

## FITOTOXICIDADE DE EXTRATOS DE *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng). Cabrera

### PHYTOTOXICITY OF *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng). Cabrera EXTRACTS

Cristiane da Silva PAULA<sup>1\*</sup>, Obdúlio Gomes MIGUEL<sup>1</sup>, Marilis Dallarmi MIGUEL<sup>1</sup>

1 - Departamento de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Universidade Federal do Paraná, Av. Pref. Lothário Meissner, 3400, Jardim Botânico, 80210-170, Curitiba, PR, Brasil.

\*Autor para correspondência: crisspaula@onda.com.br

#### RESUMO:

Este trabalho visou avaliar a ação fitotóxica de extrato e frações obtidas da casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* sobre a atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase, catalase, peroxidase, polifenoloxidase e superóxido dismutase em plântulas de alface (*Lactuca sativa*, var *Grand rapis*). Sementes de alface foram expostas às concentrações de 250, 500 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  do extrato de *D. tomentosum* e frações do mesmo, em condições ambientais controladas. No sétimo dia após germinação, as amostras foram submetidas à avaliação da atividade enzimática utilizando técnica específica para cada enzima e leitura espectrofotométrica. O efeito sobre as enzimas que demonstram alterações no sistema de defesa antioxidante de *L. sativa* mostram que o extrato bruto e frações alteraram a produção das enzimas  $\alpha$ -amilase, peroxidase, catalase e polifenol oxidase em, ao menos, uma das concentrações testadas, sendo um indicativo de estresse que interfere na divisão celular. Os resultados obtidos apontam para a presença de compostos com atividade inibidora ou estimulatória nas cascas de *D. tomentosum* revelando potencial fitotóxico sobre as plântulas de alface.

**PALAVRAS-CHAVE:** espinho-de-agulha; catalase; peroxidase

#### ABSTRACT:

This work aimed to evaluate the phytotoxic action of extracts and fractions obtained from stem bark of *Dasyphyllum tomentosum* on the activity of  $\alpha$ -amylase, catalase, peroxidase and polyphenol oxidase in lettuce seedlings (*Lactuca sativa* var *Grand RAPIS*). Lettuce seeds were exposed to concentrations of 250, 500 and 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  of *D. tomentosum* extract and fractions, under controlled environmental conditions. On the seventh day after germination, samples were evaluated for their enzymatic activity using specific technique for each enzyme and spectrophotometric reading. The effect on the enzymes that show changes in *L. sativa* antioxidant defense system shows that the crude extract and fractions altered production of  $\alpha$ -amylase enzyme, peroxidase, catalase, polyphenol oxidase and at least one of the concentrations tested, and indicative of stress that interferes with cell division. The results point to the presence of compounds with inhibitory activity or stimulatory in the stem bark of *D. tomentosum* revealing phytotoxic potential on lettuce seedlings.

**KEYWORDS:** espinho-de-agulha; catalase; peroxidase

---

## 1. INTRODUÇÃO

*Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera conhecida popularmente por açucará, espinho-de-agulha, espinho-de-judeu, lavramão e sucará pertence à família Asteraceae, encontrada no Sudeste e Sul do Brasil (MG ao RS) e extremo nordeste da Argentina. Espécie arbórea encontrada nas bordas ou interior de matas que floresce de março a agosto e frutifica de julho a outubro e pode atingir cerca de 10m de altura (FERNANDES, RITTER, 2009).

Paula *et al.* (2013) realizaram investigação qualitativa preliminar do perfil químico de *D. tomentosum* e detectaram indícios da presença de triterpenos e/ou esteroides, alcaloides, heterosídeos antociânicos, taninos e flavonoides. Com relação à ensaios biológicos extratos obtidos de folhas e casca do caule desta espécie mostraram ausência de atividade inibitória frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* através da técnica de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (PAULA *et al.*, 2013).

Testes *in vitro* para verificar a atividade antioxidante foram realizados utilizando o método de inibição do radical DPPH, em que o extrato obtido com acetato de etila apresentou-se comparável aos padrões ácido ascórbico e rutina. Não foi observada atividade citotóxica frente à *Artemia salina* e nem atividade hemolítica, demonstrando que com estes ensaios os extratos foram isentos de toxicidade (PAULA *et al.*, 2014a).

Estudos foram realizados para avaliar a atividade alelopática do extrato e frações de folhas de *D. tomentosum* sobre o crescimento radicular e o conteúdo de clorofila total, e observou-se que estes apresentam compostos químicos com atividade alelopática que foram capazes de interferir nos parâmetros avaliados (PAULA *et al.*, 2014b). A alelopátia caracteriza-se pela capacidade das plantas liberarem no ambiente substâncias denominadas aleloquímicos que podem influenciar no crescimento e no desenvolvimento de outras plantas (RICE, 1984). A ação dos aleloquímicos compreende alterações celulares e metabólicas, incluindo modificações no funcionamento de membranas, na absorção de nutrientes e de água, na atividade fotossintética e respiratória, no material genético induzindo alterações no RNA e DNA, e na síntese de proteínas e atividade enzimática (RIZVI; RIZVI 1992; INDERJIT; CALLAWAY 2003; INDERJIT 2006).

Nesta perspectiva, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fitotóxico dos extratos de *D. tomentosum* sobre a atividade enzimática de *Lactuca sativa* (alface).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

As cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera foram coletadas no município de Curitiba - Paraná (coordenadas geográficas: 25° 26'51 O3''S 49° 14'28.09''O), e identificadas por comparação com exsicata depositada no Museu Botânico Municipal da Prefeitura de Curitiba sob o número 54772.

### 2.2 Obtenção dos extratos

Cascas do caule foram secas em temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas/martelo. O extrato bruto foi obtido a partir de 3 kg deste material vegetal utilizando como solvente o etanol e extração em aparelho de Soxhlet. O extrato etanólico foi utilizado para a obtenção das frações por partição líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades, na seguinte ordem: n-hexano, clorofórmio e acetato de etila. A partir do extrato bruto etanólico (EB), fração hexano (FH), fração clorofórmio (FCL), fração acetato de etila (FAE) e fração hidroalcoólica residual (FR) foram realizados os ensaios propostos.

### 2.3 Preparo do extrato enzimático

Para obtenção do extrato enzimático, sementes de *Lactuca sativa* (alface) foram semeadas sobre disco de papel filtro acondicionados em placas de petri que receberam previamente 5,0 mL da solução das amostras (extrato e frações). As amostras foram preparadas nas concentrações de 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1.000 µg/mL em quadruplicata com 50 sementes em cada placa e água como controle. As placas de Petri foram levadas a uma câmara de germinação (BOD) com umidade relativa ( $\pm$  80%), temperatura de 25°C e iluminação interna (160 W) constantes (BRASIL, 2009) para germinação e crescimento. Após 7 dias, as plântulas obtidas foram utilizadas para o preparo do extrato enzimático, sendo que as placas com concentrações semelhantes da amostra foram reunidas e maceradas em grau de porcelana com auxílio de nitrogênio líquido e levados ao freezer (-20°C). Foram adicionados 10 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 M, pH 7) seguido de centrifugação a 2500 rpm por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi decantado e utilizado como a fonte de enzima (MARQUES, XAVIER FILHO, 1991).

---

---

## 2.4 Determinação de atividades enzimáticas

### • Detecção da $\alpha$ -amilase

400 $\mu$ L de extrato enzimático foi levado ao banho-maria a 70°C, por 20 minutos. Depois foi adicionado 0,5 mL de tampão acetato (1,0 M, pH 7) e 1,0 mL de solução de amido a 1%, sendo então incubado a 30°C durante 5 minutos. Após este período, foi adicionados 0,5 mL de solução de Lugol 5% e 1 mL de água destilada. A leitura foi realizada em 620 nm (AOAC, 1965).

### • Atividade da peroxidase

A 1 mL de extrato adicionou-se 1 mL de tampão fosfato de potássio (0,2M; pH 7,0), deixando-se então em banho-maria até a estabilização da temperatura (25°C). Em seguida foi adicionado 500  $\mu$ L de guaiacol (0,5%) e 500  $\mu$ L de peróxido de hidrogênio (0,08%) e realizada leitura imediata em 470 nm. Como branco foi preparado uma solução com 2 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 M; pH 7,0), 500  $\mu$ L de guaiacol (0,5%) e 500  $\mu$ L de peróxido de hidrogênio (0,08%) (PUTTER, 1974). O resultado é expresso em  $\mu$ mol de tetraguaiacol produzido ( $\mu$ mol de tetraguaiacol = mg de proteína<sup>-1</sup>) (GRAY *et al.*, 1996)

### • Atividade da catalase

A 100  $\mu$ L de extrato enzimático foi adicionado 3 mL de peróxido de hidrogênio (12,5 mM) em água destilada, a 30°C. O consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi monitorado em 240nm (AEBI, 1984).

### • Atividade da Polifenoloxidase

A polifenoloxidase foi determinada segundo Duangmal e Apenten (1999). Foi adicionado 1 mL de tampão fosfato de potássio (0,05 M, pH 6,0), e 0,5 mL de catecol 0,1 M a 1 mL de extrato enzimático. A mistura foi incubada a 30° C por 30 minutos e transferida então para um banho de gelo. A esta se adicionou 0,5 mL de ácido perclórico a 1,4%, e então a mistura foi deixada em repouso por 10 minutos. A leitura foi realizada em 395 nm.

### • Atividade da superóxido dismutase (SOD)

O meio continha 100  $\mu$ L de extrato enzimático e 3 mL de tampão fosfato de potássio (0,1 M; pH 7,0) contendo L-metionina (13mM), NBT (0,44 mM), e EDTA (100 nM) e riboflavina (1 mM). A reação é iniciada após a colocação dos tubos de ensaios sob luz

---

---

fluorescente (15 W), a 25°C por 15 minutos. Uma unidade de atividade SOD (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar Inibição de 50% da taxa de fotoredução (NBT) lido em 560 nm, e os resultados foram expressos como U de SOD × mg proteína<sup>-1</sup> (GUPTA *et al.*, 1993).

## 2.5 Análise estatística

Os resultados correspondem à média ± o desvio-padrão da média. Para análise estatística, foi utilizado o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2000) e a comparação das médias realizada por meio do teste de Dunnett com 5% de probabilidade.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das atividades enzimáticas após contato com o extrato e frações de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng). Cabrera.

Dentre as enzimas produzidas durante a germinação a alfa amilase caracteriza-se por ser uma das principais (MURALIKRISHNA, NIRMALA, 2005). A maior parte da alfa-amilase presente na planta é produzida no segundo e quarto dias de germinação e a quantidade desta enzima pode ser aumentada durante o prolongamento da germinação (KUNZE, 1996). Desempenham papel importante no processo de utilização do carboidrato como fonte energética para as plantas, utilizada no desenvolvimento do esqueleto carbônico para o desenvolvimento do embrião, por meio da quebra de amido (FARIA *et al.*, 2003).

Quando o extrato bruto etanólico e frações obtidas da casca do caule de *D. tomentosum* foram colocados em contato com as sementes da *L. sativa*, foi observado após 7 dias de crescimento que houve uma redução da atividade da alfa-amilase quando em contato com a FR nas concentrações de 250 µg/mL (23,16%), 500 µg/mL (58,41%) e na de 1000 µg/mL (49,96%). A FAE na concentração de 1000 µg/mL também provocou inibição (52,59%) da atividade da enzima, fato este que provavelmente pode estar ligado a presença de um inibidor (GEORG-KRAMER *et al.*, 2000). Também foi observado aumento na atividade desta enzima relacionado a um aumento de gasto energético por parte das células para a defesa da espécie alvo frente a um agente agressor (JACOBSEN *et al.*, 1986).

**TABELA 1** Atividade enzimática de *L. sativa* frente ao extrato bruto etanólico e frações obtidas da casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng). Cabrera

<b>ALFA AMILASE</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>250 µg/mL</b>	<b>500 µg/mL</b>	<b>1000 µg/mL</b>
<b>EB</b>	48,54±0,53*	39,01±0,73*	44,94±1,33 <sup>†</sup>
<b>FH</b>	42,64±0,65*	34,56±0,97*	30,72±0,79*
<b>FCI</b>	35,14±1,68*	35,83±0,44*	27,49±0,85 <sup>ns</sup>
<b>FAE</b>	27,43±0,40 <sup>ns</sup>	12,63±1,29*	25,45±1,19 <sup>ns</sup>
<b>FR</b>	20,47±1,94*	15,56±1,68*	13,31±1,36*
<b>Controle</b>	26,64±1,36	26,64±1,36	26,64±1,36
<b>PEROXIDASE</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>250 µg/mL</b>	<b>500 µg/mL</b>	<b>1000 µg/mL</b>
<b>EB</b>	<b>2,65±0,74*</b>	5,95±0,72 <sup>ns</sup>	<b>3,92±0,27*</b>
<b>FH</b>	6,77±0,13 <sup>ns</sup>	6,25±0,73 <sup>ns</sup>	<b>3,88±0,04*</b>
<b>FCI</b>	6,69±0,70 <sup>ns</sup>	5,96±0,74 <sup>ns</sup>	6,69±0,38 <sup>ns</sup>
<b>FAE</b>	<b>2,73±0,14*</b>	<b>2,49±0,19*</b>	<b>1,23±0,24*</b>
<b>FR</b>	<b>1,73±0,17*</b>	4,85±0,90 <sup>ns</sup>	<b>2,07±0,05*</b>
<b>Controle</b>	5,95±0,16	5,95±0,16	5,95±0,16
<b>CATALASE</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>250 µg/mL</b>	<b>500 µg/mL</b>	<b>1000 µg/mL</b>
<b>EB</b>	<b>0,23±0,02*</b>	0,13±0,02 <sup>ns</sup>	0,15±0,01 <sup>ns</sup>
<b>FH</b>	0,07±0,01 <sup>ns</sup>	0,14±0,01 <sup>ns</sup>	0,04±0,01 <sup>ns</sup>
<b>FCI</b>	<b>0,21±0,04*</b>	0,13±0,03 <sup>ns</sup>	0,15±0,03 <sup>ns</sup>
<b>FAE</b>	0,14±0,03 <sup>ns</sup>	0,09±0,01 <sup>ns</sup>	0,04±0,01 <sup>ns</sup>
<b>FR</b>	<b>-0,03±0,08*</b>	<b>0,19±0,01*</b>	0,09±0,02 <sup>ns</sup>
<b>Controle</b>	0,10±0,02	0,10±0,02	0,10±0,02
<b>POLIFENOLOXIDASE</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>250 µg/mL</b>	<b>500 µg/mL</b>	<b>1000 µg/mL</b>
<b>EB</b>	<b>5,49±0,18*</b>	<b>11,17±0,34*</b>	9,31±0,48 <sup>ns</sup>
<b>FH</b>	<b>12,81±0,9*</b>	<b>8,55±0,31*</b>	<b>13,64±0,15*</b>
<b>FCI</b>	<b>18,46±0,39*</b>	9,46±0,02 <sup>ns</sup>	<b>19,61±0,82*</b>
<b>FAE</b>	8,72±0,46 <sup>ns</sup>	9,07±0,13 <sup>ns</sup>	<b>6,24±0,12*</b>
<b>FR</b>	<b>5,53±0,04*</b>	<b>11,32±0,26*</b>	<b>5,04±0,17*</b>
<b>Controle</b>	9,77±0,03	9,77±0,03	9,77±0,03
<b>SOD</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>250 µg/mL</b>	<b>500 µg/mL</b>	<b>1000 µg/mL</b>
<b>EB</b>	4,06±0,03 <sup>ns</sup>	3,93±0,21 <sup>ns</sup>	3,98±0,05 <sup>ns</sup>
<b>FH</b>	3,76±0,01 <sup>ns</sup>	3,32±0,02 <sup>ns</sup>	3,46±0,26 <sup>ns</sup>
<b>FCI</b>	3,50±0,23 <sup>ns</sup>	3,97±0,15 <sup>ns</sup>	3,78±0,12 <sup>ns</sup>
<b>FAE</b>	4,12±0,01 <sup>ns</sup>	4,02±0,01 <sup>ns</sup>	4,24±0,12 <sup>ns</sup>
<b>FR</b>	4,18±0,19 <sup>ns</sup>	1,76±0,18 <sup>ns</sup>	3,92±0,13 <sup>ns</sup>
<b>Controle</b>	3,85±0,03	3,85±0,03	3,85±0,03

ns = diferença não significativa do controle; \* diferente do controle

Na Tabela 1 é possível observar estímulo da atividade na concentração de 250 µg/mL para o EB (82,20%), FH (60,06%), FCL (31,90%), na concentração de 500 µg/mL

para o EB (46,43%), FH (29,73%) FCL (34,49%) e na concentração de 1000 µg/mL para EB (68,69%) e FH (15,31%).

Outra enzima analisada é a peroxidase (POD), do grupo das oxidoredutases, que catalisa um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um acceptor de hidrogênio (FREITAS *et al.*, 2008). As peroxidases estão relacionadas com os processos de crescimento e diferenciação celular, e mudanças morfogênicas em respostas aos estresses físico, químico e biológico. O aumento da atividade desta enzima em plantas submetidas a estas condições pode ser fator determinante da capacidade de adaptação dessas plantas, podendo esta atividade ser identificada como um marcador bioquímico de estresse (PIERIS *et al.*, 1991). No presente estudo, foi observada redução na atividade da enzima peroxidase, de acordo com a Tabela 1, quando as sementes de alface foram submetidas à concentração de 250 µg/mL do EB (44,53%), FAE (45,88%) e FR (29,07%). Também houve redução da atividade da enzima na concentração de 500 µg/mL quando as sementes ficaram em contato com a FAE (41,85%), e na concentração de 1000 µg/mL quando em contato com o EB (65,88%), FH (65,21%), FAE (20,67%) e FR (34,78%). A substância com atividade alelopática presente nas amostras poderia estar inibindo a atividade dessa enzima e conseqüentemente reduzindo o crescimento principalmente da radícula, que foi avaliado por Paula *et al.* (2014) durante o teste com a FAE na concentração de 500 µg/mL e EB, FH e FAE com 1000 µg/mL.

As catalases são enzimas que promovem a desintoxicação das células das plantas em condições de stress, pois são responsáveis pela dismutação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>. Removem o peróxido gerado nos peroxissomos por oxidases envolvidos na oxidação de ácidos graxos, fotorespiração e catabolismo de purinas (GILL, TUTEJA, 2010). Em quantidade elevada o peróxido é tóxico para a planta, porém em baixas concentrações desempenham papel na transdução de sinal nas plantas atacadas e nos seus estressores bióticos, como fungos e insetos (PRASAD *et al.*, 1994). A inibição da atividade de catalase resulta na ativação da resistência sistêmica adquirida. Este sistema é ativado quando as plantas são atacadas, principalmente, por fungos fitopatogênicos no qual o seu crescimento é inibido na área infectada (GAYATRIDEVI *et al.*, 2012). No estudo realizado foi observado inibição da atividade da enzima somente com a FR 250 µg/mL. Já com o EB e FCL 250 µg/mL, e FR 500 µg/mL foi observado aumento da atividade da enzima.

---

A importância da atividade da polifenoloxidase está relacionada à resistência em plantas e deve-se, provavelmente, à sua propriedade em oxidar compostos fenólicos para quinonas, muito tóxicos aos microrganismos infectantes. Por esta razão, admite-se que um aumento na atividade da polifenoloxidase resulta em altas concentrações de produtos tóxicos de oxidação e, portanto, maior grau de resistência (AGRIOS, 1997; ZHENG-CUIMING *et al.*, 1999), tentando desta forma eliminar um possível agressor. Supõe-se que aleloquímicos que aumentem a atividade desta enzima pode estar simulando o ataque de um microorganismo representado pelo estímulo. Este fato, aumento da atividade da PO, foi observado com o FH 250, EB 500 FCL 250 e 1000 e FR 500.

A enzima superóxido dismutase (SOD) catalisa os radicais superóxidos livres ( $O_2^-$ ), produzidos em diferentes locais da célula, para oxigênio molecular e  $H_2O_2$  (RABINOWITCH, FRIDOVICH, 1983). Devido a isto, é uma importante defesa antioxidante para as células expostas ao oxigênio, e o aumento da sua atividade pode estar ligado ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, consequência da ação de aleloquímicos (ALMEIDA, 2008). No presente estudo, a atividade da SOD não apresentou diferenças significativas nos resultados para nenhum dos tratamentos em relação ao controle.

Os aleloquímicos atuam no estresse oxidativo, produzindo espécies reativas de oxigênio, que atuam diretamente ou como sinalizadores para os processos de degradação celular, impedindo assim a germinação ou interferindo no desenvolvimento inicial ou processos fisiológicos vitais às plantas. A investigação do potencial fitotóxico dos extratos obtidos da casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera em laboratório evidencia que essa espécie é capaz de interferir na atividade de enzimas essenciais no processo fisiológico, resultados que são indicativos de potencial biotecnológico da espécie.

A importância de estudos que avaliam o potencial fitotóxico de uma espécie reside no fato de que fornecem informações iniciais sobre estratégias alternativas para manejo de plantas daninhas, explorando a biodiversidade, com a obtenção de produtos naturais que podem reduzir a dependência aos herbicidas tradicionais. Além de contribuir para o aumento da produtividade agrícola, alguns autores sugerem que estes compostos com atividade fitotóxica podem ser mais seletivos, biodegradáveis e menos poluentes que os herbicidas tradicionais (MACÍAS *et al.*, 2000). Estudos avaliando o potencial fitotóxico de aleloquímicos vem sendo realizados com diversas espécies como a *Lactuca sativa* (TREVISAN *et al.*, 2012; PAULA *et al.*, 2014b). As vantagens da utilização da alface



são a homogeneidade genética, germinação uniforme e fácil disponibilidade quando comparada à outras espécies (MACÍAS *et al.*, 2000; TREVISAN *et al.*, 2012).

Novos ensaios deverão ser conduzidos com propósito de identificar os constituintes químicos responsáveis pelos resultados obtidos assim como as consequências da interferência no desenvolvimento da planta alvo.

#### **4. CONCLUSÃO**

A investigação do potencial fitotóxico dos extratos obtidos da casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.). Cabrera em laboratório demonstrou que a espécie é capaz de interferir na atividade de enzimas essenciais no processo fisiológico, tais como produção ou atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase, peroxidase, catalase e polifenol oxidase em, ao menos, uma das concentrações testadas. Os resultados obtidos apontam para a presença de compostos com atividade inibidora ou estimulatória nas cascas de *D. tomentosum* revelando potencial fitotóxico sobre as plântulas de alface.

#### **5. AGRADECIMENTOS**

À CAPES pela bolsa de doutorado e ao Museu Botânico Municipal da Prefeitura de Curitiba (MBM) pela identificação da espécie vegetal e Cristiane Bezerra da Silva pelo apoio com a metodologia.

---

---

## 6. REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.
- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.
- ALMEIDA, G. D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M. C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**. v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.
- AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis**. 10.ed. Washington: Editorial Board, 1965. 656p.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS; 2009. 398 p.
- DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. romano). **Food Chemistry**, v. 64, p. 351-359, 1999.
- FARIA, M. A. V. R., VON PINHO, R. G.; VON PINHO, E. V. R.; GUIMARÃES, R. M. **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica das sementes**. Lavras: UFLA, 2003. 51 p. (Textos Acadêmicos).
- FERNANDES, A.C.; RITTER, M.R. A família Asteraceae no Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Brazilian Journal of Biosciences**, v. 7, n. 4, p. 395-439, 2009.
- FREITAS, A. A.; FRANCELIN, M. F.; HIRATA, G. F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F. L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geleias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.
- GAYATRIDEVI, S.; JAYALAKSHMI, S. K.; SREERAMULU, K. Salicylic acid is a modulator of catalase isozymes in chickpea plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. Ciceri. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 52, p. 154-161, 2012.
- GEORG-KRAEMER, J. E.; MUNDSTOCK, E. C.; Cavalli-molina, S. Developmental expression of amylases during barley malting. **Journal of cereal science**, v. 33, p.279-288, 2000.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GRAY, J. S. S., YANG, B. Y.; HU, U. S. R.; VENZKE, D. P.; MONTGOMERY, R. The glycans of soybean peroxidase. **Glycobiology**, v. 6, p. 23-32, 1996.
- GUPTA, A., R. P. S.; WEBB, A. S. HOLADAY, R. D. ALLEN. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress. **Plant Physiology**, v. 103, p. 1067-1073, 1993.
- INDERJIT; CALLAWAY, R. M. Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 1-11, 2003.

INDERJIT.; CALLAWAY, R. M.; VIVANCO, J. M. Can plant biochemistry contribute to understanding of invasion ecology? **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 574-580, 2006.

JACOBSEN, J.V.; HANSON, A. D.; CHANDLER, P. C. Water stress enhances expression of an alpha-amylase gene in barley leaves. **Plant Physiology**, v.80, p.350, 1986.

KUNZE, W. Technology brewing and malting. Research and teaching institute of brewing, 1996. Disponível em: < [http:// www.vlbberlin.org/english/kunze/enzym.htm](http://www.vlbberlin.org/english/kunze/enzym.htm)>. Acesso em 18 abr. 2013.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.2512-2521, 2000.

MARQUES, M. R.; XAVIER FILHO, J. Enzymatic and inhibitory activities of cashew tree gum exudate. *Phytochemistry*, v. 30, p. 1431-1433, 1991.

MURALIKRISHNA, G.; NIRMALA, M. Cereal  $\alpha$ - amylases—an overview. **Carbohydrate polymers**, v.60, p.163-173, 2005.

PAULA, C. S.; VERDAM, M. C. S.; SOUZA, A. M.; HIROTA, B. C. K.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Prospecção fitoquímica e avaliação preliminar da atividade antibacteriana dos extratos das folhas e casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Visão Acadêmica**, v.14, n.1, p. 4-12, 2013.

PAULA, C. S.; CANTELI, V. C. D.; VERDAM, M. C. S.; KALEGARI, M.; CAMPOS, R.; HIROTA, B. C. K.; MIGUEL, O. G. M.; MIGUEL, M. D. Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.16, n.2, p. 189-195, 2014a.

PAULA, C. S.; CANTELLI, V. S. D. ; SILVA, C. B.; CAMPOS, R.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Atividade alelopática do extrato e frações das folhas de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 35, n. 1, p. 47-52, 2014b.

PIERIS, B.; SIEGEL, Z.; SIEGEL, S.M. The relation of electrolyte-induced peroxidase changes in salt-sensitive and salt-tolerance rice varieties to changes in other physiological parameters. In: LOBARZEWSKI, J., GREPPIN, H., PENEL, CL, GASPARD, T.H. (Ed.) **Biochemical, molecular, and physiological aspects of plant peroxidases**. University of Geneva, 1991. p.425-432.

PRASAD, T. K.; ANDERSON, M. D.; MARTIN, B. A.; STEWART, C. R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **The Plant Cell**, v. 6, p. 65-74, 1994.

PUTTER, J. Peroxidases. In Bergmeyer H.U. **Methods of Enzymatic Analysis**. 2<sup>nd</sup>. **Weinhan Verlag Chemie**, 1974, p.685-690.

RABINOWITCH, H. D., FRIDOVICH, I. Superoxide radicals, superoxide dismutases and oxygen toxicity in plants *Photochem. Photobiology*, v. 37, n. 6, p. 679-690, 1983.

RICE, E. L. (1984). **Allelopathy**. 2 edição. Orlando: Academic Press, 1984. 67-68p.

---

RIZVI, S. G. H.; RIZVI, V. **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman and Hall, 1992. 480p.

TREVISAN, R.R.; LIMA C. P.; MIYAZAKI, C. M. S.; PESCI, F. A.; SILVA, C. B.; HIROTA, B. C. K.; LORDELLO, A. L. L.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; ZANIN, S. M. W. Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, p.494-499, 2012.

ZHENG-CUIMING; TENG-BING; GAO-FENGI; WUZONGPU; ZHENG-CM; TENG-B; GAO-FL; WU-ZP. Studies on the changes of superoxido dismutase, peroxidase and poliphenol oxidase in seed coat of soybeans after infection with soybean mosaic virus. **Scientia-Agricultura Sinica**, v.32, p.99-101, 1999.