luta nessa trajetória. Valeu por cada riso compartilhado. Estarei sempre na torcida por vocês.

Aos meus amigos Amanda, Anderson, Cleverton, Igor, Laine e Juliana por toda compreensão, positividade, orações e principalmente por nunca soltarem a minha mão. Vocês são muito especiais. Obrigada por tanto!

À Andressa, Angélica, Danilo, Gabi, Lana, Jean e Kaue pela amizade e parceria. Obrigada por toda compreensão e positividade. Abraço!

A todos que fazem parte do melhor laboratório do mundo, o Laboratório de Fisiologia de Sementes (LAFISE), em especial ao GAS, por toda parceria, ajuda e compreensão ao longo desta caminhada. Amo vocês!

À família Acolher, em especial as crianças: Luis Felipe, Miguel Alegri, Maria Laura, Marcos Vinícius, Antônio, João Miguel e José Miguel, por serem fonte de amor e aconchego. Gratidão a Juh e as mães por toda paciência e compreensão. Meu abraço!

À turma de Ciências Biológicas 2019.2 UFS, por depositar confiança e acreditar em meu trabalho. Aprendi muito com vocês. Abraço!

À banca, composta por Joana Paula Nascimento e Neto Palhares, agradeço por suas orientações e sugestões as quais foram pertinentes para o desenvolvimento da minha pesquisa.

Aos técnicos, Michelle Fraga, Caren Mouzinho, Davi e Marinalva, por todo suporte necessário ao longo desta caminhada.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais -PPGCN, em especial aos coordenadores e secretário por todo suporte e atenção. Gratidão aos professores e colegas de turma por toda parceria e conhecimento compartilhado.

À CAPES pela concessão de Bolsa e financiamento da pesquisa.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indireta nesta caminhada.

Gratidão!

*“Eu sei que Deus tem mais para mim
Parece que agora é mais difícil de lutar
Mas eu já fui tão longe não dá para voltar
Deus me chamou para viver coisas maiores”*

(Coisas maiores – Sarah Maria)

RESUMO

As plantas produzem diferentes tipos e quantidades distintas de compostos secundários durante seu ciclo de vida, os quais podem apresentar efeitos alelopáticos. De acordo com a forma com que esses compostos são extraídos, esses efeitos positivos ou negativos são alterados, pois a técnica influencia quais compostos estarão disponíveis na solução, bem como sua concentração. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da técnica de extração na ação alelopática de diferentes órgãos de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), uma espécie exótica invasora. Para a produção dos extratos foram utilizadas amostras de raízes, caules, folhas, flores, frutos verdes e frutos secos, totalizando seis tratamentos. Após a secagem, as amostras foram trituradas e utilizadas para a preparação dos extratos através de duas técnicas. No extrato bruto aquoso (EBA), as amostras foram colocadas em água destilada na proporção de 1:10 (amostra desidratada: volume de água) e mantidas em temperatura de 25 °C, por 24 horas, com posterior filtração. Por sua vez, no extrato bruto aquoso ultrassônico (EBAU), as amostras também foram colocadas em água destilada na mesma proporção, mas mantidas em ultrassom por 30 minutos, a 25 °C. As soluções produzidas pelas duas técnicas de extração foram testadas nas concentrações de 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%, diluídas em água destilada. A ação alelopática dessas soluções foi avaliada na germinação das sementes de alface [*Lactuca sativa* L. (Asteraceae)], espécie modelo para estudos de alelopatia. Todos os órgãos apresentaram ação alelopática influenciando negativamente a germinação, mas o maior efeito alelopático foi observado nas flores e os frutos verdes. Os extratos produzidos a partir da técnica do ultrassom apresentaram menor efeito alelopático nos parâmetros germinativos. A formação de plântulas foi afetada negativamente pelos extratos dos órgãos, mas a técnica EBAU promoveu um maior efeito alelopático, quando comparado a técnica EBA, principalmente para os extratos realizados a partir das estruturas reprodutivas da *C. procera*. Conclui-se que técnica de extração influencia a ação alelopática dos diferentes órgãos de *C. procera* e os órgãos reprodutivos dessa espécie apresentam maior ação alelopática.

Palavras-chave: Alelopatia, metabólitos secundários, extrato aquoso, ultrassom, germinação.

ABSTRACT

Plants produce different types and distinct amounts of secondary compounds during their life cycle, which can have allelopathic effects. According to the way in which these compounds are extracted, these positive or negative effects are changed, as the technique influences which compounds will be available in the solution, as well as their concentration. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of the extraction technique on the allelopathic action of different organs of *Calotropis procera* (Aiton) W.T. - Aiton (Apocynaceae), an invasive alien species. For the production of the extracts, samples of roots, stems, leaves, flowers, green fruits and dried fruits were used, totaling six treatments. After drying, the samples were crushed and used for the preparation of the extracts through two techniques. In the aqueous crude extract (EBA), the samples were placed in distilled water in the ratio of 1:10 (dehydrated sample: volume of water) and kept at a temperature of 25 °C for 24 hours, with subsequent filtering. In turn, in the ultrasonic aqueous crude extract (EBAU), the samples were also placed in distilled water in the same proportion, but kept in ultrasound for 30 minutes, at 25 °C. The solutions produced by the two extraction techniques were tested at concentrations of 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 and 0%, diluted in distilled water. The allelopathic action of these solutions was evaluated in the germination of lettuce seeds [*Lactuca sativa* L. (Asteraceae)], a model species for allelopathy studies. All organs presented allelopathic action negatively influencing germination, but the greatest allelopathic effect was observed in flowers and green fruits. The extracts produced from the ultrasound technique showed less allelopathic effect on the germinative parameters. The formation of seedlings was negatively affected by the extracts of the organs, but the EBAU technique promoted a greater allelopathic effect when compared to the EBA technique, especially for the extracts made from the reproductive structures of *C. procera*. It is concluded that extraction technique influences the allelopathic action of the different organs of *C. procera* and the reproductive organs of this species have greater allelopathic action.

Keywords: Allelopathy, secondary metabolites, aqueous extract, ultrasound, germination.

LISTA DE FIGURAS111

Figura 1. Indivíduo de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) coletado em Canindé de São Francisco, Sergipe. (A): parte aérea; (B): folha; (C): inflorescência; (D): flor; (E): pétalas; (F): fruto no estágio I; (G): fruto no estágio II; (H): fruto no estágio III; (I): caule; (J): fruto no estágio IV; (K): sementes imaturas; (L): sementes maduras.23

Figura 2. Compostos químicos isolados da raiz da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®. 28

Figura 3. Compostos químicos isolados do caule da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®. 29

Figura 4. Compostos químicos isolados da folha da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®. 30

Figura 5. Compostos químicos isolados da flor da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®. 31

Figura 6. Compostos químicos isolados do fruto da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®. 31

Figura 7. Local de ocorrência da espécie exótica invasora [*Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)] no município de Canindé de São Francisco, localizado no Alto Sertão Sergipano. Fonte: Santos, B. S. 33

Figura 8. Coleta da espécie exótica invasora [*Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)] no município de Canindé de São Francisco, localizado no Alto Sertão Sergipano. No qual (a) e (b) identificação dos indivíduos e coleta das raízes, caules e folhas; (c) coleta das flores e (d) coleta dos frutos verdes e secos. Fonte: Santos, B. S. 34

Figura 9. Germinabilidade (%) de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão. 41

Figura 10. Tempo Médio de Germinação (TMG – dias) de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão..... 43

Figura 11. Velocidade Média de Germinação (VMG – dias⁻¹) de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão..... 44

Figura 12. Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão. 45

Figura 13. Número de plântulas de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)] e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão. 46

Figura 14. Germinabilidade (%), Tempo Médio de Germinação (TMG - dias), Velocidade Média de Germinação (VMG - dias⁻¹) e Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas as soluções de polietileno glicol 6000 preparadas a partir da condutividade elétrica dos extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)]. Dados expressos em média e desvio padrão. 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos químicos isolados em diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)..... 25

Tabela 2. Valor de F (F), graus de liberdade (gl) e nível de significância (*p*) observados nos resultados dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), realizado no software STATISTICA 13.0 com os parâmetros: Germinabilidade (%), Tempo Médio de Germinação (TMG – dias), Velocidade Média de Germinação (VMG – dias⁻¹) e Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%)..... 41

Tabela 3. Valor de F (F), graus de liberdade (gl) e nível de significância (*p*) observados nos resultados da Análise de Variância com os fatores Órgão e Técnica de Extração, realizado no software STATISTICA 13.0 com o parâmetro número de plântulas de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)] e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%)..... 48

Tabela 4. Valor de F (F), graus de liberdade (gl) e nível de significância (*p*) observados nos resultados da Análise de Variância com os fatores Órgão e Técnica de Extração, realizado no software STATISTICA 13.0 com os parâmetros: Germinabilidade (%), Tempo Médio de Germinação (TMG – dias), Velocidade Média de Germinação (VMG – dias⁻¹) e Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas as soluções de polietileno glicol 6000 preparadas a partir da condutividade elétrica dos extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)]...... 50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo Geral.....	18
2.2. Objetivos Específicos	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1. Conceitos gerais de alelopatia.....	19
3.2. Técnicas de extração	19
3.3. Metabólitos secundários	21
3.4. Calotropis procera e seus metabólitos secundários.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Espécie estudada e local de coleta do material biológico	32
4.2. Técnicas de extração	35
4.3. Extrato bruto aquoso (EBA)	35
4.4. Extrato bruto aquoso ultrassônico (EBAU)	35
4.5. Montagem dos experimentos	35
4.6. Parâmetros calculados e análises estatísticas	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1. INTRODUÇÃO

A alelopatia é compreendida como os efeitos diretos ou indiretos de uma planta sobre a outra (Khon et al., 2019) que, por sua vez, pode afetar a germinação e o estabelecimento de um indivíduo no ambiente, devido à liberação de compostos químicos provenientes do metabolismo secundário das plantas (Castro et al., 2017). Portanto, a alelopatia é um fator químico, que é adicionado ao ambiente por uma planta de forma estratégica, e a quantidade de aleloquímicos diferem entre as espécies (Santore, 2013; Silva, 2021). De acordo com Ferreira e Aquila (2001), sabe-se que as plantas produzem metabólitos secundários, e estes podem variar em relação às espécies, ou até mesmo, nos diferentes órgãos da mesma planta.

A liberação de metabólitos é uma das principais características que as espécies exóticas invasoras apresentam, invadindo os ecossistemas a partir da competição e da liberação de metabólitos, nos quais induzem a alelopatia. Uma vez introduzida no ambiente, espécies exóticas invasoras causam um desequilíbrio ambiental, já que alteram o nicho ecológico das espécies nativas causando um desequilíbrio na comunidade autóctone (Vila, 2017). Isso ocorre por se tratar de uma introdução e um consequente estabelecimento da planta exótica dentro de um novo ecossistema, sendo esta capaz de desenvolver populações auto regenerantes, competir por recursos sem a presença de inimigos naturais e ainda produzir compostos químicos com ação alelopática que afetam a fisiologia das espécies nativas (Moro *et al.*, 2012).

No meio ambiente, as espécies competem por recursos e por espaço, diante disso, a produção e a liberação de compostos químicos é uma estratégia adaptativa que interfere no sucesso reprodutivo de outros organismos. De acordo com Carvalho (2013) as plantas produzem metabólitos secundários e estes apresentam funções ecológicas do tipo: proteção contra herbívora, patógenos, atração de dispersores e polinizadores e na sucessão da espécie.

Já é descrito na literatura que, nos diferentes órgãos das plantas, há a produção de metabólitos distintos nos quais podem apresentar efeito alelopático não uniforme durante o processo germinativo (Castro *et al.*, 2017). Além disso, existem várias técnicas de extração de compostos aleloquímicos, que apresentam como foco avaliar a dose-resposta

das diferentes concentrações dos extratos entre as plantas doadoras *versus* receptoras, para isso, são utilizados vários solventes orgânicos, tempos e temperaturas de extração (Wandscheer *et al.*, Ribeiro e Lima, 2011). As extrações dos compostos químicos são realizadas a partir de solventes com diferentes polaridades, a fim de extrair classes de compostos distintos, sendo a água um dos solventes orgânicos responsáveis pela extração de alcaloides e saponinas a depender do seu pH (Simões *et al.*, 2007).

O método de turbolização é o mais utilizado em laboratório, no qual consiste que o material vegetal tenha suas partículas reduzidas em tamanhos menores, ao tempo que ocorre a extração, havendo o rompimento celular e dissolução de substâncias químicas ativas até a sua exaustão (Brandão e Tamayose 2020). Em laboratório de pequena escala são utilizados liquidificadores tendo sempre o destaque ao solvente utilizado. Trata-se de um método simples, rápido e eficiente permitindo utilizá-lo em pesquisas e trabalhos de pequenas e médias escalas, no entanto, há dificuldade em relação ao processo de filtração do material, bem como, à necessidade do controle da temperatura e dos solventes voláteis. Além disso, esta técnica pode apresentar limitações quando se trata de matérias com elevada dureza, como caules e raízes (Brandão e Tamayose, 2020; Santos, 2020).

Outra técnica bastante promissora na extração de compostos aleloquímicos e através da utilização do Ultrassom. Esse método consiste na modificação das estruturas celulares por meio das vibrações mecânicas, ocasionando ciclos de compressão e expansão das células vegetais, desse modo, as partes constituintes das células são misturadas com o solvente com maior facilidade, aumentando a eficiência da extração (Brandão e Tamayose, 2020).

Portanto, diferentes técnicas de extração e diferentes órgãos da planta, promovem resultados diferenciados em relação ao efeito alelopático na germinação de sementes e no estabelecimento de plântulas. A partir daí, surgem os seguintes questionamentos: existem uma relação na proteção dos diferentes órgãos de *C. procera* proporcionada por compostos secundários com efeito alelopático? Além disso, diferentes técnicas de extração influenciam a ação alelopática dos extratos provenientes dos diversos órgãos de *C. procera* com efeito alelopático? Para responder a duas perguntas norteadoras deste estudo foram propostas as seguintes hipóteses: (1) Devido à sua importância para o sucesso da invasão biológica, os órgãos na fase reprodutiva de *C. procera* invasora promovem maior efeito alelopático; (2) Diferentes técnicas de extração promovem

resultados diferenciados em relação ao efeito alelopático na germinação de sementes e estabelecimento de plântulas; (3) A sobrevivência das plântulas é afetada negativamente pelos extratos de *C. procera*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o efeito das técnicas de extração na ação alelopática de diferentes órgãos de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), uma espécie exótica invasora presente no Alto Sertão Sergipano.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar qual técnica promove maior ação alelopática sobre a germinação das sementes e o estabelecimento das plântulas;
- Comparar o efeito alelopático dos diferentes órgãos de uma planta exótica invasora durante o processo germinativo;
- Simular as concentrações com Polietileno glicol 6000 a partir da condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) dos extratos dos diferentes órgãos da planta;
- Avaliar a sobrevivências das plântulas oriundas dos testes de germinação.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Conceitos gerais de alelopatia

De acordo com Ferreira e Aquila (2000), a alelopatia é a condição na qual ocorre a adição de um elemento químico ao meio ambiente em que a planta se encontra. Possivelmente, essa adição causa interferências na germinação e no estabelecimento de outras plantas. Nesse sentido, a alelopatia pode ser caracterizada como qualquer efeito nocivo direto ou indireto apresentado por uma planta (incluindo microrganismos). Ainda, pode ser considerada como uma interação benéfica ou está relacionado aos danos causados por interações biológicas (Rice, 1979). Outras concepções de alelopatia foram discutidas e colocadas em prática por Muller (1974) e Wardle (1987), os quais classificaram a ação alelopática como sendo uma produção e liberação de toxinas pela planta, a concentração da toxina no solo e sua posterior interferência em outras plantas, desconsiderando qualquer outro fator que cause interferência no vegetal

O efeito alelopático pode estar atrelado há alguns fatores abióticos como, por exemplo, a luz, os sais minerais e a água, que irão influenciar a disposição desses compostos alelopáticos no ambiente (Khon et al. 2019). Portanto, apenas os compostos orgânicos podem ser vistos como agentes alelopáticos (Vila, 2017).

Em relação à determinação de interferências da planta com alelopatia no ambiente, estas podem ser quantificadas desde o grau de redução de crescimento, a identificação de substâncias químicas presente no vegetal, a obtenção de toxicidade e a detecção da ação alelopática no receptor e na planta doadora (Putnam e Tang, 1986; Ferreira e Aquila, 2001; Pires e Oliveira, 2011). Uma maneira de determinar a influência da alelopatia é a utilização e extratos de diferentes órgãos vegetais, que apresentam metabolitos secundários, os quais podem causar inibição ou mesmo interferindo no desenvolvimento inicial de outras plantas (Neis e Cruz-Silva, 2003; Dolianitis *et al.*, 2022).

3.2. Técnicas de extração

Efeitos alelopáticos foram demonstrados experimentalmente pela aplicação de extratos vegetais em sementes ou mudas de outras espécies. Existem várias técnicas para extração de aleloquímicos, mas, na maioria dos casos, a extração é feita por trituração de

partes da planta e contato com água ou solventes orgânicos como álcool, acetona, éter, clorofórmio. Independente do solvente orgânico utilizado para a preparação, o extrato contendo compostos aleloquímicos é obtido após filtração e eliminação do solvente, sendo redissolvido em água (Pires e Oliveira, 2011).

A maceração é um método de extração a frio comumente usado por sua simplicidade e baixo custo. O processo consiste em deixar o material vegetal em contato com um solvente à temperatura ambiente, com agitação ocasional, para facilitar a extração e difusão dos compostos. No entanto, a maceração pode não ser eficaz para compostos pouco solúveis (AZMIR et al., 2013).

A turbolização, ou turboextração, é uma técnica que combina extração e redução do tamanho das partículas através da aplicação de altas forças de cisalhamento. Isso perturba as células vegetais, permitindo a rápida dissolução de compostos ativos e quase esgotamento do material vegetal. O método é eficiente, simples e versátil, mas pode ser limitado pela dificuldade em separar a solução extrativa por filtração, possível geração de calor e limitação da técnica com materiais duros ou líquidos voláteis. Alguns autores sugerem o uso de liquidificador para pequenas quantidades, atentando-se para a estabilidade da solução extrativa e controle de temperatura durante o procedimento. (NAVARRO, 2005).

Na extração de compostos fenólicos, a técnica de extração com o ultrassom (US) vem sendo utilizada em diversas matrizes vegetais. Dentre os benefícios do seu uso, estão a redução do uso de solventes orgânicos, melhoria no tempo e o consumo de energia, além de otimização da recuperação de compostos alvo (Vuong *et al.*, 2015).

O US é uma onda sonora mecânica com frequência superior a 20 kHz. As ondas do US se propagam em diversos meios (sólidos, líquidos ou gasosos) e estimulam o deslocamento longitudinal das partículas presentes, promovendo compressão e expansão da matéria. Com isso, são criados pequenos vazios no meio de propagação (microbolhas de cavitação), que são produzidas por este método. Ao implodir, as bolhas liberam grandes quantidades de calor e pressão no meio (O' Donnell *et al.*, 2010).

A extração por US é uma das técnicas de extração mais eficientes em comparação com métodos convencionais para extrair compostos biologicamente ativos de plantas

(Vinatoru *et al.*, 2017). O US acelera o processo em baixa temperatura com menos danos às propriedades estruturais e moleculares dos compostos na matriz vegetal (Yuan *et al.*, 2015). Por isso, a técnica tem sido utilizada para acelerar o processo e reduzir o tempo de extração (Reátegui *et al.*, 2014).

Para compostos bioativos, a eficiência do US para auxiliar a extração tem sido relatada na literatura (Okur *et al.*, 2021). Wen *et al.* (2019) analisaram o efeito da extração assistida por US usando água e metanol-água como solventes em amostras de filme de prata e observaram que o uso desse equipamento melhorou significativamente o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante do extrato em comparação com o controle.

3.3. Metabólitos secundários

A procura por plantas para o consumo humano, seja para alimentação, alívio ou cura de doenças, pode ter sido um ponto inicial para um levantamento e classificação das plantas medicinais (Pereira e Cardoso, 2012). Com isso, surgem novos estudos sobre a constituição química das plantas, permitindo um desenvolvimento acelerado nas pesquisas para a compreensão das substâncias ativas nos vegetais, tendo um melhor entendimento dos metabólitos secundários (Pereira e Cardoso, 2012; Viegas Jr. *et al.*, 2006). Todas as plantas têm a capacidade de produzir metabólitos secundários e essa característica pode ser mais comum nas plantas selvagens, por desenvolverem meios de adaptação para a competição com outras plantas no ambiente, bem como na produção de compostos químicos para defesa contra a ação de predadores e inimigos naturais (Souza Filho e Alves, 2002; Pereira e Cardoso, 2012).

De acordo com Vizotto *et al.* (2010), a Fitoquímica é uma área da Ciência que investiga diversos grupos de plantas, da estrutura molecular até as propriedades biológicas de cada vegetal, o que permite um melhor entendimento e registro das partes constituintes que são, muitas delas, resultantes do metabolismo secundário, sendo isso feito a partir do isolamento de suas estruturas moleculares. A existência desses metabólitos secundários que apresentam uma natureza química diversificada confere às plantas estratégias de defesa que irão protegê-las de outras plantas vizinhas dentro do próprio ecossistema, como também de outros predadores e patógenos (Vizzotto *et al.*, 2012; Croteau *et al.*, 2000; Pinto *et al.*, 2002).

Para compreender a essência dos compostos alelopáticos é necessário que seja feito o isolamento para posterior identificação. Esses compostos já foram classificados em grupos químicos distintos como: terpenóides, esteróides, alcalóides, acetogeninas e fenilpropanóides (Whittaker e Feeny, 1971), ou ainda os terpenóides, policetonas, poliacetilenos, fenilpropanóides, flavonóides, aminoácidos não-protéicos, glucosinatos, glucosídeos cianogênicos, amins e alcalóides (Alves e Santos, 2010; Wink e Twardowski, 1992). Já Rice (1984) trouxe uma classificação mais abrangente desses metabólitos secundários, sendo: ácidos orgânicos solúveis em água, álcool de cadeia linear, aldeídos e cetonas, flavonóides, quinonas, fenóis, ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos, lactonas, purinas e nucleotídeos, taninos, terpenóides e esteróides, glicosídeos, aminoácidos e polipeptídeo, alcalóides e cianodrinas. Esse agrupamento de compostos em grupos químicos distintos permite conhecer as respostas da ação alelopática que se assemelham ou se diferem de acordo com a classe química do composto alelopático (Alves e Santos, 2010).

3.4. *Calotropis procera* e seus metabólitos secundários

A espécie *Calotropis procera* é nativa da Ásia e da África e foi introduzida no Brasil como planta ornamental, tornando-se invasora dentro dos diferentes ecossistemas brasileiros (Parsons e Cuthbertson, 2001; Sobrinho *et al.*, 2013; Wadhvani *et al.*, 2021). Trata-se de um arbusto perene, de 2 a 4 metros de comprimento, suas flores são hermafroditas, com frutos do tipo folículo (fruto seco e deiscente), suas sementes contém fios de seda e coloração marrom (Figura 1). São polinizadas por abelhas e vespas (melitofilia), e dispersas pelo vento (anemocoria) (Sobrinho *et al.*, 2013; Varanda e Barosela, 2020).

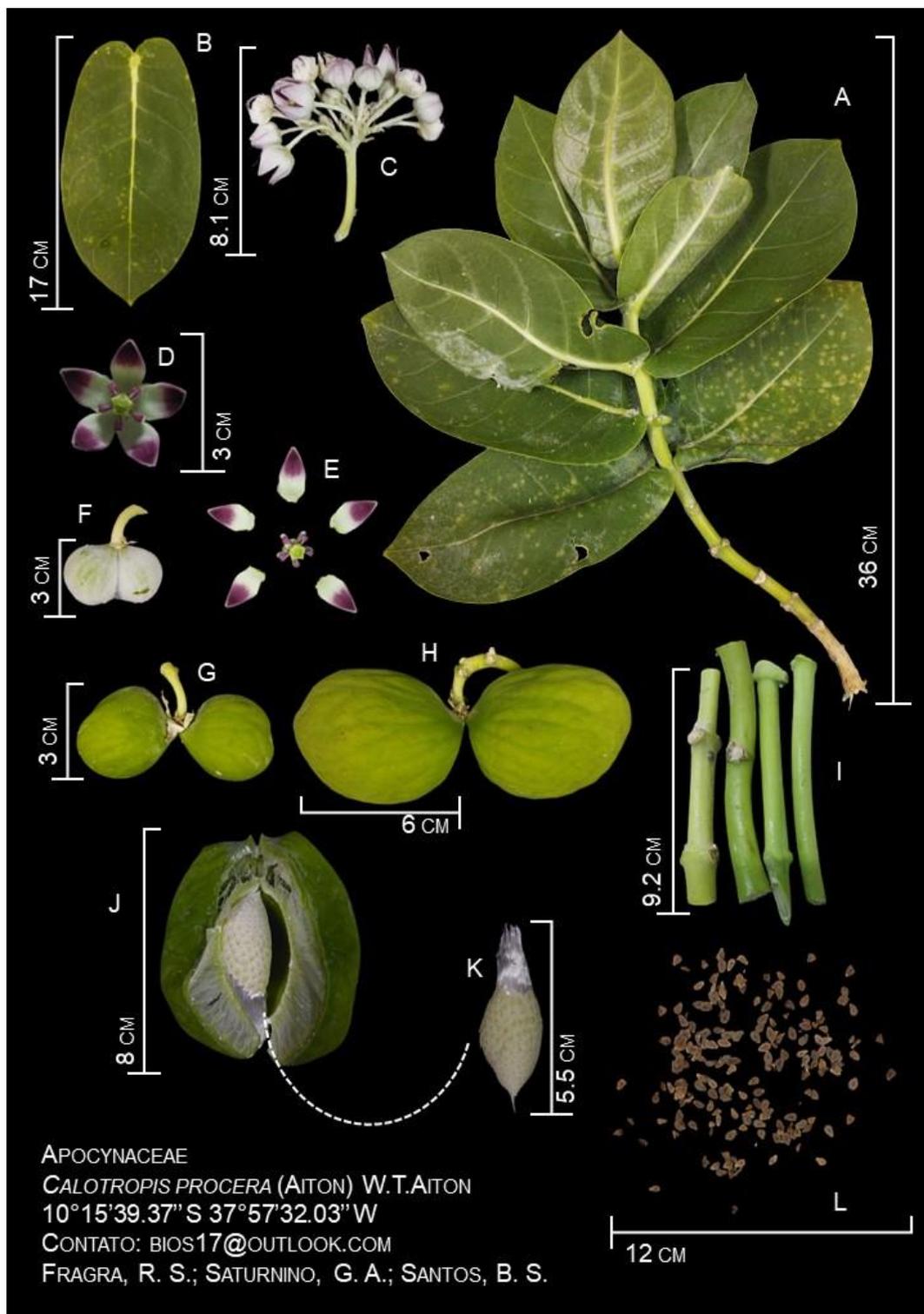


Figura 1. Indivíduo de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) coletado em Canindé de São Francisco, Sergipe. (A): parte aérea; (B): folha; (C): inflorescência; (D): flor; (E): pétalas; (F): fruto no estágio I; (G): fruto no estágio II; (H): fruto no estágio III; (I): caule; (J): fruto no estágio IV; (K): sementes imaturas; (L): sementes maduras.

Com relação aos metabolitos da espécie estudada já está comprovado que essa planta apresenta ação alelopática devido à existência de metabólitos secundários em seus órgãos (Gulzar e Siddiqui, 2017; Wadhvani *et al.*, 2021). Os diferentes metabólitos secundários são sintetizados por rotas bioquímicas distintas, por exemplo, os alcaloides são oriundos de aminoácidos alifáticos não proteicos, como pirrolizidínicos, pirrolidínicos, e tropânicos e os derivados da lisina, como os indolizidínicos, quinolizidínicos e piperidínicos.

Os terpenos são sintetizados a partir da rota do acetato mevalonato e metileritritol fosfato, são reações bioquímicas que ocorrem nos plastídios presentes nas raízes, caules e flores, na *C. procera* foram encontrados nas raízes e flores (Tabela 1) (Figura 2 e 5) (Varanda e Barosela, 2020; Santos, 2020; Wadhvani *et al.*, 2021). Os flavonoides são sintetizados a partir da via do ácido chiquímico, e apresentam como principal característica a presença de pelo menos um grupamento hidroxila (OH) ligado a ele. Esta via é presente em microrganismos e plantas sendo ausente em animais (Santos, 2020). As flavonas e flavonóis funcionam como uma barreira de proteção à radiação ultravioleta, como co-pigmentos e guias de néctar; na *C. procera* foram encontrados flavonoides em caule, folha, flores e frutos (Tabela 1) (Figura 3, 4, 5 e 6) (Varanda e Barosela, 2020; Santos, 2020; Wadhvani *et al.*, 2021).

Tabela 1. Compostos químicos isolados em diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae).

Classe	Composto	Fórmula	Eluente	Órgão
Esteróide	Daucosterol	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	Etanol	Raiz
Esteróide	Calotropin	C ₂₉ H ₄₀ O ₉	Clorofórmio	Raiz
Terpenos	α-Amyrin acetate	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	Éter-clorofórmio (1:9)	Raiz
Terpenos	Taraxasterol	C ₃₀ H ₅₀ O	n-Hexano-etil acetato	Raiz
Glicosídeos alifáticos	Butanediol diglucuronoside	C ₁₇ H ₂₂ O ₉	Clorofórmio-metanol (4:1)	Raiz
Outros	Capryl glucoside	C ₁₆ H ₃₁ O ₇	Clorofórmio-metanol (49:1)	Raiz
Outros	Methyl behenate	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	Clorofórmio-metanol (99:1)	Raiz
Outros	N-Dotriacont-6-ene	C ₃₂ H ₆₄	Éter-clorofórmio (3:1)	Raiz
Outros	Methyl myrisate	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Clorofórmio	Raiz
Outros	Stearylglucoside	C ₂₄ H ₄₇ O ₇	Clorofórmio-metanol (93:7)	Raiz
Flavonoides	Luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	n-Hexano-acetona (70:30)	Caule
Flavonoides	Epicatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	n-Hexano-acetona (60:40)	Caule
Esteróides	Calotropagenin	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	Hexano-di-etil éter (9:11)	Caule
Terpenos	Oleanolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	Benzeno-etil acetato (10:1–1:10)	Caule
Esteróides	Uzarin	C ₃₅ H ₅₄ O ₁₄	Clorofórmio-metanol (70:30)	Caule
Flavonoides	Isorhamnetin	C ₁₆ H ₁₂ O	80% metanol	Folha
Flavonoides	Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	80% metanol	Folha

Flavonoides	Isoquercitrin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	70% metanol	Folha
Flavonoides	Azaleatin	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	80% metanol	Folha
Flavonoides	Quercetin-3-O-rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Etil acetato: água: ácido fórmico: ácido acético glacial	Folha
Ácido	Methyl caffeate	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	30–50% metanol aquoso	Folha
Ácido	Caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	30–50% metanol aquoso	Folha
Outros	2-Propenyl-2Z-hydroxyethyl carbonate	-	-	Folha
Outros	6,10,14-Trimethyl- pentadecanone-2	C ₁₈ H ₃₆ O	GC-MS análise	Folha
Outros	9-Octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O	GC-MS análise	Folha
Outros	(6Z,9Z)-Pentadecadien-1-ol	C ₁₅ H ₂₈ O	GC-MS análise	Folha
Outros	Ergost-5-en-3-ol	C ₂₈ H ₄₈ O	GC-MS análise	Folha
Esteróides	Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	Hexano-etil acetato	Flor
Esteróides	β-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	Hexano-etil acetato	Flor
Terpenos	α-Amyrin	C ₃₀ H ₅₀ O	Diclorometano-metanol (1:1)	Flor
Terpenos	β-Amyrin	C ₃₀ H ₅₀ O	Diclorometano-metanol (1:1)	Flor
Glicosídeos alifáticos	Methyl 4-O-β- D- glucopyranosyl ferulate	C ₁₇ H ₂₂ O ₉	Água-metanol (1:1)	Flor
Outros	Methyl ferulate	-	Clorofórmio-metanol (8,5:1,5)	Flor

Flavonoides	Kaempferol-3-O-rutinoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Etil acetato: água: ácido fórmico: ácido acético glacial	Fruto
Lignina	Syringaresinol-4-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	Água-metanol (1:1)	Fruto

Adaptado (Wadhvani et al., 2021)

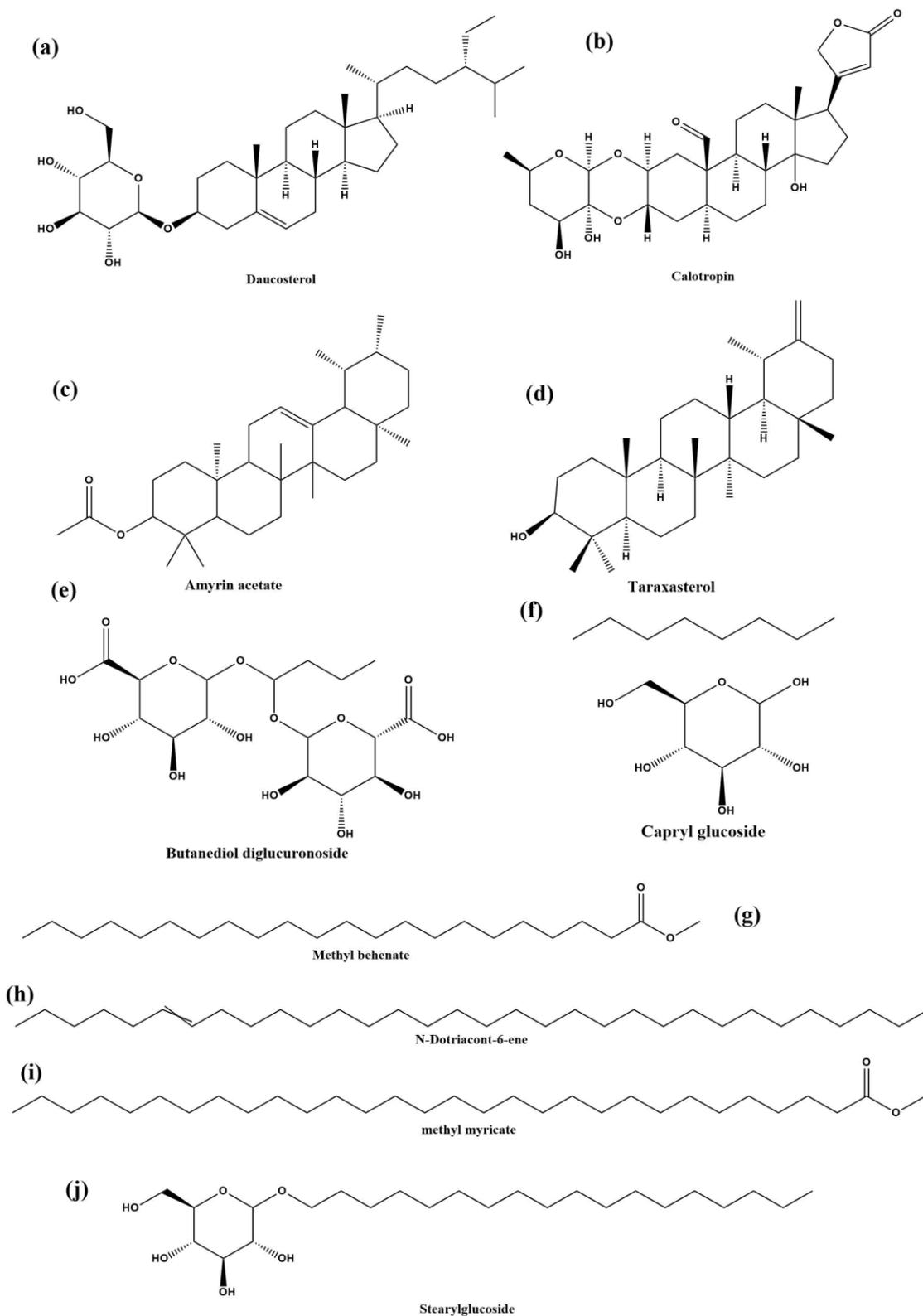


Figura 2. Compostos químicos isolados da raiz da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®.

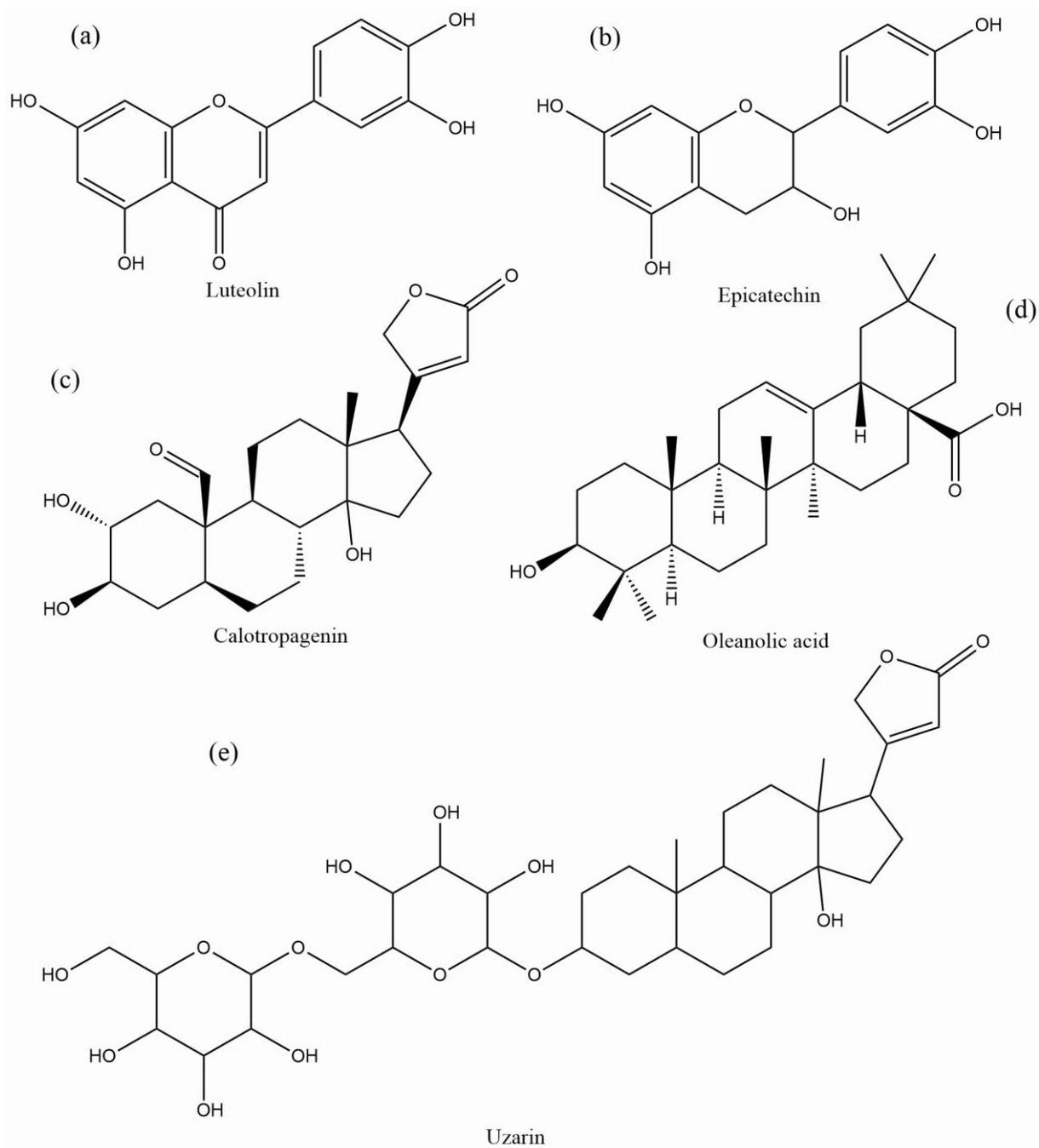


Figura 3. Compostos químicos isolados do caule da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®.

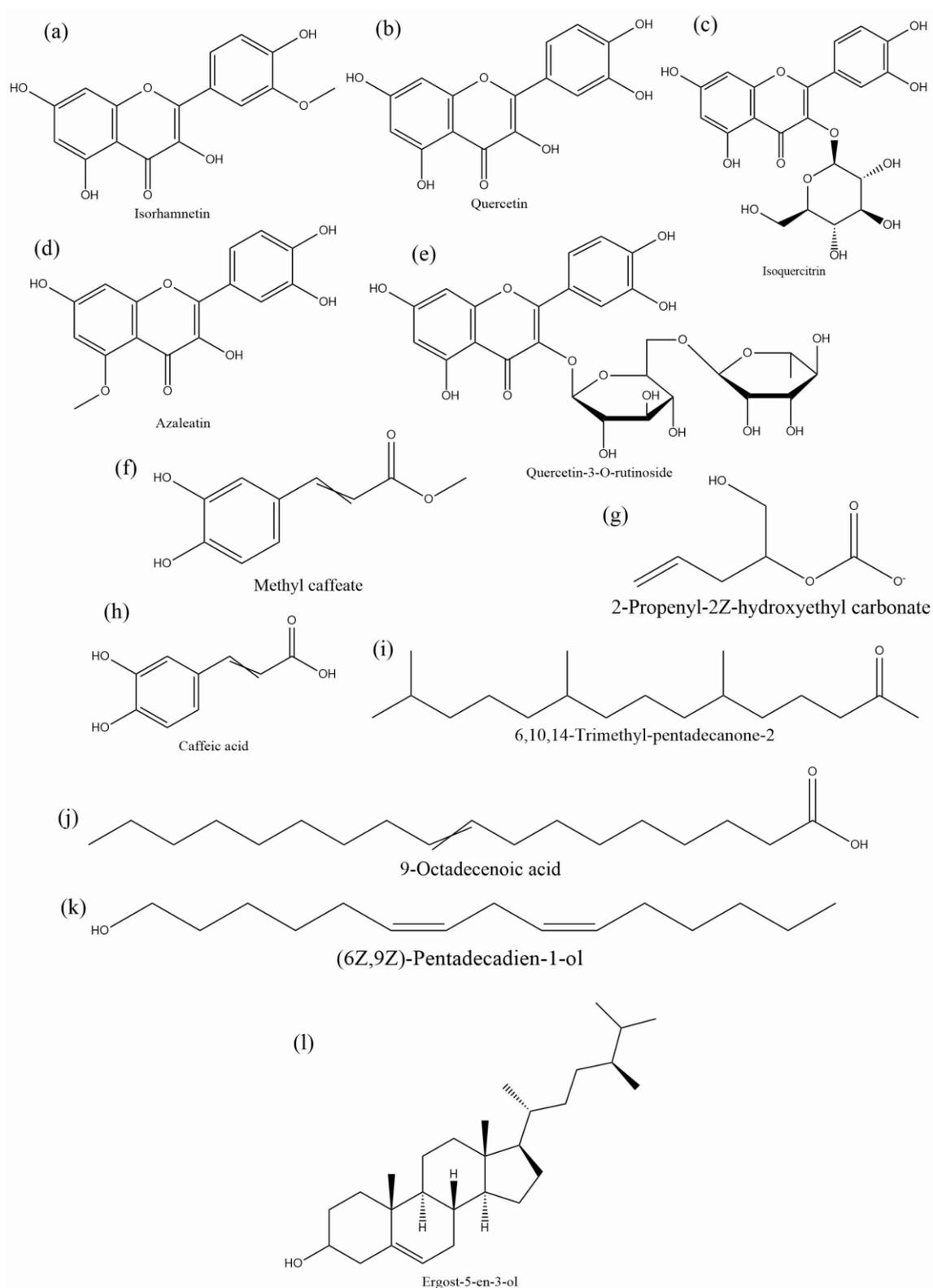


Figura 4. Compostos químicos isolados da folha da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®.

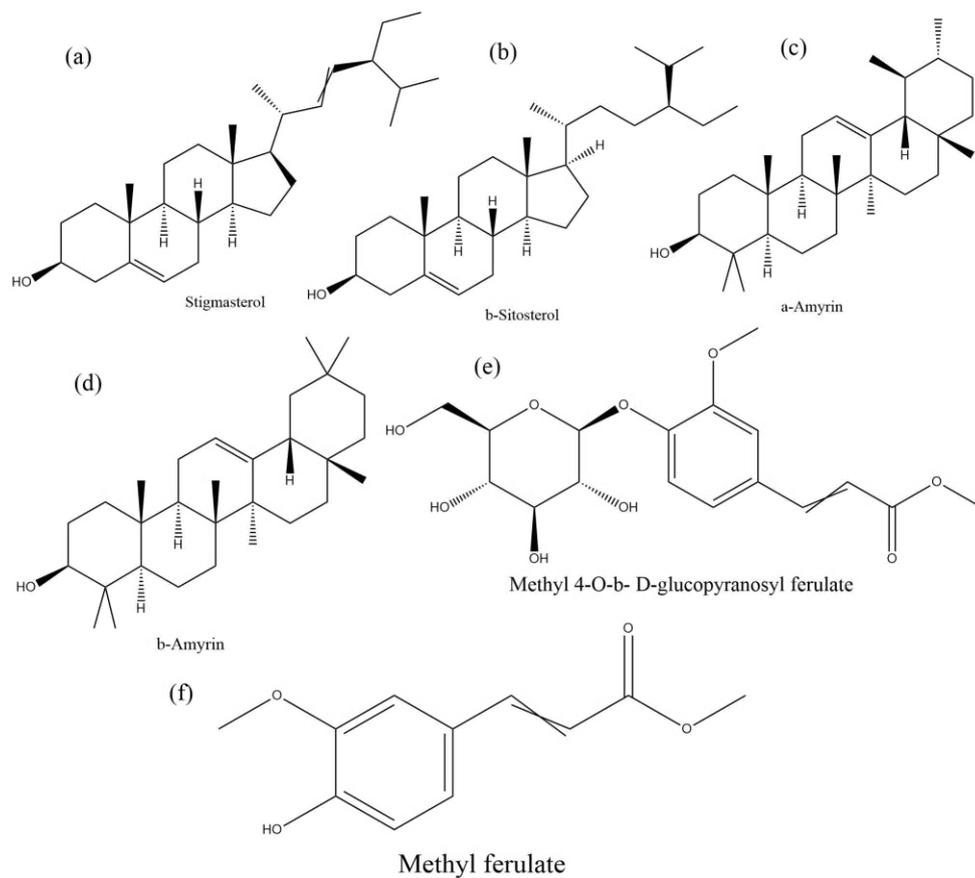


Figura 5. Compostos químicos isolados da flor da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®.

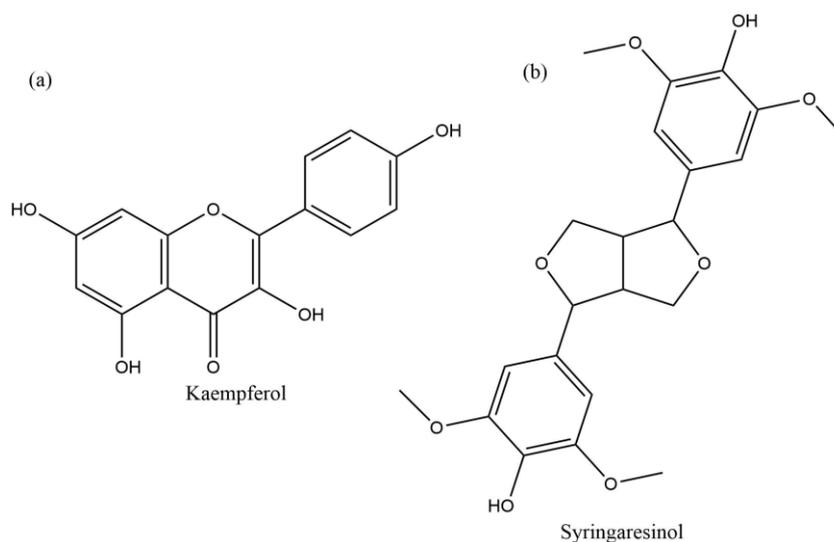


Figura 6. Compostos químicos isolados do fruto da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae) provenientes do metabolismo secundário. As moléculas foram construídas a partir do programa ChemDraw®.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. *Espécie estudada e local de coleta do material biológico*

Calotropis procera é uma espécie exótica invasora presente no Estado de Sergipe. Por ser uma planta exótica invasora, esta espécie tem um alto potencial em se adaptar e reproduzir-se, podendo até mesmo eliminar e substituir espécies nativas do ambiente (Ziller, 2000), o que, de certa forma, altera o nicho ecológico. Para realizar este estudo foram coletadas as estruturas vegetais da espécie em uma população localizadas em áreas de Caatinga do município de Canindé de São Francisco, no Alto Sertão Sergipano, na região Nordeste do Brasil (Figura 7).

Na área de coleta, foram selecionados 20 indivíduos adultos reprodutivos para a obtenção das amostras. De cada indivíduo foram coletadas amostras de raiz, caule, folhas, flores, frutos verdes e frutos secos, totalizando seis tratamentos correspondentes aos diferentes órgãos avaliados (Figura 8). As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e transportadas para o laboratório, onde foram higienizadas em água corrente e descartadas partes contaminadas por microrganismos ou consumidas por insetos. Após esse procedimento, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar, a 60 °C, por 72 horas. Após a secagem, o material foi triturado e utilizado para o preparo dos extratos.

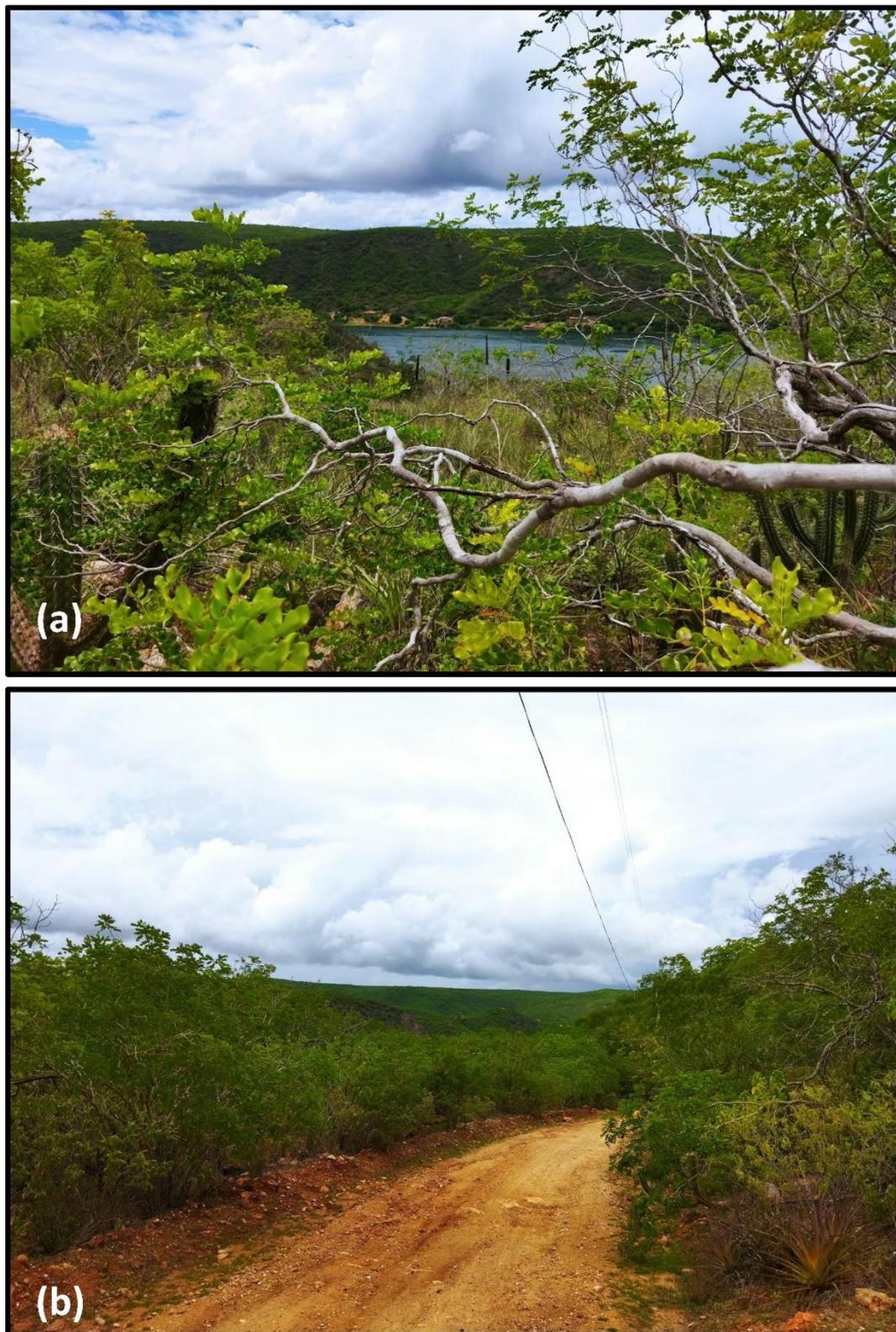


Figura 7. Região de Caatinga no município de Canindé de São Francisco, localizado no Alto Sertão Sergipano. Fonte: Santos, B. S.

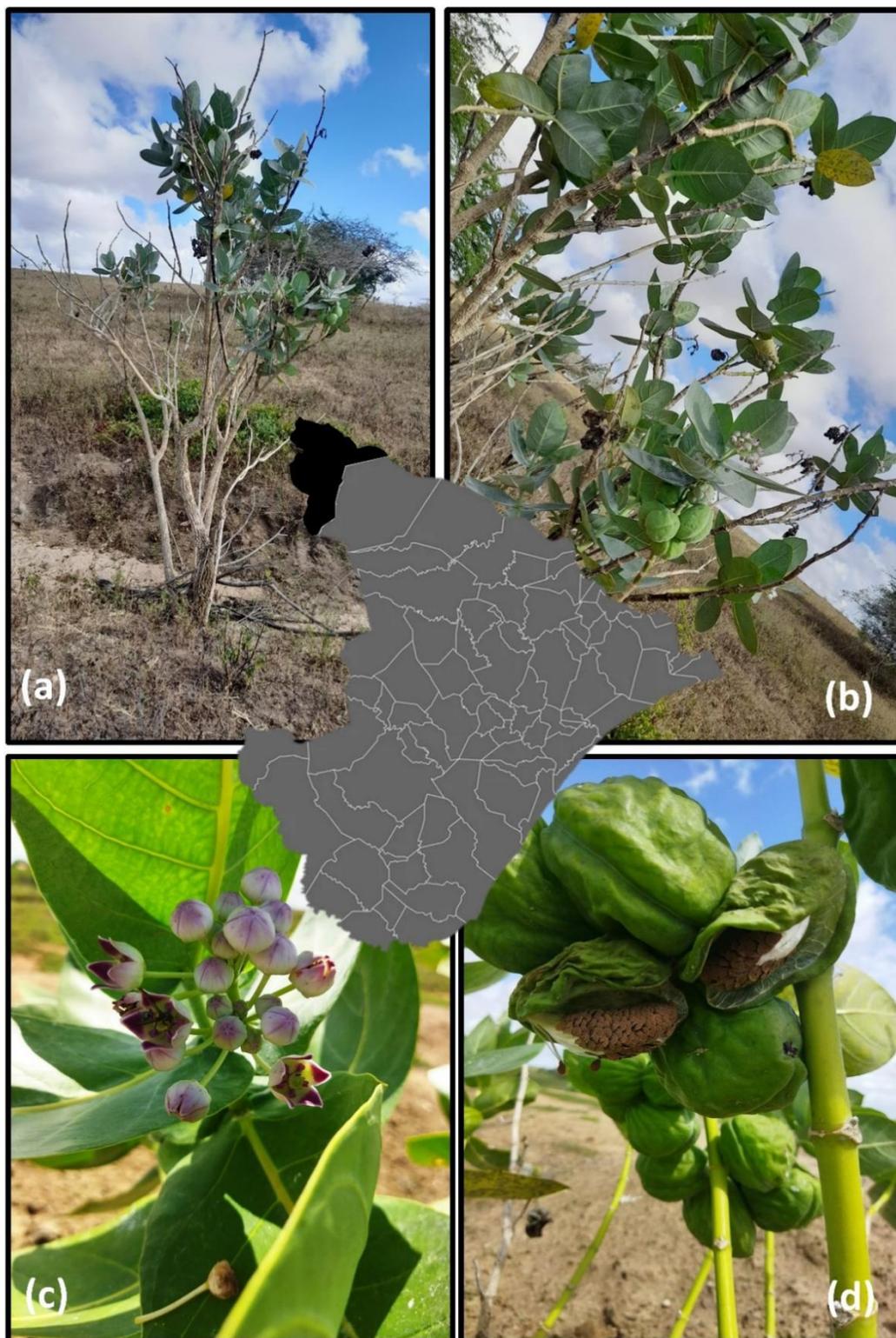


Figura 8. Coleta da espécie exótica invasora [*Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae)] no município de Canindé de São Francisco, localizado no Alto Sertão Sergipano. No qual (a) e (b) identificação dos indivíduos e coleta das raízes, caules e folhas; (c) coleta das flores e (d) coleta dos frutos verdes e secos. Fonte: Santos, B. S.

4.2. Técnicas de extração

4.3. Extrato bruto aquoso (EBA)

As amostras desidratadas e trituradas referentes a cada órgão foram adicionadas em um béquer de 200 mL contendo água destilada, respeitando a proporção de 1:10 (amostra desidratada: volume de água destilada). Os béqueres foram vedados com parafilme e papel alumínio e foram mantidos em repouso por 24 horas, em temperatura de 25°C, com posterior filtragem. As amostras produzidas após a filtragem foram consideradas como sendo os extratos brutos aquosos de cada órgão avaliado (EBA_{100%}). Posteriormente, foram produzidos extratos em diferentes diluições, sendo o EBA_{100%} de cada órgão diluído em água destilada nas seguintes concentrações: 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%. A última concentração mencionada foi considerada como controle, contendo apenas água destilada, totalizando 11 tratamentos de concentrações distintas, todos produzidos a partir dos EBA_{100%} de cada um dos seis órgãos avaliado (Santos *et al.*, 2019).

4.4. Extrato bruto aquoso ultrassônico (EBAU)

Para a realização da técnica do extrato aquoso combinado com o ultrassom, as estruturas vegetais (órgãos), após serem trituradas para o preparo das amostras, foram colocadas em um béquer de 100 mL contendo água destilada na proporção de 1:10 (amostra desidratada: volume de água destilada) e, em seguida, foram mantidas em ultrassom por 30 minutos, em uma temperatura de 25 °C e frequência de 40 kHz. Após esse procedimento, as amostras de cada órgão foram filtradas, sendo considerados como extratos brutos aquosos ultrassônicos (EBAU_{100%}) e utilizados para a realização das diluições nas mesmas concentrações dos EBA_{100%}: 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%. As diluições dos EBAU_{100%} de todos os seis órgãos também foram realizadas utilizando-se água destilada.

4.5. Montagem dos experimentos

Para testar o efeito alelopático dos extratos provenientes de ambas as técnicas de extração foram separadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo duas folhas de papel filtro umedecidas com 8 mL da solução correspondente à concentração de cada tratamento. Após preparo das placas com a solução, foram distribuídas 20 sementes de

alface, totalizando um número de cinco repetições por cada tratamento. Após montagem do experimento, as placas foram mantidas na sala de crescimento do Laboratório de Fisiologia de Sementes, da Universidade Federal de Sergipe, a uma temperatura ambiente de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. O experimento foi avaliado diariamente por um período de 21 dias, sendo os 14 dias iniciais para avaliar a germinação e os sete últimos dias para observar a sobrevivência das plântulas a partir desta germinação.

Para avaliar o efeito que o potencial osmótico dos diferentes extratos tem sobre a germinação das sementes de alface, foram calculados os potenciais osmóticos dos EBA_{100%} e EBAU_{100%} produzidos a partir de todos os órgãos da planta invasora avaliados neste estudo. Para a realização desses cálculos, foram obtidos dados de condutividade elétrica dos extratos, sendo os valores convertidos de $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ para mega pascal (MPa), de acordo com Goma *et al.* (2014). Também foram obtidos dados de pH de todos os extratos avaliados e, com essas duas informações, foram produzidas soluções de polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) com osmolaridade e pH iguais aos dos EBA_{100%} e EBAU_{100%}, para excluir a possibilidade de uma interferência osmótica no efeito alelopático dos extratos avaliados (Villela *et al.*, 1991).

4.6. Parâmetros calculados e análises estatísticas

Com os dados diários de germinação e utilizando-se o programa GerminaQuant (Marques *et al.*, 2015), foram calculados a germinabilidade ($G = (N/100)100$, onde N = número de sementes germinadas ao final do teste. Unidade: %), o tempo médio de germinação [$\bar{t} = \sum_{i=1}^k n_i t_i / \sum_{i=1}^k n_i$, onde t_i é o período desde o início do experimento até a i -ésima observação, n_i é o número de sementes germinadas no tempo t_i (não o número acumulado, mas o número correspondente à i -ésima observação) e k o último tempo de germinação. Unidade: semanas], a velocidade média de germinação ($\text{VMG} = \frac{1}{\bar{t}}$ onde: \bar{t} = tempo médio de germinação. Unidade: dias⁻¹) e a sincronia (Z) ($Z = \frac{\sum C_{ni,2}}{C \sum n_{i,2}}$; sendo $C_{ni,2} = n_i(n_i - 1)/2$; onde $C_{ni,2}$ é a combinação de sementes germinadas na i -ésima observação, dois por dois, e n_i é o número de sementes germinadas na i -ésima observação) (Ranal e Santana, 2006).

A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram verificadas através dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente.

Os resultados foram submetidos a um Modelo Linear Generalizado (GLM) com três fatores categóricos (órgão vegetal, técnica de extração e concentração, sendo a último aninhado à técnica de extração). Todas as análises foram realizadas no programa STATISTICA 13 com $\alpha = 5\%$ (Statsoft, 2021).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao observar os valores de germinabilidade percebe-se que este parâmetro sofreu influência das técnicas de extração, bem como das diferentes concentrações, sendo perceptível que houve diferenças significativas entre todos os órgãos avaliados (Tabela 2). É notável que as técnicas EBA e EBAU interferem na germinabilidade das sementes, quando estas são expostas as concentrações nos diferentes extratos realizados a partir dos diferentes órgãos da *C. procera*. No entanto, quando comparadas, a técnica EBA influenciou de forma negativa a germinabilidade em relação ao EBAU (Figura 9). Portanto, os seguintes resultados corroboram com a hipótese: Diferentes técnicas de extração promovem resultados diferenciados em relação ao efeito alelopático na germinação de sementes e estabelecimento de plântulas.

Com relação as técnicas de extração para a realização de bioensaios de germinação, são utilizados solventes orgânicos de várias polaridades combinados com técnicas de processamento do material, os quais são responsáveis por extrair classes de metabólitos secundários distintos do material vegetal (Piovesan, 2016). No presente trabalho foi utilizado como solvente de extração a água para as técnicas EBA e EBAU devido ao tamanho diminuto de sua molécula e a sua polaridade, tendo a capacidade de neutralizar cargas de moléculas, facilitando as interações entre líquido-sólido (Brandão e Tamayose, 2020). Apesar da extração por banho ultrassônico apresentar vantagens relacionadas com a rapidez e o baixo custo esta não foi a que conseguiu extrair de forma mais eficiente os metabólitos produzidos pela *C. procera*.

Para o caule, percebe-se que houve diferença significativa entre as técnicas de extração, nas quais os valores de germinabilidade foram de até 50% para a técnica de extração com ultrassom na concentração de 60%. Os valores máximos de germinabilidade observados quando as sementes foram submetidas ao EBA foi de 40% na concentração de 10%. À medida que foram aumentando as concentrações dos extratos preparados com

o caule, houve um declínio no percentual de germinação, indicando que este órgão exerceu maior efeito alelopático quando comparado com a raiz (Figura 9).

Nos extratos preparados com as folhas foi observada a germinação até a concentração de 80% para ambas as técnicas. Menos de 20% de germinabilidade das sementes foi observada no EBA, enquanto o EBAU proporcionou uma germinabilidade máxima de 50%, tendo este órgão um efeito alelopático como os dois órgãos mencionados anteriormente (Figura 9).

Os compostos alelopáticos existentes nas folhas de *C. procera* desempenham um papel de inibição no crescimento e produção de outras espécies. A germinação e o desenvolvimento de plântulas sofreram alterações nas concentrações mais baixas dos extratos produzidos com amostras dessa espécie, o que indica a presença de aleloquímicos nas folhas de *C. procera*. Seus aleloquímicos liberados no ambiente se tornam uma estratégia de interferência competitiva, que pode conferir a espécies com essa capacidade, vantagens sobre outras espécies (Fabricante *et al.*, 2013). Extratos produzidos com a planta *C. procera* têm efeito inibitório na taxa de germinação e comprimento de plântulas de várias espécies testadas (Al-Rowaily *et al.*, 2020).

Para os extratos produzidos com frutos verdes, foi observado que, a partir da concentração de 70%, houve um declínio na germinação das sementes, chegando a ser nula. Porém, é importante ressaltar que, mesmo em baixas concentrações de 10% a 20%, houve maior germinabilidade na técnica do ultrassom quando comparada com o EBA (Figura 9). Nos extratos produzidos com os frutos secos, é notável que houve germinação em todas as concentrações nas duas técnicas avaliadas. As sementes germinaram em elevadas concentrações dos extratos em ambas as técnicas de extração, sendo que para a técnica do ultrassom houve maior germinabilidade (Figura 9). Sendo assim, todos os órgãos da espécie estudada apresentam efeito alelopáticos, sendo estes reduzidos nos frutos nas técnicas estudadas.

Além da germinação, os compostos aleloquímicos podem atuar na pós-germinação por diversos meios para ocasionar um efeito negativo durante a formação da plântula. Tais meios podem ter alterações na divisão, alongamento e estrutura das células, mudanças na permeabilidade da membrana, produção de hormônios de crescimento,

absorção de água e nutrientes, respiração, fotossíntese, indução ao estresse oxidativo, síntese de proteínas e ácidos nucleicos (Rice, 2012; Yan *et al.*, 2015).

A presença de triterpenóides pentacíclicos influenciam o crescimento de plantas daninhas vizinhas por inibir a germinação de sementes, o crescimento da radícula e o funcionamento do fotossistema II (Wang *et al.*, 2014). Na *C. procerus* foi identificado terpenoides nas raízes, caule, folhas e flores, como ácido olinoleico responsável por bloquear reações bioquímicas no embrião das sementes (Wadhvani *et al.*, 2021). Portanto, a baixa germinabilidade encontrada em nossos resultados mostram que essa classe de compostos encontradas nos diferentes órgãos da planta são responsáveis por exercer um efeito alelopático.

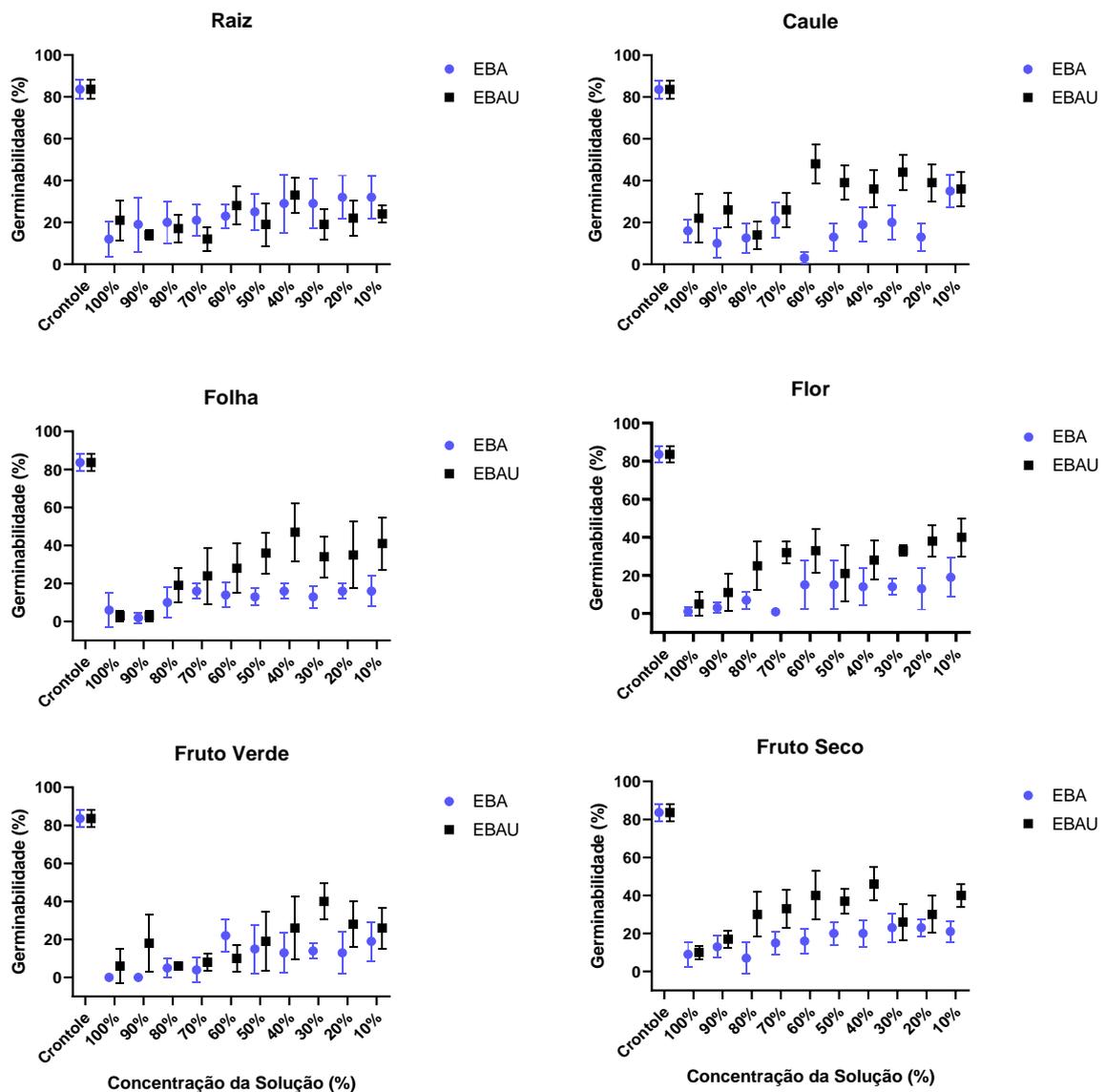


Figura 9. Germinabilidade (%) de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão.

Para o parâmetro de Tempo Médio de Germinação (TMG-dias) as sementes submetidas aos diferentes extratos produzidos sofreram influência significativa de todos os fatores avaliados (Tabela 2). Ao se observar a germinação das sementes sob a influência dos extratos produzidos com a raiz, percebe-se que o tempo de germinação das sementes foram em torno de três a cinco dias para ambas as técnicas de extração. Vale ressaltar que nos tratamentos dos EBA em altas concentrações, as sementes levaram mais tempo para germinar, sendo o EBAU à técnica que proporcionou um menor tempo necessário para a germinação quando as técnicas foram comparadas (Figura 10).

Tabela 2. Valor de F (F), graus de liberdade (gl) e nível de significância (*p*) observados nos resultados dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), realizado no software STATISTICA 13.0 com os parâmetros: Germinabilidade (%), Tempo Médio de Germinação (TMG – dias), Velocidade Média de Germinação (VMG – dias⁻¹) e Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%).

Germinabilidade (%)	F	gl	P
Órgão	11,918	5	< 0,0001
Técnica de Extração	154,722	1	< 0,0001
Concentração (Técnica de Extração)	54,186	20	< 0,0001
Órgão*Técnica de Extração	12.351	5	< 0,0001
Tempo Médio de Germinação (dias)	F	gl	P
Órgão	3,271	5	0,0063
Técnica de Extração	32,734	1	< 0,0001
Concentração (Técnica de Extração)	11,370	20	< 0,0001
Órgão*Técnica de Extração	2,332	5	0,0410
Velocidade Média de Germinação (dias⁻¹)	F	gl	P
Órgão	19,338	5	< 0,0001
Técnica de Extração	231,621	1	< 0,0001
Concentração (Técnica de Extração)	19,382	20	< 0,0001
Órgão*Técnica de Extração	10,904	5	< 0,0001

Sincronia	F	gl	P
Órgão	5,8131	5	0,0001
Técnica de Extração	0,2205	1	0,6388
Concentração (Técnica de Extração)	2,5781	20	0,0002
Órgão*Técnica de Extração	1,1481	5	0,3336

Quando se observa o extrato do caule, é notável que a germinação levou um período maior para ocorrer no EBA, principalmente, nas maiores concentrações. Quando se avalia o TMG para as sementes que germinaram sobre a influência do EBAU, percebe-se que as sementes tiveram um mesmo tempo de germinação, independente das concentrações as quais foram submetidas (Figura 10). Já para a folha, percebe-se uma diferença considerável no tempo de germinação das sementes quando comparadas com as técnicas de extração, pois o TMG das sementes submetidas ao EBA foi muito maior, principalmente nas concentrações de 50% a 80% (Figura 10).

Para as sementes submetidas ao extrato da flor, observa-se, nesse tratamento, um maior tempo médio de germinação, tendo o extrato preparado com a flor o maior efeito alelopático quando comparado com os demais órgãos, independente da técnica de extração. Em relação as técnicas, o EBA proporcionou maior tempo médio de germinação quando comparado com o EBAU. No tratamento do órgão fruto verde, os dados de TMG foram afetados pelas técnicas de extração e, quando houve um aumento nas concentrações para ambas as técnicas, a partir da concentração de 70%, foi necessário um tempo maior para a germinação das sementes de alface. Mesmo assim, ainda prevalece um maior TMG para as sementes submetidas ao EBA. Já no tratamento fruto seco, percebe-se um TMG semelhante para as duas técnicas, em uma média de quatro dias. Apenas no EBA foi observada uma germinação acima de cinco dias nas concentrações mais elevadas de 90 e 100% (Figura 10).

Os dados de Velocidade Média de Germinação ($VMG-dias^{-1}$) também foram significativamente afetados por todos os fatores avaliados (Tabela 2). Nas sementes que germinaram no tratamento controle, observou-se que a VMG foi de $0,1\text{ dias}^{-1}$, sendo consideravelmente rápido este processo. Por sua vez, as sementes submetidas aos extratos produzidos com a raiz, foi observado que houve uma velocidade média maior para a técnica do EBAU, com exceção dos valores nas concentrações de 10 e 20%. No tratamento caule, houve maior velocidade para todas as concentrações para a técnica do ultrassom. Já no EBA, as sementes tiveram uma velocidade de germinação maior.

Para a folha, observando-se a técnica do EBA, percebe-se que houve uma rápida germinação em baixas concentrações. Para a técnica do EBAU, foi observada uma velocidade maior de germinação comparada com a outra técnica. Porém, à medida que aumentaram as concentrações, essa velocidade foi sendo reduzida (Figura 11).

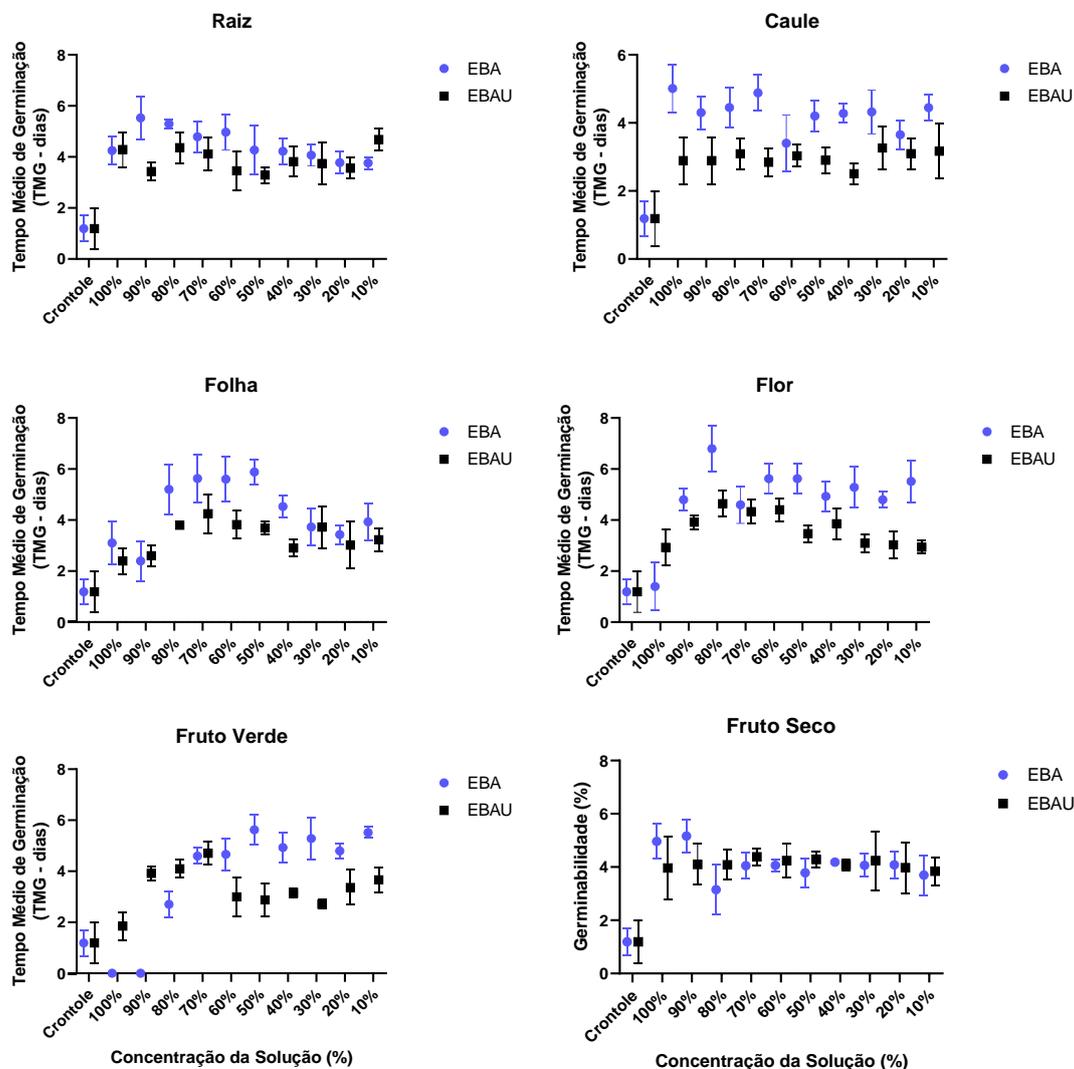


Figura 10. Tempo Médio de Germinação (TMG – dias) de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão.

No tratamento fruto verde, nota-se que para a técnica do ultrassom houve maior velocidade e, somente na concentração de 100% foi observado um declínio na VMG.

Para a técnica do EBA, foi observada uma redução na VMG com o aumento na concentração das soluções. Já para o fruto seco, percebe-se que há uma semelhança na VMG das sementes que foram submetidas às diferentes concentrações. Já em relação às técnicas de extração, foi observada uma diminuição da VMG à medida que aumentaram as concentrações das soluções (Figura 11).

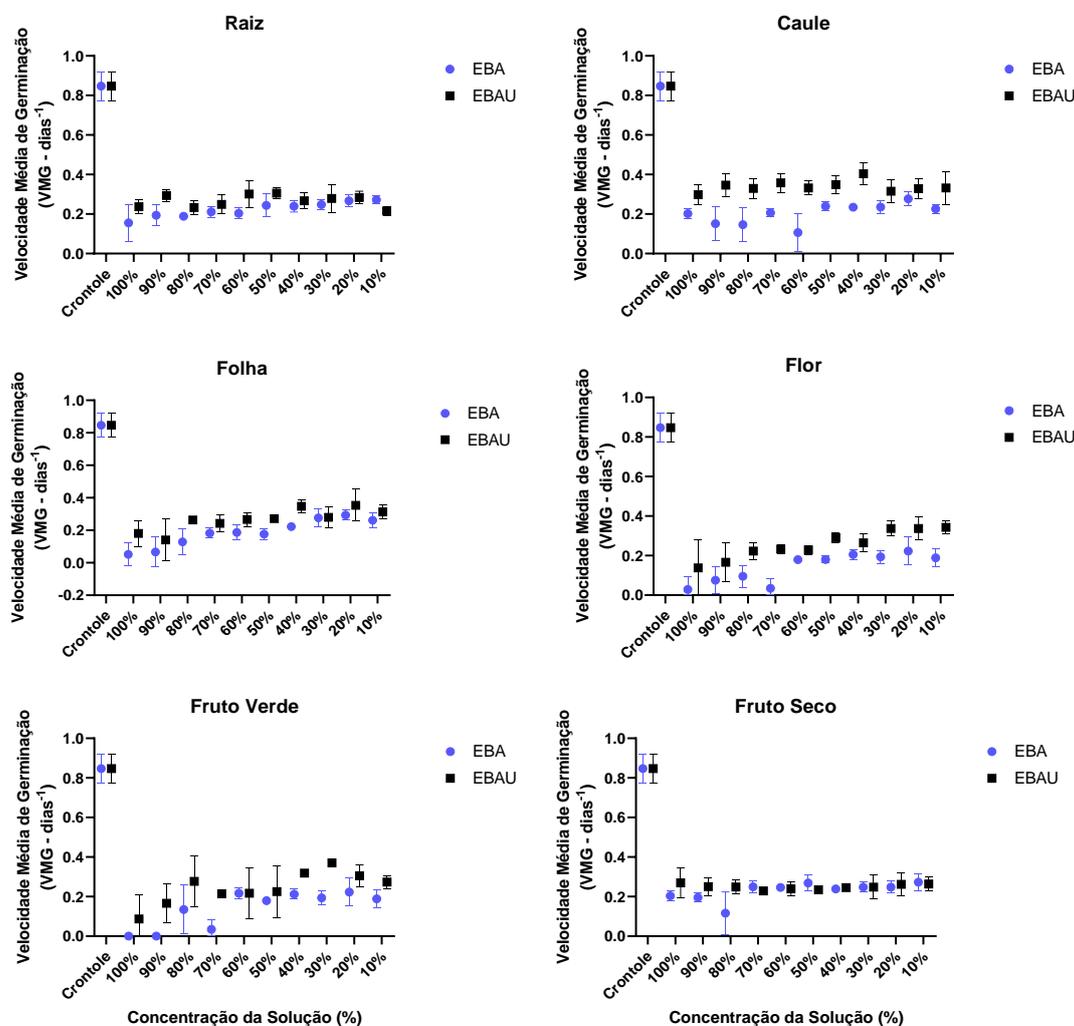


Figura 11. Velocidade Média de Germinação (VMG – dias⁻¹) de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão.

Os valores de sincronia apresentaram influência significativa somente pelos órgãos e as concentrações (Tabela 2). Independente da técnica de extração utilizada para a preparação dos extratos, foi observada uma redução da sincronia com o aumento da

concentração dos extratos. Os órgãos que apresentaram maior sincronia na germinação das sementes foram a raiz, o caule e o fruto seco, indicando menor efeito alelopático desses órgãos no que diz respeito à sincronia do processo germinativo (Figura 12).

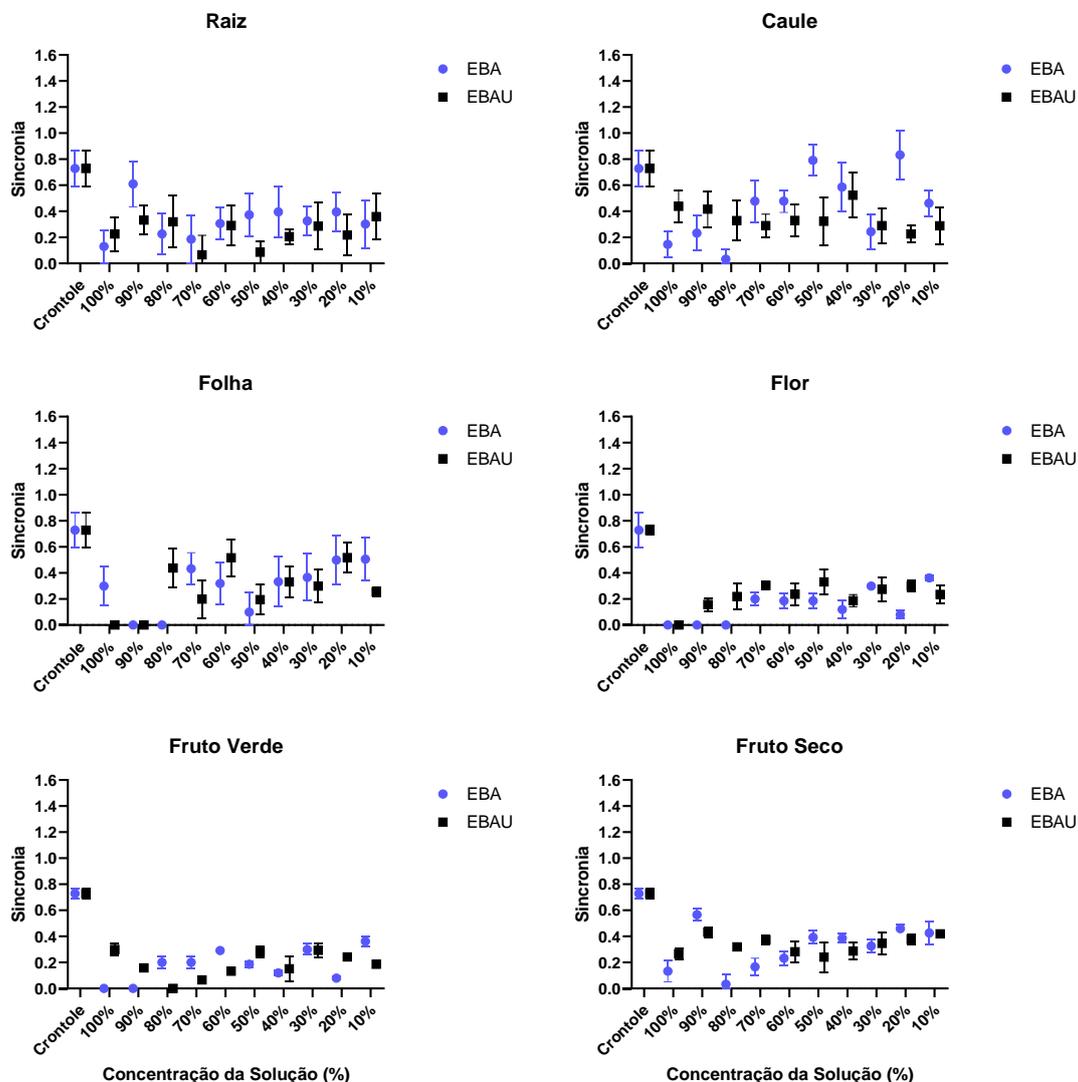


Figura 12. Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração (extrato aquoso e ultrassom) e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão.

No presente estudo, um dos maiores efeitos alelopáticos observados foram dos extratos da flor e do fruto verde, o que difere de outras espécies da Caatinga. Nos trabalhos com as espécies *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R. W. Jobson e *Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae o extrato dos frutos não afetava a germinação das espécies

estudadas, mas sim o desenvolvimento inicial (Oliveira et al., 2009; Pacheco et al., 2017). Os extratos de flores de *Erythrina velutina* não apresentaram efeitos na porcentagem de germinação, mas causaram redução da velocidade de germinação e o promoveu o crescimento de plântulas com anormalidades (Olivera et al., 2012).

Ao observar a formação de plântulas, pode-se destacar que a técnica EBAU promoveu um maior efeito alelopático, quando comparado a técnica EBA, principalmente para os extratos realizados a partir das estruturas reprodutivas da *C. procera*. Portanto, as sementes de *L. sativa*, conseguem germinar mesmo em baixas quantidades nas diferentes concentrações, realizadas a partir dos diferentes extratos com os órgãos vegetais da *C. procera*. No entanto, as sementes germinadas não conseguem se desenvolver e formar plântulas (Figura 13 e Tabela 3).

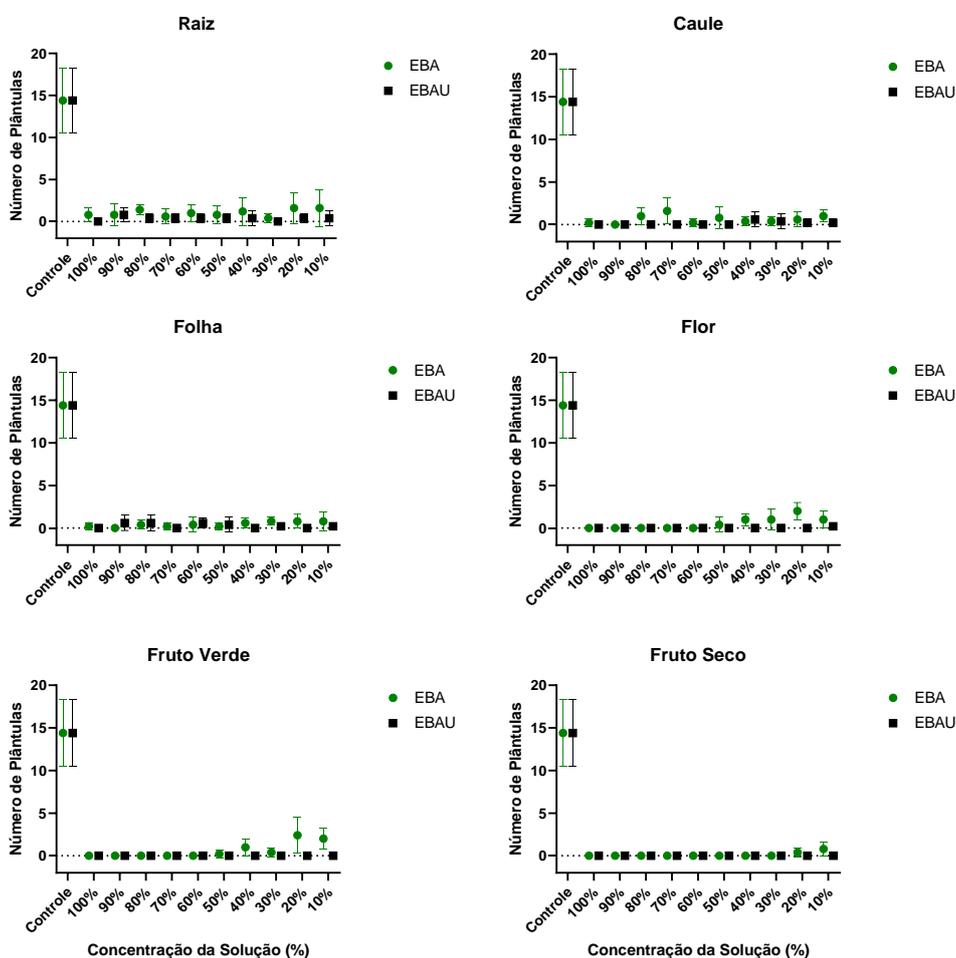


Figura 13. Número de plântulas de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração [extrato aquoso (EBA) e

ultrassom (EBAU)] e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%). Dados expressos em média e desvio padrão.

Os resultados desse trabalho mostraram que o extrato EBA nas diferentes concentrações influenciou negativamente durante o processo germinativo, quando comparados com os extratos de EBAU. Uma das possíveis respostas para que isso tenha acontecido é que a técnica de EBA foi realizada deixando o material durante 24 horas imerso no solvente, uma vez que, longos tempos extração aumentam a possibilidade de oxidação dos compostos (Piovesan, 2016). No entanto, os extratos realizados a partir da técnica de EBAU proporcionaram uma maior mortalidade de plântulas, quando comparados com a técnica de extração EBA.

A protrusão radicular é o início do processo germinativo, sendo o primeiro estágio do ciclo de vida de uma planta, a qual está frequentemente sujeita à exposição à fatores estressantes (Jain *et al.*, 2019). Fatores estes, que podem ser compostos aleloquímicos, pois, é nas raízes que apresentam os pelos radiculares responsáveis pela absorção de água e solutos orgânicos e inorgânicos presentes no substrato, nesse sentido, a presença de metabólitos secundários pode prejudicar as atividades metabólicas das raízes e a divisão celular no meristema apical da raiz. Portanto, nesse estudo o que justifica o não estabelecimento das plântulas de alface foi a presença de diversos metabólitos os quais promoveram alterações nos padrões germinativos devido a alterações fisiológicas que retardaram o andamento de processos fisiológicos, e conseqüentemente culminaram em déficit no desenvolvimento inicial das mesmas (Fioresi *et al.*, 2021).

As simulações com os bioensaios de germinação realizados a partir das soluções de PEG 6000, mostraram que não houve diferenças significativas em relação as técnicas de extração, bem como nos diferentes órgãos nos parâmetros de germinabilidade, TMG-dias, VMG-dias⁻¹ e Sincronia (Figura 14 e Tabela 4). Portanto, pode-se compreender que as soluções com os extratos realizados com os diferentes órgãos da *C. procera* não causaram estresse por osmolaridade, e sim por meio da presença de compostos aleloquímicos, os quais influenciaram negativamente a germinabilidade e estabelecimento das sementes.

Tabela 3. Valor de F (F), graus de liberdade (gl) e nível de significância (p) observados nos resultados da Análise de Variância com os fatores Órgão e Técnica de Extração, realizado no software STATISTICA 13.0 com o parâmetro número de plântulas de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas a extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)] e com diferentes concentrações (100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 e 0%).

Número de Plântulas	F	gl	P
Órgão	0.21439	5	0.956418
Técnica de Extração	1.42201	1	0.233511
Órgão*Técnica de Extração	0.04970	5	0.998493

Pires e Oliveira (2011) indicaram que as plantas interagem quimicamente no ambiente e que essa interação pode ocorrer de forma positiva, negativa ou até mesmo neutra. Os autores ainda acrescentaram que essa característica pode interferir desde a emergência ao estabelecimento da planta. Já é relatado na literatura que a espécie *C. procera* apresenta ação alelopática. Essa característica também pode ser observada em outros ambientes como a Restinga (Rangel e Nascimento, 2011). Isso caracteriza uma grande ameaça à biodiversidade dos diferentes ecossistemas (Williamson, 1996; Meffe e Carroll, 1997), devido à eficiência na competição por recursos (Daehler, 2003; Pires e Oliveira, 2011), podendo ser um fator determinante para o seu estabelecimento e causando interferência no estabelecimento de outras plantas que interagem com ela no ambiente.

Além disso, a planta é resistente à seca e tolerante à diferentes concentrações de salinidade, sendo capaz de sobreviver há uma variedade de tipos de solos, sendo estes alcalinos à salinos. A espécie cresce abundantemente em regiões áridas e semiáridas sem irrigação, fertilizantes químicos, pesticidas ou outras práticas agrônômicas, tendo preferência principalmente em regiões de solos arenosos (Sharma *et al.*, 2012). Portanto, a *C. procera* atualmente já invade o ecossistema da Caatinga, localizado na região Nordeste do Brasil, isso porque a espécie naturalmente suporta as diferentes condições de solos salinos, altas temperaturas e baixas condições de déficit hídrico impostas pelas variações espaço-temporal do referido ecossistema (Fabricante *et al.*, 2013). Um estudo realizado por Fabricante (2003) demonstrou efeitos de ação alelopática desta espécie, bem como indicou que essa espécie exótica apresenta uma fácil propagação e rápido estabelecimento na Caatinga.

Diante disso, a espécie pode ser facilmente encontrada, pois dissemina-se com facilidade em áreas abertas, beiras de estradas ou outro lugar que ela possa adaptar-se e invadir áreas com diferentes variações edafoclimáticas (Silva, 2018). Espécies exóticas invasoras possuem como principal característica a inibição da germinação de outras sementes através da liberação de compostos aleloquímicos, promovendo um efeito alelopático (Castro *et al.*, 2018). Já é relatado na literatura que extratos aquosos de várias concentrações de folha, flor e frutos de *C. procera* inibiram a germinação de sementes de *Brassica nigra* (Brassicaceae).

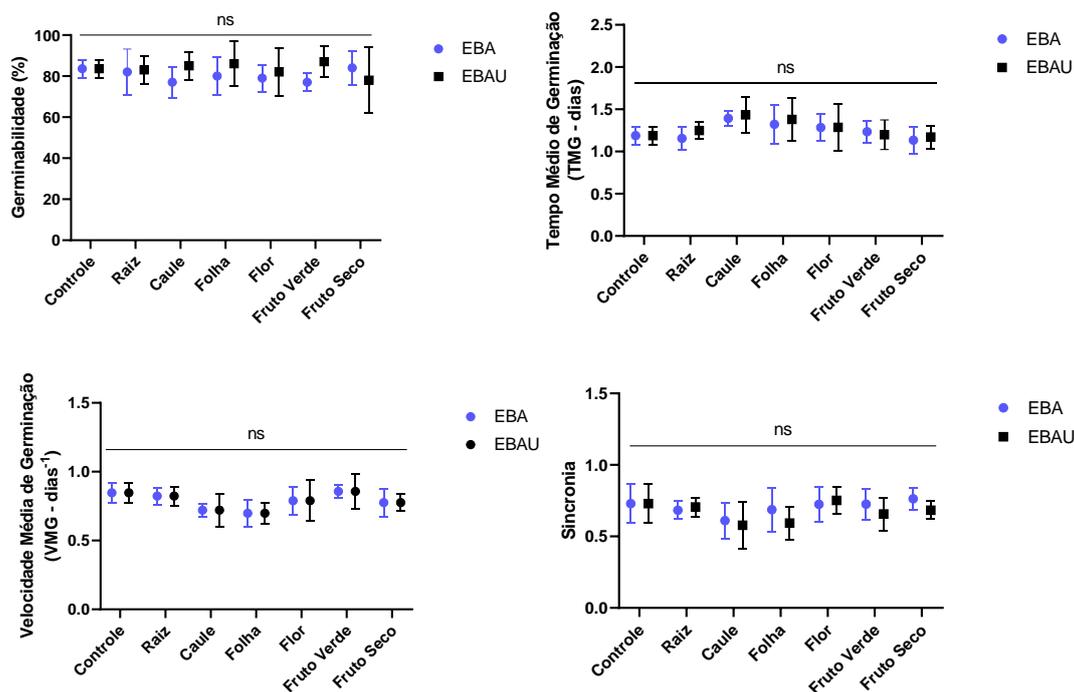


Figura 14. Germinabilidade (%), Tempo Médio de Germinação (TMG - dias), Velocidade Média de Germinação (VMG - dias⁻¹) e Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas as soluções de polietileno glicol 6000 preparadas a partir da condutividade elétrica dos extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)]. Dados expressos em média e desvio padrão.

Tabela 4. Valor de F (F), graus de liberdade (gl) e nível de significância (*p*) observados nos resultados da Análise de Variância com os fatores Órgão e Técnica de Extração, realizado no software STATISTICA 13.0 com os parâmetros: Germinabilidade (%), Tempo Médio de Germinação (TMG – dias), Velocidade Média de Germinação (VMG – dias⁻¹) e Sincronia (Z) da germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) submetidas as soluções de polietileno glicol 6000 preparadas a partir da condutividade elétrica dos extratos de diferentes órgãos (raiz, caule, folha, flor, fruto verde e fruto seco) da exótica invasora *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton (Apocynaceae), preparados através de duas técnicas de extração [extrato aquoso (EBA) e ultrassom (EBAU)].

Germinabilidade (%)	F	gl	<i>p</i>
Órgão	2,210	5	0,1428
Técnica de Extração	0,1721	1	0,9833
Órgão*Técnica de Extração	0,9420	5	0,4727
Tempo Médio de Germinação (dias)	F	gl	<i>p</i>
Órgão	3,018	5	0,9887
Técnica de Extração	0,4611	1	0,0526
Órgão*Técnica de Extração	0,1483	5	0,4999
Velocidade Média de Germinação (dias⁻¹)	F	gl	<i>p</i>
Órgão	4,479	5	0,06327
Técnica de Extração	0,2205	1	0,8999
Órgão*Técnica de Extração	1,1481	5	0,9999
Sincronia	F	gl	<i>p</i>
Órgão	2,111	5	0,0662
Técnica de Extração	1,386	1	0,2441
Órgão*Técnica de Extração	0,4818	5	0,8191

6. CONCLUSÕES

Independentemente da técnica de extração utilizada na preparação, os extratos produzidos com as flores e os frutos verdes foram aqueles que provocaram as maiores reduções dos parâmetros germinativos. Esses resultados indicam que a primeira hipótese deste estudo foi corroborada. Além disso, acreditava-se que as diferentes técnicas de extração promoveriam resultados diferenciados em relação ao efeito alelopático na germinação de sementes e no estabelecimento de plântulas. Isso de fato aconteceu com os dados de germinação das sementes, corroborando a segunda hipótese desta pesquisa. Ao avaliar os efeitos alelopáticos na formação de plântulas normais e a interferência osmótica no efeito alelopático dos extratos avaliados através da produção das soluções de PEG 6000 com osmolaridade e pH semelhantes dos EBA_{100%} e EBAU_{100%}, as sementes germinaram ao serem submetidas as soluções de PEG, comprovando que não foi um efeito osmótico dos extratos, e sim, um efeito alelopático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-ROWAILY, S. L. *et al.* Essential oil of *Calotropis procera*: Comparative chemical profiles, antimicrobial activity, and allelopathic potential on weeds. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5203, 2020.

ALVES, S. M. *et al.* **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. 2002.

AZMIR, J. *et al.* Techniques for extraction of bioactive compounds from plants materials: A review. *Journal of food engineering*, v. 117, p. 426-436, 2013.

BAZIRAMAKENGA, R.; LEROUX, G. D.; SIMARD, R. R. Effects of benzoic and cinnamic acids on membrane permeability of soybean roots. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 9, p. 1271-1285, 1995.

BITENCOURT, Gislayne *et al.* Fitoquímica e Alelopatia da Aroeira-Vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na Germinação de Sementes. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 1, p. 02-08, 2021.

CASTRO, R. A.; FABRICANTE, J. R.; SIQUEIRA-FILHO, J. A. Modelagem de nicho ecológico da espécie invasora nas áreas do PISF: *Calotropis procera* (Aiton) W.T Aiton. VII Jornada de Iniciação Científica. **Anais**. Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2012.

CASTRO, R. A.; FABRICANTE, Juliano Ricardo; ARAÚJO, K. C. T. Sociabilidade e potencial alelopático de espécies da caatinga sobre a invasora *Nicotiana glauca* Graham (Solanaceae). *Natureza online*, v. 15, n. 1, p. 59-69, 2017.

CHAVES, D. S. A. *et al.* Metabólitos secundários de origem vegetal: uma fonte potencial de fármacos antitrombóticos. **Química Nova**, v. 33, p. 172-180, 2010.

CHON, Sang-Uk; COUTTS, John H.; NELSON, C. Jerry. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. *Agronomy Journal*, v. 92, n. 4, p. 715-720, 2000.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300, 2006.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry e molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

CRUZ-ORTEGA, Rocío; AYALA-CORDERO, Gabriela; ANAYA, Ana Luisa. Allelochemical stress produced by the aqueous leachate of *Callicarpa acuminata*: effects on roots of bean, maize, and tomato. *Physiologia Plantarum*, v. 116, n. 1, p. 20-27, 2002.

CUNHA, A. L. *et al.* Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

DAEHLER, C. C. Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: implications for conservation and restoration. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, p. 183-211, 2003.

DE OLIVEIRA J. R.; Rubem S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba, **Brasil: Ompipax**, 2011.

DE SOUZA FIORESI, Raiane *et al.* Efeito alelopático de *Solanum pimpinellifolium* L. sobre a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Bidens pilosa*. *Scientia Plena*, v. 17, n. 6, 2021.

DOLIANITIS, Bianca Motta *et al.* Alelopatia de extratos vegetais sobre *Eragrostis plana* Ness e hidrólise da sua biomassa para prospecção de compostos químicos. 2022.

ELLENBERG, D.; MUELLER-DOMBOIS, D. **Aims and methods of vegetation ecology**. New York: Wiley, 1974.

FABRICANTE, J. R. *et al.* Atributos ecológicos da bioinvasora *Nicotiana glauca* Graham (Solanaceae) e avaliação da susceptibilidade de sua ocorrência no Brasil. **Ciência Florestal**, v. 25, p. 959-967, 2015.

FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, M. N. A.; SIQUEIRA FILHO, J. A. Aspectos da ecologia de *Calotropis procera* (Apocynaceae) em uma área de Caatinga alterada pelas obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco em Mauriti, CE. **Rodriguésia**, v. 64, p. 647-654, 2013.

FABRICANTE, Juliano Ricardo. Levantamentos florísticos e estruturais em bauru e municípios limítrofes nos últimos 20 anos. *Salusvita*, p. 283-292, 2003.

Ferreira AG, Borguetti F. *Germinação:do Básico ao Aplicado*. 1.ed. Porto Alegre (RS): Artmed;2004.

FERREIRA, A. G. Interferência, competição e alelopatia. In: FERREIRA A. G., BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre, 2004. p. 251 -262.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista brasileira de fisiologia vegetal**, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.

GOMAA, N. H. *et al.* Allelopathic effects of *Sonchus oleraceus* L. on the germination and seedling growth of crop and weed species. *Acta Botanica Brasilica*, v. 28, p. 408-416, 2014.

GROOM, M. J. *et al.* **Principles of conservation biology**. Sunderland: Sinauer associates, 2006.

GULZAR, A.; SIDDIQUI, M. B. Allelopathic effect of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. on growth and antioxidant activity of *Brassica oleracea* var. *botrytis*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 4, p. 375-382, 2017

HASSAN, Loutfy M. *et al.* The biology of *Calotropis procera* (Aiton) WT. *Trees*, v. 29, p. 311-320, 2015.

HIGASHINAKASU, K. *et al.* Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie, 1937. **Weed biology and management**, v. 4, n. 3, p. 171-175, 2004.

KONG, C. *et al.* Aleloquímicos e sinalizadores químicos em plantas. **Moléculas** , v. 24, n. 15, pág. 2737, 2019.

LINDLEY, J. **Flora medica**. Ajay Book Service, New Delhi, 1985.

LLORET, Francisco *et al.* Species attributes and invasion success by alien plants on Mediterranean islands. *Journal of Ecology*, p. 512-520, 2005.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 2008.

LOVETT, J.; RYUNTYU, M. Allelopathy: Broadenind the context. In: RIZVI S. J. H., RIZVI V. **Allelopathy: Basics and applied aspects**. London, 1992. 480 p.

MORAIS, Melissa Grazielle et al. Allelopathic potential of the ripe fruits of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil.(Solanaceae). *Biochemistry and Biotechnology Reports*, v. 2, n. 4, p. 37-41, 2013.

MORO, M. F. *et al.* Alienígenas na sala: o que fazer com espécies exóticas em trabalhos de taxonomia, florística e fitossociologia? **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 991-999, 2012.

NAVARRO, D. F. Estudo químico, biológico e farmacológico das espécies *Allamanda blanchetti* e *Allamanda schottii* na obtenção de moléculas bioativas de potencial terapêutico. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

NEIS, Joselene; DA CRUZ-SILVA, Claudia Tatiana Araujo. Alelopatia de folhas de *Coleus barbatus* sobre o desenvolvimento de sementes de trigo. *Revista Cultivando o Saber*, v. 6, n. 2, p. 122-134, 2013.

NISHIDA, N. *et al.* Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. **Journal of chemical ecology**, v. 31, n. 5, p. 1187-1203, 2005.

O'DONNELL, C. P. *et al.* Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science e Technology**, v. 21, n. 7, p. 358-367, 2010.

OKUR, I. O. *et al.* Improving the Recovery of Phenolic Compounds from Spent Coffee Grounds (SCG) by Environmentally Friendly Extraction Techniques. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 613, 2021

OLIVEIRA, Andreyra K. et al. Alelopatia de extratos de diferentes órgãos de mulungu na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 480-483, 2012.

OLIVEIRA, Andrey K. de et al. Alelopatia em extratos de frutos de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.-Rhamnaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 1186-1189, 2009.

OLIVEIRA, Luiz Gustavo André et al. Atividade alelopática de extrato acetato-etílico de folhas de *Solanum cernuum* Vell. Revista Ciência Agronômica, v. 44, p. 538-543, 2013.

OLIVEIRA, Sarah C. Caldas; FERREIRA, Alfredo Gui; BORGHETTI, Fabian. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.(Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L.(Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 401-406, 2004.

PACHECO, Mauro Vasconcelos et al. Potencial alelopático dos extratos de folhas e frutos de *Pityrocarpa moniliformis* sobre a germinação de sementes de *Mimosa caesalpinifolia*. Revista Agroecossistemas, v. 9, n. 2, p. 250-262, 2017.

PEREIRA, R. J.; GRAÇAS, C. M. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, 2012.

PINTO, Â. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. DA S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. DE A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, Supl. 1, p. 45-61, 2002.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. 2011.

PUTNAM, A. R; TANG, C. S. Allelopathy: state of the science. In: PUTNAM, A. R.; TANG, C. S. (Ed). **The Science of Allelopathy**. New York: J. Willey, 1986. p. 1-19.

RANGEL, E. S.; NASCIMENTO, M. T. Ocorrência de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Apocynaceae) como espécie invasora de restinga. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, p. 657-663, 2011.

REÁTEGUI, J. L. *et al.* Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 223–233, 2014.

REIGOSA, Manuel et al. Allelopathic research in Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 27, p. 629-646, 2013.

RICE, E. L. **Alelopata**: uma atualização. *The Botanical Review*, v. 45, n. 1, p. 15-109, 1979.

RICE, E. L. **Allepathy**. New York: Academic Press. 1984. 422 p.

RICE, Elroy L. **Alelopatia**. 2012.

SANTOS, A. P.; HASSEMER, G.; MEIADO, M. V. Study of the allelopathic potential of the fruit pulp of *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae). **Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 146, p. 174-181, 2019.

SILVA, Dieison Felipe Ferreira da. Efeito alelopático de extrato aquoso de capim aruana sobre a germinação de azevém, trigo e aveia. 2021.

SILVA, Izabela CA; FONSECA, Juliana C.; DOS SANTOS LIMA, Luciana AR. Efeito alelopático dos extratos hexânico e metanólico obtidos dos frutos verdes de *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. sobre *Lactuca sativa* (alface)[resumo]. *Anais da V Jornada Acadêmica Internacional de Bioquímica (Blucher Biochemistry Proceedings)*, v. 1, n. 1). São Paulo: Blucher, p. 53-4, 2015.

SILVA, José Uelison da. Efeito do extrato de *Calotropis procera* (Apocynaceae) sobre thrips tabaci (Thysanoptera: Thripidae) na cultura da cebola. 2018.

SOBRINHO, Mellissa Sousa et al. Reproductive phenological pattern of *Calotropis procera* (Apocynaceae), an invasive species in Brazil: annual in native areas; continuous in invaded areas of caatinga. *Acta Botanica Brasilica*, v. 27, p. 456-459, 2013.

STATSOFT (2021) *STATISTICA 13*. StatSoft South America. Available at <http://www.statsoft.com.br>. Accessed 12 May 2021.

VILÀ, Montserrat et al. (Ed.). **Impacto das invasões biológicas nos serviços dos ecossistemas**. Cham: Springer International Publishing, 2017.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159-178, 2017.

VUONG, Q. V. *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for euphol from the medicinal plant, *Euphorbia tirucalli*, using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 197-202, 2015.

WADHWANI, Barkha Darra *et al.* A review on phytochemical constituents and pharmacological potential of *Calotropis procera*. *RSC advances*, v. 11, n. 57, p. 35854-35878, 2021.

WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. e CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent Advances in Allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, 1999.

WANDSCHEER, Alana Cristina Dorneles; PASTORINI, Lindamir Hernandez. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. *Ciência Rural*, v. 38, p. 949-953, 2008.

WANG, Chao-Min *et al.* The role of pentacyclic triterpenoids in the allelopathic effects of *Alstonia scholaris*. **Journal of chemical ecology**, v. 40, p. 90-98, 2014.

WARDLE, D. A. Allelopathic in New Zealand pasture grassland ecosystem. **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**, v. 15, p. 243-255, 1987.

WEN, C. *et al.* Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 48, p. 538-549, 2018.

WEN, L.; ZHANG, Z.; RAI, D.; SUN, D.; TIWARI, B. K. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from coffee silver skin: Impact on phenolic content, antioxidant activity, and morphological characteristics. **Journal of Food Process Engineering**, v. 42, n. 6, p. e13191, 2019.

WILLIAMSON, M. **Biological invasions**. Springer Science e Business Media, 1996.

WINK, M.; TWARDOWSKY, T. Allelochemical properties of alkaloids. Effects on plants, bacteria, and biosynthesis. In: RIZVI, S.J.H. (Ed). **Allelopathy**. New York: Chapman e Hall, 1992. Pp.129-150.

YAN, Zhi-Qiang et al. Mechanism of artemisinin phytotoxicity action: Induction of reactive oxygen species and cell death in lettuce seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 88, p. 53-59, 2015.

YUAN, J. *et al.* Multiple responses optimization of ultrasonic-assisted extraction by response surface methodology (RSM) for rapid analysis of bioactive compounds in the flower head of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 192-199, 2015.

ZITIER, S. R. Plantas exóticas invasoras: a ameaça da contaminação biológica. **Ciência Hoje**, v. 30, p. 77-79, 2001.