



**Roberto de Farias Filho**

**Extratos de *Cyperus rotundus* em substituição ao ácido indolbutírico no  
crescimento *in vitro* de *Lactuca sativa***

**Alfenas  
Dezembro 2018**



**ROBERTO DE FARIAS FILHO**

**“Extratos de *Cyperus rotundus* em substituição ao ácido indolbutírico no crescimento *in vitro* de *Lactuca sativa*”**

A Banca julgadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Ciências Ambientais.

Aprovado em: 21 de dezembro de 2018.

Prof. Dr. Breno Régis Santos

Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Adriano Bortolotti da Silva

Instituição: UNIFENAS

Assinatura: \_\_\_\_\_

Dra. Kamila Rezende Dázio de Souza

Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

**“Enquanto ensino continuo buscando, reprocurando. Ensino porque busco, porque indaguei, porque indago e me indago. Pesquiso para constatar, constatando intervenho, intervindo educo e me educo. Pesquiso para conhecer o que ainda não conheço e comunicar ou anunciar a novidade.”**

**Paulo Freire**

## Sumário

Introdução .....	07
Artigo I.....	11
Artigo II.....	20
Considerações finais .....	27
Referências bibliográficas .....	28
Anexo I .....	32
Anexo II.....	34

## Resumo

A utilização de extratos naturais vem despertando grande interesse para as pesquisas científicas e trazendo bons resultados. O extrato de tiririca (*Cyperus rotundus*), por exemplo, já vem sendo muito utilizado como enraizador de estacas, porém há poucos estudos que tratam da substituição de auxinas sintéticas utilizadas no cultivo *in vitro* por extrato de *C. rotundus*. O objetivo do estudo foi observar os efeitos dos extratos de folha e tubérculos de tiririca comparados com o ácido indolbutírico adicionado em meio de cultura no cultivo *in vitro* de alface. Em um primeiro experimento foram utilizados sete concentrações de extrato de folhas, de extrato de tubérculos e de AIB, respectivamente, 0 mg.L<sup>-1</sup>, 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, 1 mg.L<sup>-1</sup>, 5 mg.L<sup>-1</sup>, 10 mg.L<sup>-1</sup>, 20 mg.L<sup>-1</sup>, 50 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup>. Em um segundo experimento foram adicionados diretamente ao meio de cultura os tubérculos triturados nas seguintes concentrações: 2g. L<sup>-1</sup>, 10g L<sup>-1</sup>, 18g.L<sup>-1</sup>, 26g.L<sup>-1</sup> e quatro concentrações de AIB, 0,25 mg.L<sup>-1</sup>, 0,50 mg.L<sup>-1</sup>, 0,75 mg.L<sup>-1</sup>, 1,0 mg.L<sup>-1</sup>. Sementes de alface foram inoculadas em meio MS com os devidos ajustes para a cultura. Observou-se que os extratos não exercem influência na germinação, em ambos os ensaios a *Cyperus rotundus* influenciou no desenvolvimento da Alface *in vitro*, mostrando possuir um potencial para a substituição do AIB *in vitro*.

Palavras chave: auxina, biotecnologia vegetal, fitoregulador, fitohormônio

## Abstract

The use of natural extracts has been increasing interest in scientific research and has produced good results. For example, *Cyperus rotundus* extract has been widely used as a stake rooting agent, however there are few studies dealing with the substitution of synthetic auxins used in *C. rotundus* extract *in vitro* cultivation. The objective of the study was to observe the effects of *C. rotundus*' leaf and tuber extracts compared to the indole butyric acid added in growth medium in lettuce *in vitro* cultivation. In a first experiment were used treatments were seven concentrations of leaf extract, tuber extract and IBA, respectively, 0 mg.L<sup>-1</sup>, 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1 mg.L<sup>-1</sup>, 5 mg.L<sup>-1</sup>, 10 mg.L<sup>-1</sup>, 20 mg.L<sup>-1</sup>, 50 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup>. In a second experiment the crushed tubers were grown in the following concentrations, 2 g.L<sup>-1</sup>, 10 g.L<sup>-1</sup>, 18 g.L<sup>-1</sup>, 26 g.L<sup>-1</sup> and four IBA concentrations were pipetted 0,10 mg.L<sup>-1</sup>, 0,25 mg.L<sup>-1</sup>, 0,50 mg.L<sup>-1</sup>, 0,75 mg.L<sup>-1</sup>, 1,0 mg.L<sup>-1</sup>. The seeds were inoculated in MS medium with the appropriate adjustments for the culture. It was observed that although the extracts have not influenced on germination, that both trials to *Cyperus rotundus* influenced the development of lettuce *in vitro*. Showing a potential for IBA replacement *in vitro*.

Key words: auxin, plant biotechnology, phytohormone, phyto regulator

## INTRODUÇÃO

O êxito no cultivo à campo para a maioria das espécies se dá com a formação de um estande final o mais homogêneo possível (NASCIMENTO, 2009), pode-se citar a desuniformidade na emergência em campo (CAVALCANTE et al., 2018), proveniente da germinação *in loco* ao invés da utilização de mudas como um dos fatores. Para que se alcance tal finalidade as mudas com garantia de procedência, sanidade e genética são alternativas. A cultura de tecidos vegetais *in vitro* é uma técnica capaz de garantir tais preceitos. Inspirada no princípio da totipotência, uma teoria criada por Schleiden e Schwann no século XIX, a qual enuncia que uma única célula é capaz de dividir-se e diferenciar-se, dando origem a uma nova planta (GUERRA e NODARI, 2006). A preferência por este método se dá pela possibilidade de se obter plantas com características desejáveis, em uma escala de tempo menor e em grandes quantidades pela reprodutibilidade do processo (Lemes, 2015) e por tal técnica propiciar a produção de mudas com grande uniformidade, através de uma multiplicação consideravelmente rápida (OLIVEIRA et al., 2007). No Brasil existem vários laboratórios comerciais distribuídos em diversos estados, que produzem tais plantas (BRAHM e OLIVEIRA, 2004). Diversas espécies são produzidas através de tal técnica biotecnológica, como banana, tomate, morango, abacaxi, batata, orquídeas, cana-de-açúcar, eucalipto, entre outras (SILVA e FERREIRA, 2016).

Vários protocolos de cultivo *in vitro* têm sido estudados para diversas espécies. No entanto, o sucesso desse processo depende de alguns fatores, como o genótipo, o regulador de crescimento e sua dose, o meio de cultivo, as condições de cultivo *in vitro*, dentre outros fatores (DESCHAMPS, 1993). Uma das peculiaridades da propagação *in vitro* é a possibilidade do maior controle das diferentes fases do crescimento dos explantes, isso não seria possível sem adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura, compostos orgânicos dos quais, em baixas concentrações, promovem, inibem ou modificam o crescimento do vegetal quando cultivados *in vitro* (HARTMANN et al. 2002). Estes componentes direcionam o metabolismo do explante para o processo desejado, e os efeitos observados quanto às respostas das células, tecidos e órgãos *in vitro* variam de acordo com as condições ambientais, o tipo do explante e o genótipo da planta (PASQUAL, 2001).

Julius Von Sachs, botânico alemão, relatou em meados do século XIX que mensagens químicas eram emitidas dentro dos vegetais, e tal comunicação era a responsável pelo

crescimento e formação dos órgãos das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2013). Os hormônios, responsáveis por essa comunicação, dada através da interação entre os mesmos e proteínas específicas, localizadas em membranas celulares, são os grandes responsáveis pelo desenvolvimento e direcionamento fisiológico dos vegetais. A aplicação de reguladores vegetais constitui uma das formas usuais de induzir a organogênese em plantas, pois permite direcionar o balanço hormonal, visando à formação do órgão desejado. Os hormônios ou reguladores vegetais atuam não só através da alteração de suas concentrações, como também através de mudanças na sensibilidade das células receptoras a estes compostos (TREWAVAS e CLELAND 1983). O tipo e a concentração de reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores determinantes no crescimento e no padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultivo *in vitro* (HARTMANN et al. 2002). Entre os reguladores de crescimento mais utilizados na propagação *in vitro* e que desempenham importante papel na regeneração de plantas em várias espécies vegetais estão as citocininas e as auxinas. A disponibilidade e a interação desses dois reguladores de crescimento podem modular a formação de raízes e parte aérea (SKOOG e MILLER, 1957).

As auxinas, por exemplo, são as únicas capazes de aumentar a formação de primórdios radiculares (TAIZ e ZEIGER 1998). Segundo Grattapaglia e Machado (1998), as auxinas estão presentes em 80% dos meios de enraizamento podendo ser adicionadas sozinhas ou em combinação. Em estudos de enraizamento adventício, o grupo de reguladores vegetais mais usado é o das auxinas, possivelmente por estimular a síntese de etileno e favorecer a emissão de raízes, sendo as mais utilizadas o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftaleno acético (ANA). (LAJÚS et al., 2007). O AIB é considerado a auxina mais eficiente para essa finalidade, por sua baixa toxicidade, estabilidade à ação da luz, maior aderência à estaca e maior resistência ao ataque por ação biológica (HARTMANN et al., 2011).

Os hormônios ou reguladores vegetais atuam não só através da alteração de suas concentrações, como também através de mudanças na sensibilidade das células receptoras a estes compostos (TREWAVAS e CLELAND 1983). As formas sintéticas de hormônios são produzidas em laboratórios e apresentam custos muito elevados para suas fabricações (CAVALCANTE et al., 2018). Diversos trabalhos têm sido realizados visando à redução de custos do processo de cultura de tecidos, incluindo formas alternativas de preparo dos meios de cultivo utilizados, que contribuem para elevar o preço final das mudas (PEREIRA et al., 2014), também como fonte menos poluidoras, em seus processos de obtenção. Sendo assim, a utilização de substâncias complexas faz-se interessante. Algumas plantas produzem hormônios que podem ser usados como estimuladores. Dentre estas plantas, destaca-se a



tiririca (*Cyperus rotundus*) (LAYNEZ-GARSABALL; MÉNDEZ-NATERA, 2006; MOREIRA; GIGLIO, 2012; SILVA et al. al., 2013).

Os bioestimulantes podem provir de substâncias complexas. Segundo Ono (1999), tais substâncias são capazes de promover o equilíbrio hormonal das plantas, melhorando a expressão do seu potencial genético. Tais produtos podem promover a degradação de compostos das reservas de sementes, nas mais diversas fases celulares, como divisão, diferenciação e alongamento (Castro e Vieira, 2001). Os hormônios, assim como outros complexos, assim como as enzimas, o DNA e as vitaminas têm a propriedade de exercer efeitos, por vezes de capital importância morfofisiológica, até mesmo quando presentes em baixas concentrações (Castro e Vieira, 2001).

A *Cyperus rotundus*, popularmente chamada de tiririca, é uma planta que possui ciclo perene, porte herbáceo e hábito de crescimento ereto. Suas folhas apresentam tonalidades verdes escuro e inflorescências compostas por espiguetas em coloração amarronzada (BLANCO, 2006). É considerada uma das plantas daninhas mais difíceis de controlar à campo (FRANCINEUMA et al., 2005). Acredita-se que metade dos solos agricultáveis brasileiros esteja infestada com tiririca (DURIGAN et al, 2005). Segundo PASTRE (2006), trata-se de uma planta com reprodução por sementes, mas pouco expressiva, pois menos de 5% são viáveis. Os órgãos subterrâneos, que são a forma mais usada pela planta para se reproduzir, possuem gemas que quando brotam originam novos indivíduos, obtendo assim alta velocidade e eficiência na disseminação. Cerca de 80% dos tubérculos são encontrados numa profundidade de 20 centímetros, podendo permanecer em um estado de dormência vegetativa por longos períodos (PASTRE et al., 2009).

Lorenzi (2000) afirma que suas folhas e tubérculos possuem altas concentrações de ácido indolbutírico, uma fonte de auxina. O extrato de tiririca já vem sendo muito utilizado como enraizador de estacas (SCARIOT et al., 2017; KOEFENDER et al., 2017; FARINA, 2017). Ele é capaz de promover o enraizamento de algumas espécies de forma semelhante à utilização de auxinas sintéticas (SOUZA et al., 2012). Silva (2007) observou que o extrato de tiririca foi benéfico ao crescimento de raízes, quando utilizado em estacas de pinhão manso, segundo Bolzan (2003) em algumas pesquisas tem-se observado a interferência de extratos de tiririca na germinação de sementes de algumas espécies, fato também observado por SOUZA et al. (2010). Câmara et al. (2016) constataram que o extrato foi benéfico a porcentagem de brotação de estacas de aceroleira. Outros autores também constataram existir efeitos alelopáticos em tais extratos para diversas espécies, para germinação de sementes e estaquias, como Andrade et al. (2009) e Gusman et al. (2011). Mas há poucos estudos

referentes à substituição de auxina sintética, usadas *in vitro* por extrato de tiririca adicionado ao meio de cultura.

Extratos vegetais contêm substâncias de várias classes, como compostos fenólicos, terpenos, taninos, alcaloides, flavonoides, entre outros compostos. Tais substâncias são capazes de interagir de forma positiva ou negativa sob variadas espécies (GUSMAN et al., 2011). Os compostos químicos mais encontrados nos extratos capazes de exercer efeitos alelopáticos compõem diversos grupos, como as cumarinas, taninos, quinonas, flavonoides, fenólicos, saponinas (RODRIGUES & LOPES, 2001; SOUZA & FURTADO, 2002; TOKURA & NÓBREGA, 2006). Os taninos são encontrados em diferentes partes da planta. Localizam-se separadamente das proteínas e enzimas do citoplasma, estando presentes no interior dos vacúolos. Está diretamente relacionado às propriedades de adstringência. Os flavonoides garantem o aroma aos vegetais e coloração as flores. Atuam diretamente na defesa química contra microorganismos, fungos e bactérias (CASTRO et al., 2004).

O objetivo do estudo foi observar os efeitos da *Cyperus rotundus* adicionando seus tubérculos diretamente a meio de cultivo *in vitro* ou na forma de extratos de folha e tubérculos, como substituidores do ácido indolbutírico, utilizando a alface como bioensaio. Uma vez que essa planta é encontrada em todo território nacional, a tornando de fácil acesso, minimizando assim os custos do processo de produção de mudas e minimizando o uso de compostos químicos sintéticos, os quais geram maiores impactos ao ambiente quando comparados aos compostos naturais.

## Scientific Article I

### ***Cyperus rotundus* extracts in substitution of indole butyric acid in the *Lactuca sativa* *in vitro* growth.**

#### **Abstract**

The use of natural extracts has been increasing interest in scientific research and has produced good results. For example, *Cyperus rotundus* extract has been widely used as a stake rooting agent. The objective of the study was to observe the effects of *C. rotundus*' leaf and tuber extracts *in vitro* as a substitute for indole butyric acid. The used treatments were seven concentrations of leaf extract, tuber extract and IBA, respectively, 0 mg.L<sup>-1</sup>, 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1 mg.L<sup>-1</sup>, 5 mg.L<sup>-1</sup>, 10 mg.L<sup>-1</sup>, 20 mg.L<sup>-1</sup>, 50 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup>. It was observed that although the extracts have not influenced on germination, they had on the length and mass of lettuce grown *in vitro*.

Key words: auxin, plant biotechnology, phyto regulator, phytohormone.

#### **Resumen**

El uso de extractos naturales ha aumentado el interés en la investigación científica y ha dado buenos resultados. Por ejemplo, el extracto de *Cyperus rotundus* se ha utilizado ampliamente como agente de enraizamiento de estacas. El objetivo del estudio fue observar los efectos de los extractos de hoja y tubérculo de *C. rotundus* en comparación con el ácido butírico de indol. Los tratamientos utilizados fueron siete concentraciones de extracto de hoja, extracto de tubérculo e AIB, respectivamente, 0 mg.L<sup>-1</sup>, 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1 mg.L<sup>-1</sup>, 5 mg.L<sup>-1</sup>, 10 mg.L<sup>-1</sup>, 20 mg.L<sup>-1</sup>, 50 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup>. Se observó aunque los extractos no han influido en la germinación, tenían la longitud y la masa de lechuga cultivadas *in vitro*.

Palabras claves: auxina, biotecnología vegetal, fitogulador, fitohormona.

#### **Introduction**

Some synthetic substances can produce effects like those made by hormones, which we call phyto regulators. Growth regulators have been used in agriculture for a long time, mainly *in vitro*, making the plants more likely to face the field adversities. Among the main groups of regulators, we can highlight the auxins. Vernier and Cardoso (2013) report the auxin's ability to make the root system more developed, accelerating this process and improving its quality.

Although the synthetic substances use is widespread and applied, the science has increasingly turned its attention to natural substances capable of promoting the same effects.

Much of this interest comes from the fact that plant extracts are obtained in a simpler way, generating smaller carbon footprints in their production processes compared to synthetic ones. Thus, *Cyperus rotundus* becomes an alternative as a natural source of auxin. Cremonez et al. (2013) report that their leaves and tubers have high concentrations of indole butyric acid, a source of auxin. Such concentrations can promote plant rooting.

The lettuce, *Lactuca sativa*, is a species widely used as bioassay (GOMES et al., 2012). It has high sensitivity to possible allelochemical agents (ARAUJO and MONTEIRO, 2005). The objective of this research was to analyze the potential of indole butyric acid substitution by *Cyperus rotundus* extracts *in vitro* using lettuce as bioassay.

## **Material and methods**

The *Cyperus rotundus* plants used were taken from areas belonging to the Federal University of Alfenas. The plants leaves and tubers were washed with distilled water and neutral soap, after they were dried on paper towel and oven at 60°C for 24h, then ground in an industrial blender until reduced to a fine powder. 10 g of powdered leaves and tubers were weighed and placed separately in 1 L of ethanol to extract compounds. After 24h both solutions were conditioned in rotary evaporator in order to remove all the ethanol, obtaining a concentrated extract.

The used treatments were seven concentrations of leaf extract, tuber extract and synthetic auxin, respectively, 0 mg.L<sup>-1</sup>, 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1 mg.L<sup>-1</sup>, 5 mg.L<sup>-1</sup>, 10 mg.L<sup>-1</sup>, 20 mg.L<sup>-1</sup>, 50 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup>. The source of synthetic auxin was indole butyric acid. The used growth medium for inoculation was MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962). One seed was inoculated per test tube in a laminar flow chamber with the aid of fully sterilized material. The plants remained in a growth room with controlled photoperiod, containing 12h of light and 12h of dark and temperature at 25°C. The germination evaluation occurred 7 days after inoculation, as the evaluations of developed plants, aerial part length, root length, fresh aerial part mass, fresh root mass occurred 20 days after inoculation. The experimental design was completely randomized with 13 replicates per treatment. The data collected were submitted to analysis of variance, using the significance levels of 5% for the Scott Knott test.

## Results and discussion

For the efficacy parameter germination percentage (figure 1), there was no statistical difference in germination percentages of lettuce seeds. With all treatments, rates higher than 90% of root protrusion, according to the Rules for Seed Analysis (BRASIL, 2009).

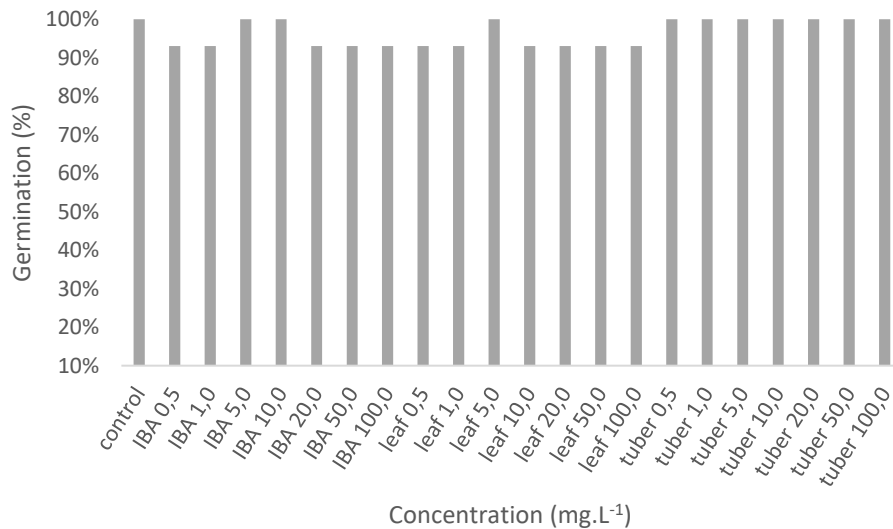


Figure 1: Germination percentage of *Lactuca sativa* seeds grown in MS medium with leaf extracts, tuber extracts and IBA at different concentrations.

In water imbibition by seeds, to obtain germination, some allelopathic origin compounds can generate alterations at this stage, when they are absorbed by the seeds (GONZALEZ et al., 2002). However, sometimes this process remains unchanged. Pereira et al. (2018) found that the *Cyperus rotundus* extract did not affect the cowpea seeds germination, as was observed in this experiment. Different from that observed by this experiment, *Cyperus rotundus* extract reduced the germination of common bean seeds (COELHO et al., 2014).

For the root length evaluation parameter (Figure 2), the treatments containing 1.0 mg.L<sup>-1</sup> and 10.0 mg.L<sup>-1</sup> of tuber extract obtained the best means. The treatment of 50.0 mg.L<sup>-1</sup> of tuber extract and 0.5 mg.L<sup>-1</sup> of leaf extract, obtained averages smaller than those already mentioned, but superior to the control. The doses of 5 mg.L<sup>-1</sup> and 20.0 mg.L<sup>-1</sup> of tuber extract did not differ from the control. The other doses, both IBA, leaf and tuber extracts, obtained averages lower than the control.

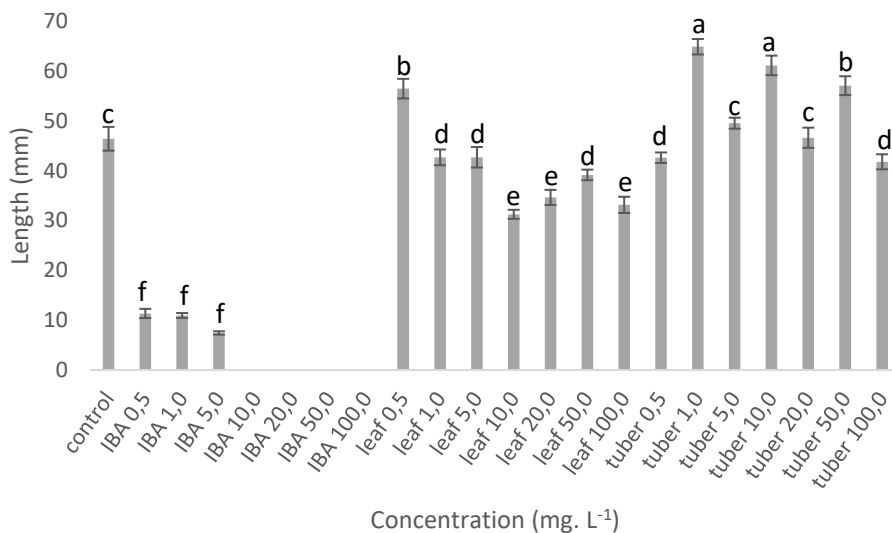


Figure 2: Root length of *Lactuca sativa* grown on MS medium with leaf extracts, tuber extracts and IBA in different concentrations.

As observed in the present study, the *Cyperus rotundus* extract was efficient for the rooting of stakes from the hypocotyl of *Phaseolus vulgaris* (Ono and Rodrigues, 2005).

For the evaluation of the fresh root mass (Figure 3), the dose of 0.5 mg.L<sup>-1</sup> promoted greater mass gains, followed, respectively and decreasingly, by the doses 50.0 mg.L<sup>-1</sup>, 100 mg.L<sup>-1</sup>, 20.0 mg.L<sup>-1</sup> and 5.0 mg.L<sup>-1</sup>, 10.0 mg.L<sup>-1</sup> and 1.0 mg.L<sup>-1</sup>, all from tuber extract. The doses of IBA 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1.0 mg.L<sup>-1</sup> and 5.0 mg.L<sup>-1</sup>, obtained lower mean values, but following the same descending order. All of them being considered superior to control. The remaining treatments were statistically the same as the control. It should be noted that among the best doses there are none from the leaf extract.

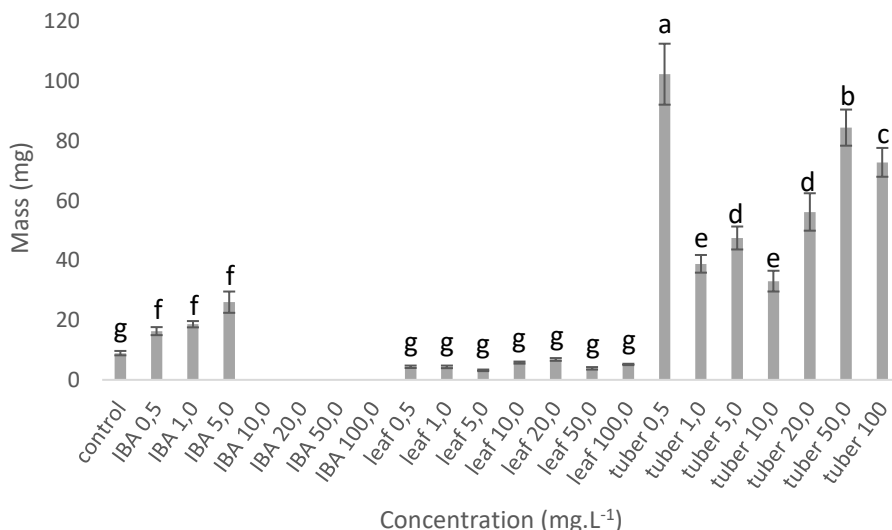


Figure 3: Fresh root mass of *Lactuca sativa* grown on MS medium with leaf extracts, tuber extracts and IBA at different concentrations.

Souza et al. (2012), reports that the aqueous *Cyperus rotundus* extract did not influence the root mass for the coffee tree. This fact does not correspond to this experiment data, since the *Cyperus rotundus* extract showed influence on the root lettuce mass.

For aerial part length, the tuber extract at the concentration of 50 mg.L<sup>-1</sup> obtained the best performance, followed by the concentration of 20 mg.L<sup>-1</sup> and the leaf extract at the concentrations 0.5 mg.L<sup>-1</sup> and 50.0 mg.L<sup>-1</sup>. The doses of 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1.0 mg.L<sup>-1</sup>, 5.0 mg.L<sup>-1</sup>, 10.0 mg.L<sup>-1</sup> of tuber extract and the doses of 1.0 mg.L<sup>-1</sup>, 5.0 mg.L<sup>-1</sup>, 20.0 mg.L<sup>-1</sup>, 50.0 mg.L<sup>-1</sup> did not differ from the control. The other treatments obtained lower means.

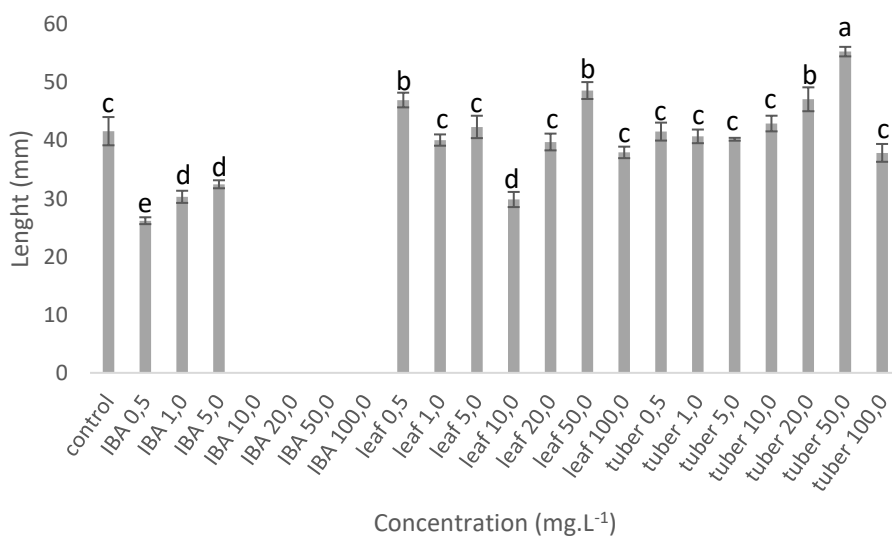


Figure 4: Aerial part length of *Lactuca sativa* grown in MS medium with different leaf extracts, tuber extracts and IBA in different concentrations.

Mahamoud et al. (2009), observed that the *Cyperus rotundus* extract promoted an aerial part growth of cassava stakes. Corroborating with the results found in this research, which show a larger development of the aerial part in the presence of the extracts. Dias et al. (2012) report that the *C. rotundus* extract was satisfactory to the aerial part growth of coffee tree seedlings. As observed in both studies, the *C. rotundus* extract shows positive allopathic influence for the aerial part growth.

For the aerial part fresh mass parameter, the leaf extract in the concentration of 50.0 mg.L<sup>-1</sup> obtained the best performance. The concentrations of 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1.0 mg.L<sup>-1</sup>, 5.0 mg.L<sup>-1</sup>, 10.0 mg.L<sup>-1</sup>, 20.0 mg.L<sup>-1</sup>, 100.0 mg.L<sup>-1</sup> leaf extracts and the concentrations of 0.5 mg.L<sup>-1</sup>, 1.0 mg.L<sup>-1</sup> and 5.0 mg.L<sup>-1</sup> IBA did not differ from the control. The other concentrations obtained statistically lower averages. It can be observed that all concentrations of tuber extract obtained lower measurements when compared to all concentrations of leaf extract and control.

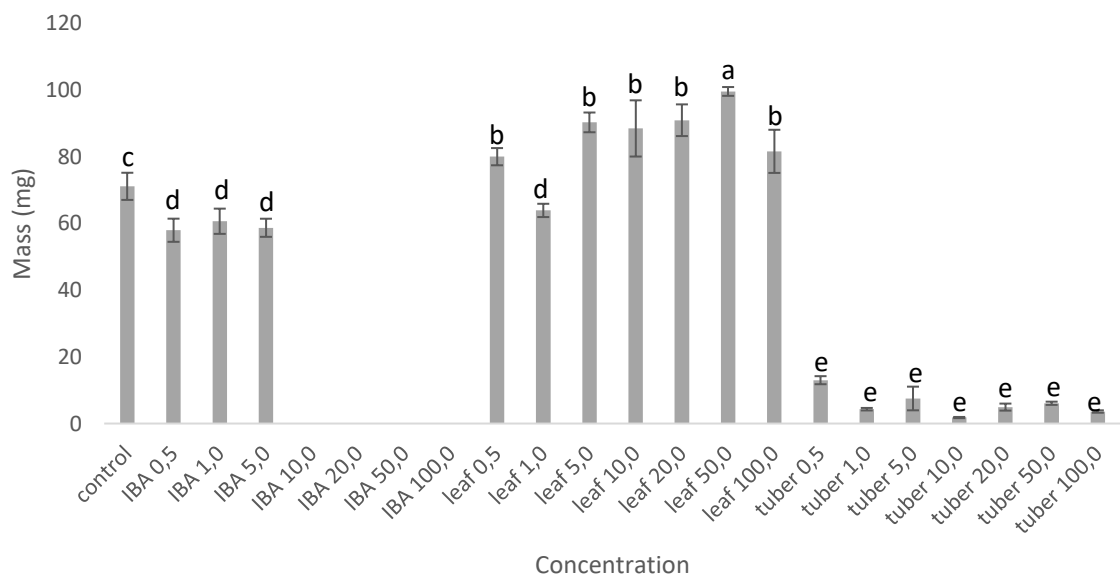


Figure 4: Aerial part fresh mass of *Lactuca sativa* grown in MS medium with leaf extracts, tuber and IBA in different concentrations.

Pimenta et al. (2013), concluded that the *Cyperus rotundus* extract influenced the evaluation parameters of root length and aerial part mass in a positive way for the cloning of *Cnidoscolus quercifolius* by layers. Also, observed in this research was the *in vitro* use of *C. rotundus* extracts with lettuce.

Singh, Pandey and Singh (2009) observed that the *Cyperus rotundus* extracts, for banana, induced different responses *in vitro*. It is suggested that such differences may have occurred due to interaction with the other substances contained in the MS medium, or also



by the possible alterations of the extract allelochemical potential during the autoclaving process of the means for the *in vitro* sterile inoculation. Stowe and Osborn (1980) found that allelopathic effects are more uniform and significant when nutrient availability is poor.

## **Conclusion**

The *Cyperus rotundus* extracts, both leaves and tubers, influence the growth of lettuce *in vitro*. This effect may be stimulatory or inhibitory, depending on the concentration in which it is present. However, it does not influence the lettuce seeds germination.

## References

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 3, p. 286-290, 2005.

COELHO, F. M. et al. Efeito de extratos de plantas espontâneas na germinação e no crescimento inicial do feijão comum. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 185-192, 2014.

CREMONEZ, F. et al. Principais plantas com potencial alelopático encontradas nos sistemas agrícolas brasileiras. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 2, p. 70-88, 2013.

DIAS, J. R. M. et al. Enraizamento de estacas de cafeeiro imersas em extrato aquoso de tiririca. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 259-266, set./dez. 2012

GONZALEZ, H.R. et al. Efectos alelopáticos de restos de diferentes espécies de plantas medicinales sobre la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) em condiciones de laboratório. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.7, n.2, p.67-72, 2002.

GOMES, L. S.; SILVA, F. A.; BARBOSA, S.; KUMMROW, F. Ecotoxicity of sludges generated by textile industries: a review. **Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology**, Itajaí, v. 7, n. 1, p. 89-96, 2012.

MAHMOUD, T. S. et al. Avaliação do efeito de hormônio natural, sintético e indutor no desenvolvimento da primeira fase de brotação das estacas de *Manihot esculenta* Crantz. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 5, p. 621-625, 2009.

MURASHIGE, T, SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Efeito do extrato de *Cyperus rotundus* L. na formação de raízes adventícias em estacas de hipocótilo de *Phaseolus vulgaris* L.** X Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal; XII Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal, Pernambuco, 2005.

PEREIRA, J. A. F.; SILVA, T. M.; FARIAS, A. R. B.; OLIVEIRA, A. B. Allelopathic potential of *Cyperus rotundus* L. extracts on germination and cowpea seedling establishment. **Nativa**, Sinop, v. 6, n. 3, p. 261-265, mai. /jun. 2018.

PIMENTA, et al. **Extrato de Tubérculos de *Cyperus rotundus* L. na clonagem da *Cnidocolus quercifolius* por alporquia.** IV CONEFLOR – III SEEFLOR/ Vitória da Conquista (BA), 25 a 28 de Novembro de 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Sinauer. Assoc. Inc, Sunderland Ma, USA, 5. ed., 2013, 782 p.

SOUZA, M. F. et al, Efeito do extrato de *Cyperus rotundus* na rizogênese. **Rev. de Ciências Agrárias**. vol.35 no.1 Lisboa jun. 2012.

SINGH, N.B.; PANDEY, B.N.; SINGH, A.; Allelopathic effects of *Cyperus rotundus* extract in vitro and ex vitro on banana. **Acta Physiol Plant**. 2009. 31: 633.

VERNIER RM & CARDOSO SB. 2013. Influência do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas em espécies frutíferas e ornamentais. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência**, 3: 11-16.

## Scientific Article II

### The use of crushed *Cyperus rotundus* tubers and added in growth medium replacing indole butyric acid in the *Lactuca sativa in vitro* growth.

#### Abstract

The use of natural extracts has been increasing interest in scientific research and has produced good results. For example, *Cyperus rotundus* extract has been widely used as a stake rooting agent, however there are no studies dealing with the use of *C. rotundus* directly. The objective of the study was to observe the effects of *C. rotundus*' crushed tuber *in vitro* directly added as a substitute for indole butyric acid. In the present study, the used treatments were four concentrations of tubers, 2 g.L<sup>-1</sup>, 10 g.L<sup>-1</sup>, 18 g. L<sup>-1</sup>, 26 g. L<sup>-1</sup> and four concentrations of IBA, 0,25 mg.L<sup>-1</sup>, 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, 0,75 mg.L<sup>-1</sup>, 1,0 mg.L<sup>-1</sup>. It was observed that the the best suited treatment for a better development of lettuce *in vitro* is the grown medium with directly tubers added at the concentration of 2 g.L<sup>-1</sup>.

Key words: auxin, plant biotechnology, phyto regulator, phytohormone.

#### Resumen

El uso de extractos naturales ha aumentado el interés en la investigación científica y ha dado buenos resultados. Por ejemplo, el extracto de *Cyperus rotundus* se ha utilizado ampliamente como agente de enraizamiento de estacas, sin embargo, no hay estudios que traten el uso de *C. rotundus* directamente. El objetivo del estudio fue observar los efectos de la adición *in vitro* del tubérculo triturado de *C. rotundus* como sustituto del ácido butírico indol. En el presente estudio, los tratamientos utilizados fueron cuatro concentraciones de tubérculos, 2 g.L<sup>-1</sup>, 10 g.L<sup>-1</sup>, 18 g. L<sup>-1</sup>, 26 g. L<sup>-1</sup> y cuatro concentraciones de IBA, 0,25 mg.L<sup>-1</sup>, 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, 0,75 mg.L<sup>-1</sup>, 1,0 mg.L<sup>-1</sup>. Se observó que el tratamiento más adecuado para un mejor desarrollo de la lechuga *in vitro* es el medio de cultivo con tubérculos añadidos directamente a la concentración de 2 g.L<sup>-1</sup>.

Palabras claves: auxina, biotecnología vegetal, fitogulador, fitohormona.

#### Introduction

One of the commonly used species in allelopathy tests is the lettuce, easily found and quite sensitive to several allelochemicals, even at low concentrations (Ferreira 2004). According to Gomes et al. (2012) lettuce, *Lactuca sativa* is considered as one of the most used species for bioassays. They present great sensitivity to the most diverse allelochemical agents (ARAUJO and MONTEIRO, 2005). *Cyperus rotundus* L. is an invasive plant that, under favorable environmental conditions, has a fast establishment due to the intense vegetative growth and tuber production, which have phenolic compounds that act as allelopathic, positively or negatively influencing the other plants growth and development

(FANTI 2008). In some researches, the interference of *Cyperus rotundus* extracts in some species seeds germination has been observed. (MUNIZ 2007). Research has been analyzing the *C. rotundus* extract interactions with some seeds used in agriculture such as corn, wheat, beans and soybeans. It is believed that the bulbs can interfere in the plant physiological relationships and provide changes in their development, by their action as a source of auxin. The objective of this research was to analyze the potential of indole butyric acid substitution by *Cyperus rotundus* crushed and added directly *in vitro*.

## **Material and methods**

The *Cyperus rotundus* plants used were taken from areas belonging to the Federal University of Alfenas. The plants leaves and tubers were washed with distilled water and neutral soap, after they were dried on paper towel and oven at 60°C for 24h, then ground in an industrial blender until reduced to a fine powder. Four tubers 2 g L<sup>-1</sup>, 10 g.L<sup>-1</sup>, 18 g.L<sup>-1</sup>, 26 g.L<sup>-1</sup> and four IBA concentrations, 0,25 mg. L<sup>-1</sup>, 0,50 mg. L<sup>-1</sup>, 0,75 mg. L<sup>-1</sup>, 1,0 mg. L<sup>-1</sup>, it was added to the growth medium for inoculation was MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962). The lettuce seeds were inoculated in a laminar flow chamber with the aid of fully sterilized material. The plants remained in a growth room with controlled photoperiod, containing 12h of light and 12h of dark and temperature at 25°C. The developed plants, aerial part length, root length, fresh aerial part mass, fresh root mass evaluations occurred 20 days after inoculation. The experimental design was completely randomized with 13 replicates per treatment. The data collected were submitted to analysis of variance, using the significance levels of 5% for the Scott Knott test.

## **Results and Discussions**

For root length (Figure 1), the treatment containing 2 g.L<sup>-1</sup> of crushed tubers added directly to the growth medium favored a better root development. The control is followed with a second best mean, the other treatments decreased the root length, since they present averages below the control, statistically.

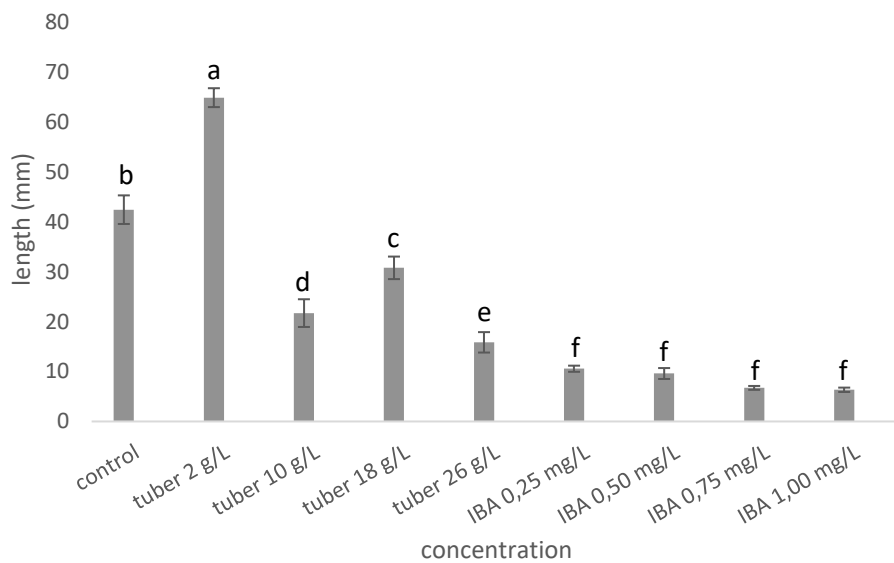


Figure 1: Root length of *Lactuca sativa* cultivated in MS medium with shredded tubers of *Cyperus rotundus* and IBA in different concentrations.

The root system of *Cyperus rotundus* has phenolic compounds. These compounds act directly on the IAA-oxidase system of plants (QUAYYUM et al., 2000), reducing the endogenous auxins degradation. (RODRIGUES et al., 2002), thus allowing auxin present in plant tissues to act.

For the aerial part length (Figure 2), no treatment obtained averages higher than the control, which suggests that adding crushed tubers directly to the growth medium is not interesting when it is desired to obtain an aerial part increase.

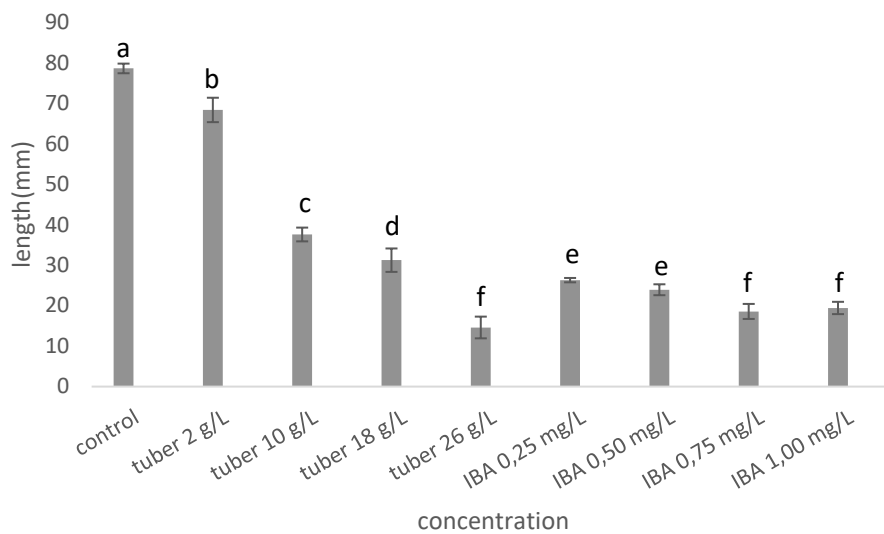


Figure 2: Aerial part length of *Lactuca sativa* cultivated in MS medium with shredded tubers of *Cyperus rotundus* and IBA in different concentrations.

According to Andrade et al. (2009) some chemical compounds with allelopathic functions directly affect the hormonal balance of plants in great decreasing activity, acting directly on younger leaves. Taiz and Zeiger (2006) report that the indole acetic acid biosynthesis is directly linked to rapid cell division, production of endogenous auxins.

For fresh root mass (Figure 3), the treatments  $2 \text{ g.L}^{-1}$  and  $10 \text{ g.L}^{-1}$  of crushed tubers and  $0.25 \text{ mg.L}^{-1}$  of IBA, favored a greater gain of fresh mass. Followed respectively by treatments  $18 \text{ g.L}^{-1}$  of tuber,  $0.75 \text{ mg.L}^{-1}$  of IBA, which also obtained averages above the control, the control and  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  did not differ and the concentration  $26 \text{ g.L}^{-1}$  of tuber showed a decrease in fresh root mass.

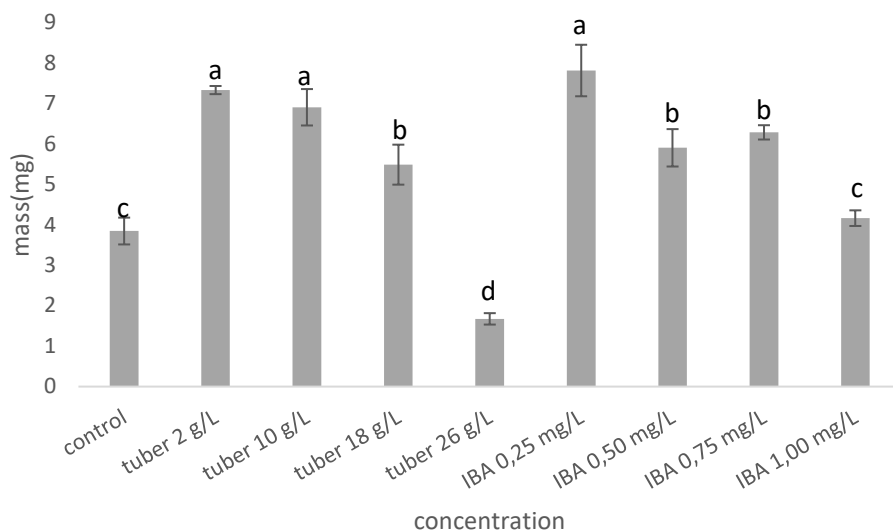


Figure 3: Root mass of *Lactuca sativa* cultivated in MS medium with shredded tubers of *Cyperus rotundus* and IBA in different concentrations.

High concentrations inhibit the rooting process, due to the negative allelopathic effect generated, resulting in significantly lower root mass, when compared to treatments with lower concentrations (PORTILHO, 2006). A similar effect occurs with the IBA use in high concentrations (SOUZA, 2012).

For the aerial part fresh mass (Figure 4), the treatment containing 2 g.L<sup>-1</sup> of tuber increased the fresh mass, being the only treatment with average superior to the control, all others being inferior. It is noted that the treatment containing 26 g.L<sup>-1</sup> of the tubers obtained the lowest mean, suggesting that in high concentrations, the tubers play an inhibitory role in the lettuce development.



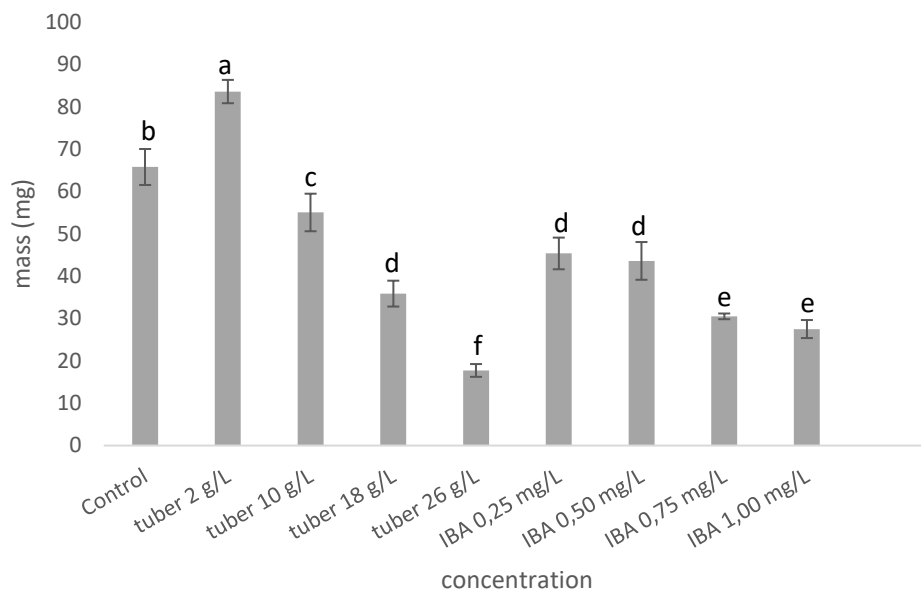


Figure 4: Aerial part mass of *Lactuca sativa* cultivated in MS medium with shredded tubers of *Cyperus rotundus* and IBA in different concentrations.

Guzman et al. (2011), in experiments with cabbage and radish, observed that the extract of *Cyperus rotundus* in high concentrations influenced the growth of the aerial part of these species. as observed in this experiment.

## Conclusion

The *Cyperus rotundus* tubers can influence the lettuce development *in vitro*, however for this, it must be used the ideal concentration of tubers, to not become inhibitory. The tuber concentration of 2 g.L<sup>-1</sup> added directly to the growth medium MS obtained better performance in most of the evaluated parameters.

## References

- ANDRADE, H. M. et al. Potencial alelopático de *Cyperus rotundus* L. sobre espécies cultivadas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1984-1990, 2009.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 3, p. 286-290, 2005.
- MUNIZ, F. R.; CARDOSO, M.G.; PINHO, E. V. R. V.; VILELA, M.- Qualidade fisiológica de sementes de milho, feijão, soja e alface na presença de extrato de tiririca. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 29, nº 2, p.195-204, 2007.
- FERREIRA, A.G. 2004. Interferência: competição e alelopatia. In: FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. (Orgs.). 2004. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: **Artmed**. p. 251-262.
- FANTI, Fernanda Pereira. **Aplicação de extratos de folhas e de tubérculos de *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) e de auxinas sintéticas na estaquia Caulinar de *Duranta repens* L. (Verbenaceae)**. Dissertação (Mestrado em Botânica)–Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- GOMES, L. S.; SILVA, F. A.; BARBOSA, S.; KUMMROW, F. Ecotoxicity of sludges generated by textile industries: a review. **Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology**, Itajaí, v. 7, n. 1, p. 89-96, 2012.
- GUSMAN, G.S. et al. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringea Sér. Bot.**, Porto Alegre, v.66, n.1, p.87-98, 2011.
- QUAYYUM, H. A. et al. Growth inhibitory effects of nutgrass (*Cyperus rotundus*) on rice (*Oryza sativa*) seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, i. 9, p. 2221-2231, 2000.
- SOUZA, M. F. et al, Efeito do extrato de *Cyperus rotundus* na rizogênese. **Rev. de Ciências Agrárias**. vol.35 no.1 Lisboa jun. 2012.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

## Considerações finais

A *Cyperus rotundus*, tanto na forma de extrato de folhas ou tubérculos, como quando adicionada diretamente na forma de tubérculos triturados ao meio de cultura, é capaz de exercer ações alelopáticas sob a *Lactuca sativa* no que diz respeito ao seu crescimento vegetativo inicial e ao seu ganho de massa fresca.

Em relação aos extratos, pode-se afirmar que existem diversas substâncias encontradas nos mesmos, estando elas entre os fatores responsáveis pelas diferenças no desenvolvimento fisiológico da planta. Este fato pode ser explicado pelas diferentes respostas observadas para os mesmos parâmetros avaliativos na utilização dos extratos, folhas e tubérculos, com as mesmas concentrações.

Em relação à adição de tubérculos triturados e adicionados diretamente ao meio de cultura observou-se que quanto maior a concentração adicionada ao meio, menores foram as taxas de desenvolvimento obtidas, tendo em vista que além de aumentar a influência das atividades alelopáticas de forma negativa, cria-se uma barreira física, com um meio de cultura mais denso.

Encara-se como promissor o uso de tal planta para o desenvolvimento de mudas *in vitro*, necessitando de mais estudos e refinamentos de concentrações e padronização do método de extração de compostos a fim de garantir níveis mais sólidos de substâncias extraídas dos mesmos. Os produtores de mudas via cultura de tecidos, além de se beneficiarem do fator econômico, pois deixar-se-iam de utilizar um composto químico de alto valor agregado, acarretando num barateamento do processo de produção, se favoreceriam de um apelo ambiental, pela utilização de um produto natural com menores impactos ambientais.

## Referencial bibliográfico

Andrade, H.M., Bittencourt, A.H.C., Vestena, S. Potencial alelopático de *Cyperus rotundus* L. sobre espécies cultivadas. *Ciência e Agrotecnologia*. 33: 1984-1990, 2009.

BLANCO, F.M.G. Tubérculo Invasor. **Caderno Técnico Cultivar**, n.90, p.2-7, 2006.

BOLZAN, F. H. C. **Estudo do efeito alelopático e de identificação de compostos presentes na tiririca (*Cyperus rotundus* L.)**. Lavras: UFLA/FAPEMIG, 2003.

BRAHM, R.U.; OLIVEIRA, R.P. Potencial de multiplicação *in vitro* de cultivares de morangueiro. **Rev. Bras. Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 3, p. 507-510, Dezembro 2004.

CÂMARA, F. M. M. et al. Sobrevivência, enraizamento e biomassa de miniestacas de aceroleira utilizando extrato de tiririca. **Comunicata Scientiae**, ISSN-e 2177-5133. 2016.

CASTRO, H. G., FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. da.; MOSQUIM, P. R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: **metabólitos secundários**. 2 ed. Viçosa: Gráfica Suprema, 2004. 113p.

CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L. Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical. Guaíba: **Agropecuária**, 2001. 132p.

CATANEO, A. C. et al. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*glycine max* l.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista brasileira de herbicidas**. ISSN 2236-1065. Volume 4. 2005

CAVALCANTE, J. A. et al. Extrato aquoso de bulbos de tiririca sobre a germinação e crescimento inicial de plântulas de rabanete. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. V.13, Nº 1, p. 39-44. Pombal-PB, 2018.

DESCHAMPS, C. **Propagação vegetativa in vitro de Sarandi-espécie florestal de mata ciliar**. Dissertação de Mestrado. Lavras, Escola Superior de Agricultura de Lavra, 128p. **1993**.

DURIGAN, J.C.; Timossi, P.C. e Correia, N.M. (2005) - Densidade e manejo químico da tiririca na produtividade da cana de açúcar. **Planta Daninha**, 23, 3: 463-469.

FARINA, V.A. et al. **Indução ao enraizamento adventício de espécies do gênero baccharis submetidas ao tratamento com extratos de bulbos de *Cyperus rotundus***. Universidade Federal da Fronteira Sul. Laranjeiras do Sul-RS, 2017.

FRANCINEUMA. P. A.; ALBERÍCIO. P. A.; NAPOLEÃO. E. M. B.; WALTER. E. P.; JOÃO. R. F. L. (2005) - Viabilidade econômica de sistemas de preparo do solo e métodos de

controle de tiririca em algodoeiro. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, 9, 4: 481-488.

GOULART, D.S. **Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico**. Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia-Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Goiás, 2012.

GUERRA, M. P.; NODARI R. O. **Apostila de Biotecnologia-CCA/UFSC**. Ed. Steinmacher. 40 p. 2006.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **IHERINGIA**, Sér. Bot., Porto Alegre, v. 66, n. 1, p. 87 - 98, julho 2011.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ, 1998. v.1, p.43-76.

HARTMANN, H. T.; Kester, D. E.; Davies JR. F. T. D.; GENEVE, R. L. 2002. Plant propagation: principles and practices. **PrenticeHall/Englewood Cliffs**, New Jersey. 7th ed. Upper saddle River: Prentice Hall.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES Jr., F. T.; GENEVE, R. L. **Plantpropagation: principles and practices**. 8ed. Boston: Prentice-Hall, 2011. 915 p.

KOEFENDER, A. et al. Concentração de extrato de tiririca e tempo de imersão no enraizamento de estacas de fisális. **Revista Holos**, Santa Maria-RS, 2017. Ano 33, Vol. 05. ISSN 1807-1600.

LAJÚS, C. R. et al. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas lenhosas de figueira (*Ficus carica* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 1107-09, 2007.

LAYNEZ-GARSABALL, J.A., MÉNDEZ-NATERA, J.R. Efectos de extractos acuosos del follaje del corocillo (*Cyperus rotundus* L.) sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv. Arapatol S-15. **Idesia**, v.24, n.2, p.61-75, 2006.

LEMES, C. S. R. **Germinação, desenvolvimento e aclimatização de *Miltonia flavescens* Lindl. (Orchidaceae)**. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, 2015.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3ªEd. Nova Odessa, SP: **Instituto Plantarum**, 2000.

NASCIMENTO, W. M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009, 432 p.

MOREIRA, G.C., GIGLIO, L.C. Uso de extrato de tiririca em sementes de milho e trigo. **Cultivando o Saber**, v.5, n.1, p.89-99, 2012.

OLIVEIRA, M. K. T.; NETO, F. B.; CÂMARA, F. A. A.; NUNES, G. H. S.; OLIVEIRA, F. A. Propagação “in vitro” da cultura do abacaxizeiro ornamental. **Revista Caatinga**. Caatinga (Mossoró, Brasil), v.20, n.3, p.167-171, julho/setembro 2007.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; SANTOS, S.O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, Taubaté, v.5, n.1, p.7-13, 1999.

PASQUAL, M. Textos acadêmicos: **meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.

PASTRE, Waldinei. **Controle de tiririca (Cyperus rotundus L.) com aplicação de sulfentrazone e flazasulfuron aplicados isoladamente e em mistura na cultura da cana-de-açúcar**. 2006. 53f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola) – Pós-Graduação – IAC.

PASTRE, W.; DEUBER, R.; ROLIM, J.C. Viabilidade de tubérculos de tiririca (*Cyperus rotundus*) tratados com sulfentrazone e flazasulfuron. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.8, n.2, p.44-53, mai./ago., 2009.

PEREIRA, M.R.; CARVALHO, V.S.; LUCAS, E. F.; GRAVINA, G. A. Amido de milho e hipoclorito de sódio no enraizamento *in vitro* do abacaxizeiro vitória e seu efeito na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.37, n.2, 2014.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 8, n. 1, p. 130-136, 2001.

SCARIOT, E. et al. Extrato aquoso de *Cyperus rotundus* no enraizamento de estacas lenhosas de *Prunus persica* cv. ‘Chimarrita’. **Revista de Ciências**, Lages, SC, Brasil, 2017. ISSN 2238-1171.

SILVA, M. A. da; BARBOSA, J. da S.; ALBUQUERQUE, H. N. de. Levantamento das plantas espontâneas e suas potencialidades fitoterapêuticas: um estudo no complexo Aluízio Campos, Campina Grande/PB. **Revista Brasileira de Informações Científicas**, v. 1, n. 1,

abr./jun., 2010.

SILVA, L.L.H. et al. Ácido indol acético e ácido indol butírico na clonagem de *Cnidocolus quercifolius* pelo processo de macroestaquia. **Revista Verde**, v.8, n.1, p.90-96, 2013.

SILVA, M.M.A.; FERREIRA, L.T. **Cultivo in vitro de plantas e suas aplicações em cactáceas**. Instituto Nacional do Semi Árido. Campina Grande-PB, 2016.

SOUZA, I. F.; FURTADO, D. A. S. Caracterização de aleloquímicos do centeio (*Secale cereale*) e seu potencial alelopático sobre plantas de alface (*Lactuca sativa*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 1097-1099, 2002.

SOUZA, M. F.; PEREIRA, E. O.; MARTINS, M. Q.; COELHO, R. I.; PEREIRA JUNIOR, O. S. Efeito do extrato de *Cyperus rotundus* na rizogênese. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p. 157-162, 2012.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures in vitro. **Symposia of the Society for Experimental Biology**. New York, v. 11, n. 1, p. 118–131, 1957.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 1998 **Plant Physiology**, 2ª ed., Sinauer Associates Inc., Sunderland, 792 pp.

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. H. P. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n. 3, p. 379-383, 2006.

TREWAVAS, A.J.; CLEALAND, R.E. 1983. Is plant development regulated by changes in the concentration of growth substances or by changes in the sensitivity to growth substances? **Trends in Biochemical Sciences**. 8: 354-357.

## Anexo I

### Análise cromatográfica de camada delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) trata-se de uma técnica onde haja a adsorção líquido-sólido, onde a afinidade entre compostos causa uma separação de misturas em uma fase estacionária (DEGANI et al., 1998). São adicionadas, com auxílio de um capilar, gotas do extrato à placa. Após a secagem da placa, ela é colocada em um recipiente contendo a fase móvel, onde apenas sua base fique submersa (GOULART, 2012). O solvente começa a molhar a fase estacionária e sobe por capilaridade, após esse deslocamento aguarda-se a placa secar, e posteriormente é realizada a revelação da placa com os agentes reveladores (PERES, 2002).

Ao realizar-se cromatografia em camada delgada nos extratos de folha e tubérculos, observou-se a presença de terpenos e ácidos fenólicos no extrato de folhas. Já para o extrato de tubérculos foi encontrada a presença de ácidos fenólicos, taninos e terpenos.

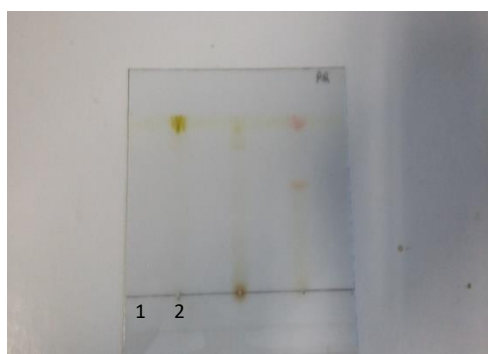


Figura 2: Bontrager

Revelador de antraquinona.

- 1- Extrato de folhas, não possui presença de antraquinona.
- 2- Extrato de tubérculos, não possui presença de antraquinona.

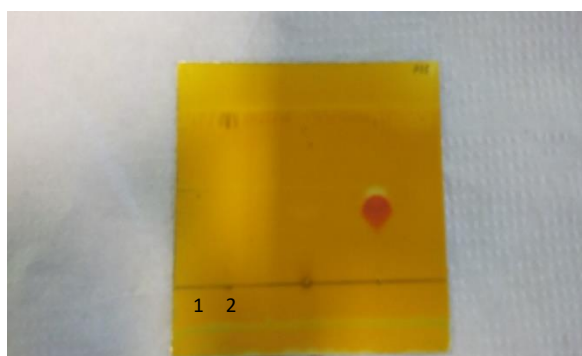
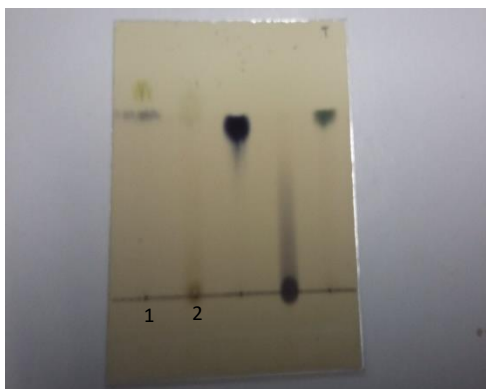


Figura 3: Dragendorff

Revelador de alcalóides.

- 1- Extrato de folhas, não possui presença de alcalóides.
- 2- Extrato de tubérculos, não possui presença de alcalóides.

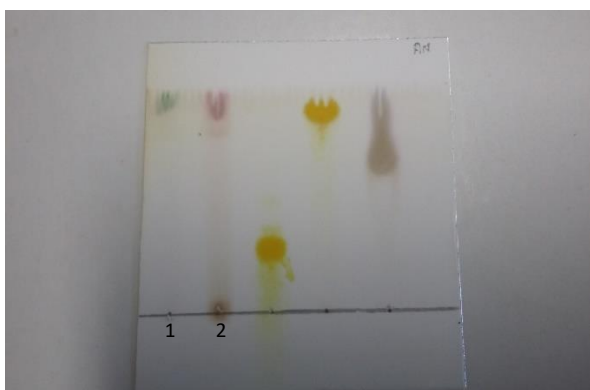




Revelador de ácidos fenólicos e taninos.

- 1- Extrato de folhas, presença de ácidos fenólicos.
  - 2- Extrato de tubérculos, presença de taninos e sinais de presença de ácidos fenólicos.
- A presença de ácidos fenólicos nota-se nas manchas no alto da placa. A presença de taninos nota-se pelas manchas de rastro e mais marcadas nos pontos de aplicação do extrato.

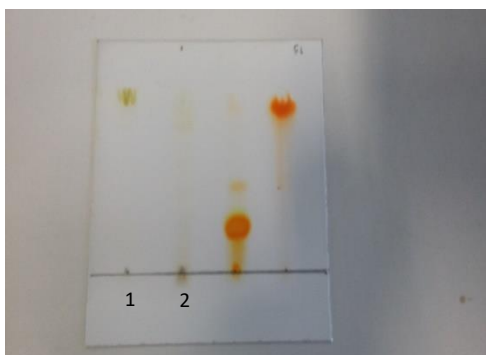
Figura 4: Cloreto férrico



Revelador geral.

- 3- Extrato de folhas, presença de terpenos.
  - 4- Extrato de tubérculos, presença de terpenos e taninos.
- A presença de terpenos nota-se nas manchas no alto da placa. A presença de taninos nota-se pelas manchas de rastro e mais marcadas nos pontos de aplicação do extrato.

Figura 5: Anisaldeído Sulfúrico



Revelador flavonóides (específico)

- 1- Extrato de folhas, não possui presença de flavonóides.
- 2- Extrato de tubérculos, não possui presença de flavonóides.

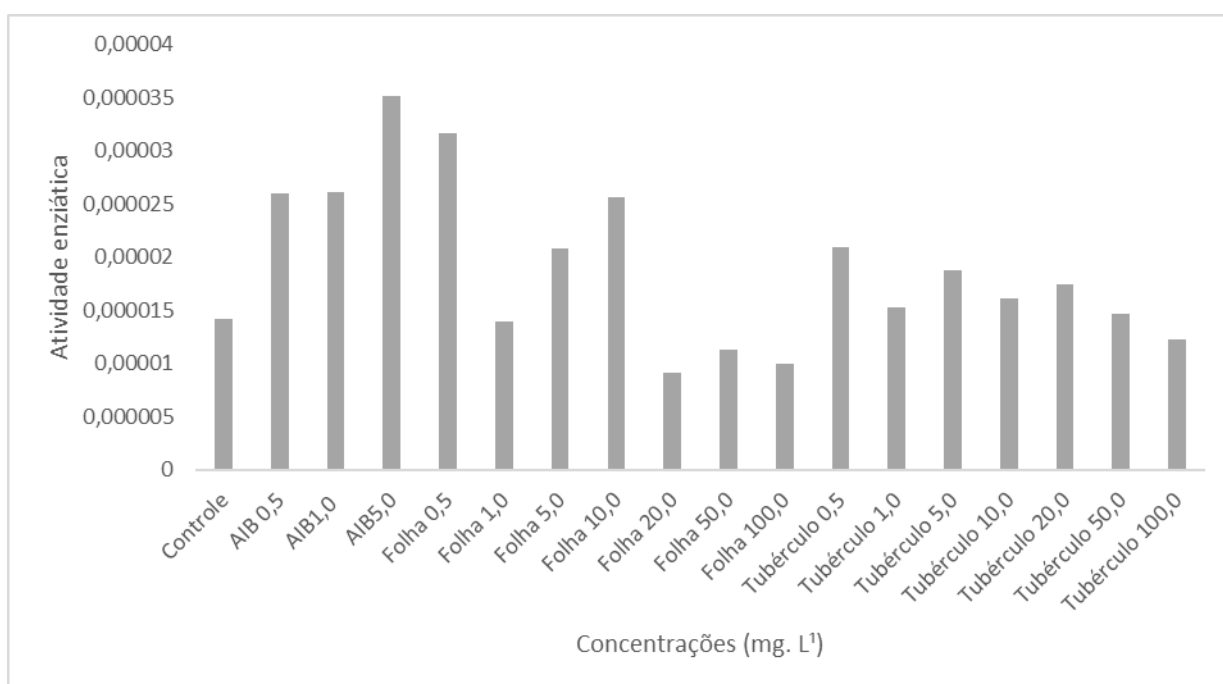
Figura 6: NP-peg

Catunda et al. (2002) notaram a existência de flavonóides, taninos e fenóis, em extrato de *Cyperus rotundus*. Conci (2004), através de uma cromatografia de camada delgada em um extrato alcoólico, identificou alguns grupos químicos, como terpenos, flavonoides e taninos. Corroborando com os dados obtidos em CCD realizada com os extratos deste experimento, onde identificou-se a presença de ácidos fenólicos, taninos e terpenos.

## Anexo II

### Atividade enzimática – SOD

A atividade da SOD é induzida quando ocorre estresse oxidativo, como uma forma de resposta, metabolizando os radicais superóxidos produzidos (CATANEO et al., 2005). A enzima superóxido dismutase (SOD) converte o oxigênio prejudicial em peróxido de hidrogênio menos reativo, catalisando a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio. O aumento da sua atividade está sempre relacionado a defesa das plantas, sendo relatado em aplicações de reguladores vegetais, estresses como seca, adubação, agroquímicos entre outros.



A atividade enzimática da SOD foi maior quando utilizou-se o AIB do que quando comparado com o uso, de uma forma geral, dos extratos. Estando eles mais próximos ao valor de atividade enzimática do controle, nos indicando que os extratos de *Cyperus rotundus* tendem a não causar grandes estresses oxidativos na *Lactuca sativa in vitro*.