

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAURA FEUSER
ACCO

**EXTRATOS FOLIARES DE CANJARANA (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.) SOB
A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO
(*Bidens pilosa* L.)**

PALOTINA

2016

LAURA FEUSER
ACCO

**EXTRATOS FOLIARES DE CANJARANA (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.) SOB
A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO
(*Bidens pilosa* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito para a disciplina TCC II do curso de
graduação em Agronomia da Universidade Federal
do Paraná - Setor Palotina.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia da Costa Zonetti

PALOTINA

2016

TERMO DE APROVAÇÃO

LAURA FEUSER ACCO

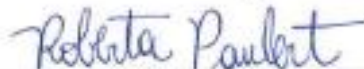
EXTRATOS FOLIARES DE CANJARANA (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.)
SOB A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE
PICÃO-PRETO (*Bidens pilosa* L.)

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial à obtenção
do título de Engenheiro Agrônomo, Curso de Agronomia no Setor Palotina da
Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Profª. Drª. Patricia da Costa Zonetti

Orientadora - Departamento de Ciências Agronômicas - UFPR Setor Palotina



Profª. Drª. Roberta Paulert

Departamento de Ciências Agronômicas - UFPR Setor Palotina



Profª. Drª. Suzana Stefanello

Departamento de Biodiversidade - UFPR Setor Palotina

Palotina, 04 de julho 2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho com carinho a todas as pessoas que contribuíram com a minha formação acadêmica, a minha família que sempre me apoiou, a minha orientadora pelo incentivo para a pesquisa, aos demais professores, amigos, servidores, enfim, todos que de forma direta ou indireta fizeram parte da minha formação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por todos acontecimentos vivenciados até aqui.

Aos meus pais, Jaime Acco e Janet Feuser e ao meu irmão Victor Acco pelo apoio incondicional em todos os momentos e por nunca desacreditarem em mim.

A minha orientadora, Patrícia da Costa Zonetti, pelos ensinamentos, paciência, orientação e incentivo na elaboração deste trabalho. Por exercer seu papel de professora e amiga ao mesmo tempo, estando sempre disposta a me ajudar nos momentos em que preciso.

A minha amiga Marinara Ferneda Ventorim, pela ajuda nos ensaios e pela companhia por muitas horas que passamos no laboratório.

A Ana Claudia Picotti Casagrande, Ana Carolina Picinini Petrolinio e ao Luiz Henrique Escher Grizza por me auxiliarem no desenvolvimento das atividades laboratoriais.

Ao professor Isac Rosset e a professora Roberta Paulert por todas as dúvidas solucionadas e ensinamentos transmitidos, por sua disponibilização sempre quando preciso.

A todos os técnicos de laboratório, Joelmir dos Santos e Francielle Pierobon, por toda ajuda e por estarem sempre disponíveis a qualquer imprevisto.

Ao mestrando Ricardo Diego de Albuquerque e a técnica de laboratório Débora Nascimento Eiriz pela análise fitoquímica realizada na Universidade Federal do Rio de Janeiro, e pela disponibilização das fotos.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira fizeram parte da minha formação e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

A alelopatia entre plantas vem sendo estudada como alternativa a ser utilizada para o controle de plantas daninhas com biótipos resistentes visando minimizar os efeitos ao ambiente causados pelo uso excessivo de agrotóxicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a interferência de extratos foliares de canjarana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.) sobre a germinação e crescimento inicial de plântulas de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Foi realizado um teste de germinação com caixas gerbox contendo 50 sementes e com o substrato umedecido com extratos aquosos extraídos por infusão e maceração na concentração de 1:10 (p/v) e extrato etanólico obtido por Soxhlet na concentração de 1:100 e 1:50 (p/v). O crescimento inicial das plântulas foi avaliado através do comprimento de raiz e parte aérea, em teste de vigor com rolos de papel germitest contendo 50 sementes e umedecidos com os extratos de infusão na concentração de 1:10 (p/v) e com o extrato etanólico na concentração de 1:100 (p/v). Ambos ensaios foram conduzidos em câmara de germinação do tipo BOD com temperatura de 30 °C/25 °C e com fotoperíodo de 10/14 horas. Outro ensaio foi realizado com sementes previamente tratadas com os extratos aquosos extraídos por maceração e infusão na concentração de 1:10 (p/v), e com os extratos alcoólicos na concentração de 1:100 e 1:50 (p/v). Posteriormente as sementes foram dispostas em rolos de papel germitest umedecidos com água destilada. Este ensaio foi conduzido em germinador mangelsdorf com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C e através da análise dos aspectos de morfologia de parte aérea e raiz foi calculado a porcentagem de plântulas normais e anormais. O extrato obtido por infusão reduziu a %G e o IVG em 31% e 51,25% respectivamente. O extrato aquoso por maceração não interferiu nas características germinativas. Os extratos alcoólicos nas duas concentrações reduziram a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação. No teste de vigor os tratamentos avaliados reduziram o comprimento radicular, sendo que o extrato aquoso obtido por infusão reduziu cerca de 59,4%, enquanto o extrato alcoólico na concentração de 1:100 (p/v) reduziu cerca de 44%. No tratamento de sementes não houve diferença entre a porcentagem de plântulas anormais. A extração obtida por infusão foi eficiente na obtenção de compostos bioativos que interferiram na germinação e crescimento radicular das plântulas de picão. Os extratos alcoólicos afetaram a %G e crescimento radicular possivelmente pelo acúmulo de terpenos detectados no mesmo. As folhas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. apresentam potencial alelopático. Através do presente estudo nota-se a necessidade de mais pesquisas sobre as características alelopáticas da canjarana.

Palavras-Chave: Alelopatia. Planta Daninha. Interferência.

ABSTRACT

Allelopathy between plants have been study as an alternative to use for weed control with resistant biotypes to minimize the environmental effects caused by excessive use of pesticides. This study aimed to evaluate the effect of leaf extracts of canjarana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart.) on the germination and early growth of seedlings beggarticks (*Bidens pilosa* L.). We conducted a germination test gerbox containing 50 seeds and with a substrate containing aqueous extracts extracted by infusion and maceration at a concentration of 1:10 (w/v) ethanolic extract obtained by Soxhlet a concentration of 1:100 and 1:50 (w/v). The length of root and shoot in force test measured the initial growth of the seedlings with germitest paper rolls containing 50 seeds, moistened with the infusion extracts at a concentration of 1:10 (w/v) and the extract ethanol at a concentration of 1: 100 (w/v). Both trials were conduct in germination chamber, BOD with temperature 30 C/25 C and photoperiod of 10/14 hours. Another test was perform with seeds previously treated with the aqueous extracts extracted by maceration and infusion at the concentration of 1:10 (w/v), and alcoholic extracts at a concentration of 1: 100 and 1:50 (w/v). Later, the seeds were place in germitest moistened paper rolls with distilled water. This trial was conduct in Mangelsdorf germinator with photoperiod of 12 hours and a temperature of 25 C and by analyzing the shoot morphology aspects and root was calculated the percentage of normal and abnormal seedlings. The extract obtained by infusion reduced the %G and GSR, 31% and 51.25% respectively. The aqueous extract by steeping did not interfere with germination characteristics. The alcoholic extracts at the concentrations reduced the %G and the GSR. In effect, test the treatments reduced root length, and the aqueous extract obtained by infusion reduced about 59.4%, while the alcoholic extract at a concentration of 1: 100 (w/v) reduced about 44%. In seed treatment there was no difference between the percentage of abnormal seedlings. The extract obtained by infusion was effective in obtaining bioactive compounds that interfere with germination and root growth of picão seedlings. The alcoholic extracts affected % G and root growth possibly by terpenes accumulation detected in it. The *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. presents allelopathic potential.

Key-words: Allelopathy. Weed. Interference.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - RESULTADOS DA ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE CANJARANA EXTRAÍDO COM ETANOL (99,5%).....	19
TABELA 2 - VALORES MÉDIOS DA PORCENTAGEM FINAL DE GERMINAÇÃO (%G) DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DE EXTRATO AQUOSO OBTIDOS POR MACERAÇÃO E INFUSÃO DE FOLHAS DE CANJARANA.....	20
TABELA 3 - VALORES MÉDIOS DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR MACERAÇÃO E INFUSÃO DAS FOLHAS DE CANJARANA.....	20
TABELA 4 - VALORES MÉDIOS DA PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DO EXTRATO ALCOÓLICO EM CONCENTRAÇÃO DE 1:50 (p/v) E 1:100 (p/v) DAS FOLHAS DE CANJARANA.....	22
TABELA 5 - VALORES MÉDIOS DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DO EXTRATO ALCOÓLICO EM CONCENTRAÇÃO DE 1:50 (p/v) E 1:100 (p/v) DAS FOLHAS DE CANJARANA.....	22
TABELA 6 – VALORES MÉDIOS DO COMPRIMENTO RADICULAR DAS PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO GERMINADAS NA PRESENÇA DE EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR INFUSÃO E EXTRATO ALCOÓLICO (1:100 p/v) DE FOLHAS DE CANJARANA.....	24
TABELA 7 - VALORES MÉDIOS DO COMPRIMENTO DA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS DE PICÃO NA PRESENÇA DE EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR INFUSÃO E EXTRATO ALCOÓLICO (1:100 p/v) DE FOLHAS DE CANJARANA.....	25

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FOTO 1 - FOTO DAS PLACAS: (A) FLAVONÓIDES REVELADA EM NP-PEG; (B) TERPENOS REVELADA EM ANISALDEÍDO SULFÚRICO; (C) SAPONINAS REVELADA EM ANISALDEÍDO SULFÚRICO.....	18
GRÁFICO 1 - VALORES DA MÉDIA DO NÚMERO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO GERMINADAS POR DIA NA PRESENÇA DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR MACERAÇÃO E INFUSÃO DAS FOLHAS DE CANJARANA.....	21
GRÁFICO 2 - VALORES MÉDIOS DO NÚMERO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO GERMINADAS POR DIA NA PRESENÇA DO EXTRATO ALCOÓLICO EM CONCENTRAÇÃO DE 1:50 (P/V) E 1:100 (P/V) DAS FOLHAS DE CANJARANA...	23
FOTO 2 - FOTO DE PLÂNTULA DE PICÃO-PRETO CLASSIFICADA COMO NORMAL.....	26
FOTO 3 - FOTOS DE ANORMALIDADES EM PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO: FALTA DE PIGMENTAÇÃO (A), RAIZ PRIMARIA DISTORCIDA (B), NECROSE DA RAIZ PRIMARIA (C) E DISTORÇÃO DA PARTE AÉREA E DA RAIZ PRIMÁRIA (D).....	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 CONDIÇÃO EXPERIMENTAL	14
3.2 MATERIAL VEGETAL E PREPARO DOS EXTRATOS VEGETAIS	14
3.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE CANJARANA	15
3.4 GERMINAÇÃO DE PICÃO-PRETO FRENTE AOS EXTRATOS.....	15
3.5 CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO SOB OS EXTRATOS ALCOÓLICOS (1:100 P/V) E AQUOSO EXTRAÍDO POR INFUSÃO	16
3.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
4.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE CANJARANA	18
4.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO FRENTE AOS EXTRATOS.....	19
4.3 CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO SOB OS EXTRATOS ALCOÓLICOS (1:100 P/V) E AQUOSO EXTRAÍDO POR INFUSÃO	24
4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO.....	25
5 CONCLUSÕES	28
6 REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA

Dentre os fatores que podem trazer prejuízos ao agroecossistema ressalta-se a presença de plantas daninhas, cujo manejo tem extrema importância, uma vez que estas podem afetar a produtividade e a qualidade do produto a ser cultivado (VASCONCELOS *et al.*, 2012). Plantas conceituadas como daninhas, segundo Pitteli (1987), são aquelas com características pioneiras que ocupam locais onde a cobertura do solo foi extinta e o mesmo se tornou exposto ou parcialmente exposto. Christoffoleti *et al.* (1994) relatam que as plantas daninhas surgiram de um processo de adaptação às perturbações ambientais as quais em muitas vezes foram provocadas pelo homem através da agricultura. Outras características referentes às plantas daninhas estão relacionadas a capacidade de disseminação a curta e a longa distância e rápido crescimento vegetativo (PITELLI, 1987).

Como exemplo de planta daninha cita-se o picão-preto (*Bidens pilosa* L.), que é uma planta que apresenta grande diversidade genética, com desenvolvimento de sub-populações resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS. Fato que explica sua grande densidade populacional em culturas agrícolas no Brasil (GAZZIERO *et al.*, 2006).

Para o controle destas plantas na lavoura vêm se buscando novas alternativas, uma vez que a aplicação repetitiva de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação na dose recomendada vem causando uma pressão de seleção e assim favorecendo o aparecimento de biótipos resistentes (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2008). Atualmente há aproximadamente 300 biótipos de plantas daninhas que apresentam resistência a um ou mais mecanismos de ação de herbicidas, o que ressalta a importância deste fator principalmente em razão do limitado número de herbicidas alternativos para serem usados no controle dos biótipos resistentes (EMBRAPA, 2006). A busca por alternativas no manejo de plantas daninhas envolve pesquisas que abordam o estudo da alelopatia, fenômeno que investiga a influência exercida pelas plantas sobre outras plantas vizinhas ou próximas por meio da liberação no ambiente de compostos químicos denominados de aleloquímicos. Essas moléculas são provenientes do metabolismo secundário vegetal e tem efeito inibitório ou estimulante sobre o crescimento de outras plantas e microrganismos (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Os aleloquímicos podem apresentar mecanismos de ação direta ou indireta sobre a planta alvo, porém os efeitos diretos são os mais estudados, uma vez que envolvem alterações no crescimento e no metabolismo vegetal (ANESE *et al.*, 2016). Segundo Vidal (2010) apud Anese *et al.* (2016) muitos métodos utilizados na identificação de substâncias alelopáticas são desenvolvidos em laboratórios baseados na obtenção de extratos de plantas, em que podem ser empregados solventes orgânicos, como o etanol, metanol ou acetato de etila e a água. Trabalhos como o de Alves *et al.* (2004), evidenciam potencialidade alelopática de extratos e óleos essenciais de canela, alecrim-pimenta, capim-citronela e alfavaca-cravo na germinação e no comprimento das raízes de plântulas de alface.

Plantas com propriedades medicinais, aromáticas e ou condimentares, são consideradas plantas bioativas, capazes de produzir compostos ou substâncias que interferem ou alteram o funcionamento orgânico dos seres vivos (EMATER, 2016). Lima *et al.* (2011), citam em estudo que muitas plantas medicinais demonstram atividade alelopática, pois os mesmos constituintes químicos responsáveis pelas atividades medicinais são ativos influenciando outras plantas.

O gênero *Cabralea* é constituído por árvores geralmente de porte alto, dentre as quais a espécie *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. é nativa do Brasil e ocorre naturalmente em grande parte do país, incluindo o Paraná (SOARES *et al.*, 2004). A canjarana é uma planta que tem várias utilizações, desde seu cultivo para a produção de madeira como o seu uso como planta medicinal pela medicina popular. Como planta medicinal ela é empregada como reconstituente anêmico, e suas folhas apresentam propriedades febrífugas (CARVALHO, 2002). Pouco é difundido sobre a ação alelopática desta espécie, mostrando a possibilidade de seus extratos serem testados a fim de identificar possível alelopatia sobre plantas daninhas, tendo este trabalho o intuito de avaliar a interferência dos extratos das folhas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. sobre a germinação e o vigor das plântulas de picão-preto (*Bidens pilosa*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a potencialidade alelopática do extrato das folhas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. sob *Bidens pilosa* L.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a interferência dos extratos aquoso e alcoólico das folhas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. sob a porcentagem e índice de velocidade de germinação das sementes de *Bidens pilosa* L.;
- Verificar a interferência dos diferentes extratos no crescimento inicial das plântulas de *Bidens pilosa* L.;
- Comparar os efeitos dos extratos aquoso e alcoólico;
- Verificar a interferência dos diferentes extratos aplicados no tratamento de sementes sob a morfologia das plântulas de *Bidens pilosa* L.;
- Determinar a ocorrência de possível atividade alelopática.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONDIÇÃO EXPERIMENTAL

Os ensaios foram conduzidos no laboratório de Fisiologia e Nutrição de Plantas e no laboratório de Sementes da UFPR – Setor Palotina. Os extratos foram preparados no laboratório de Micologia Aplicada e Plantas Medicinais da UFPR – Setor Palotina. As sementes de picão-preto utilizadas foram provenientes de um mesmo lote, adquiridas comercialmente.

Antes da montagem de cada avaliação experimental as sementes de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) foram lavadas com hipoclorito de sódio a 2,5% por dois minutos, e enxaguadas em água destilada. Também foram selecionadas de modo a se obter um padrão de cor, formato e tamanho e eliminar aquelas deterioradas.

3.2 MATERIAL VEGETAL E PREPARO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Nos ensaios realizados foram avaliados extratos aquosos e alcoólicos obtidos a partir das folhas de canjarana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart) colhidas de uma mesma árvore localizada na UFPR Setor Palotina. As folhas foram coletadas nas horas mais frescas do dia (início da manhã). Depois de coletadas foram selecionados os folíolos de modo a atender um padrão, eliminando aqueles danificados, doentes, senescentes e jovens. Os folíolos foram então lavados em água corrente e posteriormente secos em estufa com ar forçado a 45°C até ficarem completamente secos e quebradiços. E com o auxílio do liquidificador os folíolos foram triturados e depois armazenados.

O extrato aquoso foi obtido pelos métodos de infusão e maceração das folhas na concentração de 1:10 (p/v). Para o preparo do extrato por infusão, ao material vegetal seco após pesado foram adicionados água destilada fervente e realizado o processo de infusão (chá por abafamento) por 5 minutos. O extrato por maceração foi preparado com material seco sobre o qual foi adicionado água destilada a temperatura ambiente e deixado em contato por um período de 24 horas em frasco âmbar.

O extrato alcoólico foi obtido por extração pelo sistema de Soxhlet com álcool etílico (99,5%). O solvente foi evaporado com rotaevaporador até ser eliminado

totalmente e permanecer no balão uma quantidade concentrada e com aspecto sólido do extrato. O extrato obtido foi pesado e diluído com água destilada na proporção de 1:100 (p/v) e na proporção de 1:50 (p/v). Para sua melhor diluição utilizou-se 30 gotas de dimetilsulfóxido.

3.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE CANJARANA

A análise fitoquímica do extrato da canjarana foi realizada na Universidade Federal Fluminense (UFF) do Rio de Janeiro, por meio de ensaios colorimétricos e/ou precipitação, os quais tiveram caráter qualitativo para a identificação dos compostos presentes no extrato. Foi empregada a cromatografia em coluna aberta, sendo a placa de terpenos e de saponinas revelada em Anisaldeído Sulfúrico. A placa de flavonoides aglicosilados foi revelada em NP-PEG com os padrões quercetina e kaempferol.

3.4 GERMINAÇÃO DE PICÃO-PRETO FRENTE AOS EXTRATOS

Foram realizados dois bioensaios, sendo no primeiro utilizados os extratos aquosos obtidos por infusão e por maceração, ambos na concentração de 1:10 (p/v), sendo utilizada água destilada como controle. E, no segundo teste utilizou-se extrato alcoólico na concentração de 1:100 (p/v) e na concentração de 1:50 (p/v) e como controle foi utilizado água destilada com acréscimo de 30 gotas de dimetilsulfóxido.

Como unidade experimental nos bioensaios de germinação foram utilizadas caixas transparentes do tipo gerbox, forradas com duas folhas de papel germitest e umedecidas com um volume em 2 a 3 vezes o peso do substrato. Em cada caixa gerbox foram dispostas cinquenta sementes de picão-preto. Cada tratamento e o controle foram repetidos cinco vezes.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Os bioensaios foram conduzidos em câmaras de germinação do tipo B.O.D. com temperatura 30 °C/ 25 °C e com fotoperíodo de 10/14 horas. Foram contabilizadas o número de sementes germinadas diariamente considerando germinadas aquelas

sementes que apresentassem radícula com comprimento maior ou igual a 2mm. Com os dados de germinação obteve-se as variáveis porcentagem final de germinação (%G), e índice de velocidade de germinação (IVG) (FERREIRA e BORGHETTI, 2004). Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância utilizando o software gratuito SISVAR (Versão 5.6) disponibilizado pela Universidade Federal de Lavras.

3.5 CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO SOB OS EXTRATOS ALCOÓLICOS (1:100 P/V) E AQUOSO OBTIDO POR INFUSÃO

No bioensaio utilizou-se extrato aquoso por infusão (1:10 p/v) e extrato etanólico na concentração (1:100 p/v). Como controle foi utilizado água destilada acrescido de 30 gotas de dimetilsulfóxido.

Rolos de folhas de papel germitest foram utilizados como unidade experimental, cada um contendo cinquenta sementes de picão-preto e embebidos com os diferentes tratamentos com um volume em quantidade de 2 a 3 vezes o peso do substrato. Cada tratamento e o controle tiveram cinco repetições.

Os rolos foram mantidos em câmaras de germinação do tipo B.O.D. com temperatura 30 °C/ 25 °C e com fotoperíodo de 10/14 horas. A primeira contagem de plântulas foi realizada quatro dias, e a segunda no sétimo dia após a montagem do experimento. Com o auxílio de uma régua milimetrada foram medidos o comprimento da raiz principal e a parte aérea das plântulas formadas. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância utilizando o software gratuito SISVAR (Versão 5.6) disponibilizado pela Universidade Federal de Lavras.

3.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO

Na condução desse ensaio foram testados os extratos aquosos, por maceração e infusão, e os extratos alcoólicos em suas concentrações 1:100 (p/v) e 1:50 (p/v), aplicados no tratamento de sementes de picão-preto.

Primeiramente foi realizado o tratamento das sementes com os respectivos extratos, onde estas foram imersas e misturadas visando uma cobertura uniforme. As sementes permaneceram imersas nos extratos por uma hora. Depois elas foram secas e distribuídas nos rolos na quantidade de 50 sementes por rolo, sendo que cada tratamento teve cinco repetições. Os rolos de papel germitest foram umedecidos com água destilada em volume equivalente de 2 a 3 vezes o peso do substrato.

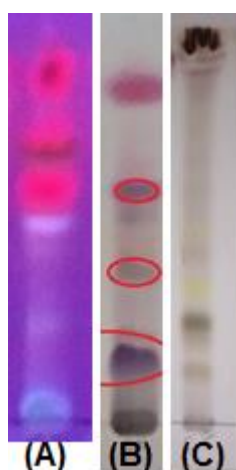
O ensaio foi conduzido em germinador mangeldosf com temperatura constante de 25°C e com fotoperíodo de 12/12 horas. A primeira contagem de plântulas foi feita quatro dias, e a segunda no sétimo dia após a montagem do experimento. As plântulas contabilizadas foram classificadas em normais e anormais através de análise visual.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE CANJARANA

Foram realizadas análises de flavonoides (Foto 1A), terpenos (Foto 1B) e de saponinas (Foto 1C), e as imagens das placas reveladas foram enviadas para a análise qualitativa dos grupos de compostos químicos presentes no extrato alcoólico das folhas de canjarana.

FOTO 1 – FOTO DAS PLACAS: (A) DE FLAVONÓIDES REVELADA COM NP-PEG; (B) DE TERPENOS REVELADA COM ANISALDEÍDO SULFÚRICO; (C) DE SAPONINAS REVELADA COM ANISALDEÍDO SULFÚRICO.



Fonte: ALBUQUERQUE (2016)

A partir dessas análises e da interpretação qualitativa dos resultados, observou-se apenas a presença de terpenos no extrato das folhas da canjarana extraído com etanol (99,5%).

TABELA 1 – RESULTADOS DA ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE CANJARANA EXTRAÍDO COM ETANOL (99,5%)

CLASSE DE COMPOSTOS	
Saponinas	-
Flavonoides	-
Terpenos	+

*Presença (+), Ausência (-)

Os terpenos são compostos com potencial aleloquímico, sendo alguns terpenóides por exemplo, capazes de lesionar tecidos de plantas (FERREIRA e BORGHETTI, 2004). A canjarana pertence à família Meliaceae, e Segundo Lovatto *et al.* (2012) são encontrados triterpenóides nas espécies pertencentes a essa família. Também são encontrados na literatura descrições sobre propriedades antifúngicas de extratos de folhas de *Cabralea canjerana* (LOPES *et al.*, 2008) assim como atividade inibitória bacteriana (LEITAO *et al.*, 2008).

Sobre o efeito alelopático da canjarana não foi encontrado registro na literatura, porém através do conhecimento da composição química e a então presença de terpenos pode-se inferir em possível ação alelopática. A atividade alelopática por terpenos já foi identificada em estudo por Shankar *et al.* (2009), em que o composto foi extraído de *Gmelina arborea* e interferiu negativamente no vigor e germinação das sementes de *Vigna mungo* e *Vigna radiata*.

4.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO FRENTE AOS EXTRATOS

As tabelas 2 e 3 apresentam os dados comparando formas de obtenção do extrato aquoso das folhas de canjarana sobre características de germinação de sementes da planta daninha. O extrato obtido por infusão afetou a germinação das sementes de picão-preto reduzindo em 31% em comparação com o controle. Por outro lado, o extrato obtido por maceração não afetou a germinação das sementes (Tabela 2). Em relação a variável velocidade de germinação, o extrato extraído por infusão também exerceu influência negativa, reduzindo cerca de 51,25% em comparação com o controle (Tabela 3).

TABELA 2 - VALORES MÉDIOS DA PORCENTAGEM FINAL DE GERMINAÇÃO (%G) DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DE EXTRATO AQUOSO OBTIDOS POR MACERAÇÃO E INFUSÃO DE FOLHAS DE CANJARANA

TRATAMENTOS	%G
Controle	56,4 a
Maceração	52,8 a
Infusão	38,4 b
CV (%)	20,01

Letras diferentes na coluna representam tratamentos diferentes pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

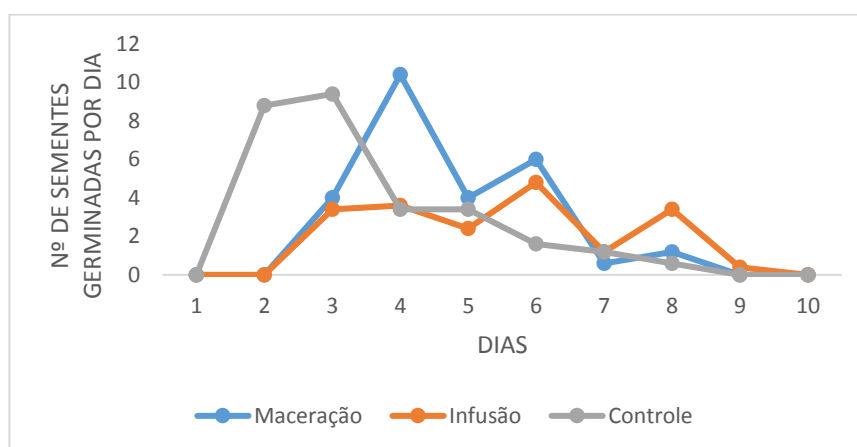
TABELA 3 - VALORES MÉDIOS DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR MACERAÇÃO E INFUSÃO DAS FOLHAS DE CANJARANA

TRATAMENTOS	IVG
Controle	7,20 a
Maceração	6,35 a
Infusão	3,51 b
CV (%)	22,46

Letras diferentes na coluna representam tratamentos diferentes pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

O gráfico 1 apresenta uma comparação entre o número de sementes germinadas durante o período de avaliação de cada tratamento. Sendo possível observar diferença quanto o período em que as sementes germinaram. No controle, as sementes germinaram em maior número entre o 2º e 4º dia, e nos tratamentos houve um atraso no início da germinação.

GRÁFICO 1 – VALORES DA MÉDIA DO NÚMERO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO GERMINADAS POR DIA NA PRESENÇA DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR MACERAÇÃO E INFUSÃO DAS FOLHAS DE CANJARANA



FONTE: ACCO (2015)

A produção de aleloquímicos varia de planta para planta, e entre uma mesma planta pode variar de acordo com a sua idade (EMBRAPA, 2010). Além disso, a composição química dos extratos pode variar de acordo com o método extrativo utilizado e suas respectivas condições, alterando assim as características químicas das plantas (ROCHA, 2013). Com relação aos métodos de extração para a obtenção dos extratos aquosos utilizados, infusão e maceração, a principal diferença entre eles é a temperatura durante a extração. A solubilidade é uma propriedade muito dependente da temperatura quando avaliada dentro de um sistema soluto/solvente (MARTINS *et al.*, 2013). Sendo assim, a maior atividade inibitória apresentada pelo extrato obtido por infusão pode ser explicada pela maior solubilidade do sistema, o que permitiu uma maior extração de compostos em um menor espaço de tempo.

No ensaio com o uso de extrato alcoólico nas concentrações de 1:50 (p/v) e de 1:100 (p/v) observou-se que independente da concentração, houve efeito dos extratos reduzindo a %G (Tabela 4) e o IVG (Tabela 5).

TABELA 4 - VALORES MÉDIOS DA PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DO EXTRATO ALCOÓLICO EM CONCENTRAÇÃO DE 1:50 (p/v) E 1:100 (p/v) DAS FOLHAS DE CANJARANA

TRATAMENTOS	%G
Controle	59,2 a
E. Alcoólico 1:50	32,6 b
E. Alcoólico 1:100	39,6 b
CV (%)	16,21

Letras diferentes na coluna representam tratamentos diferentes pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

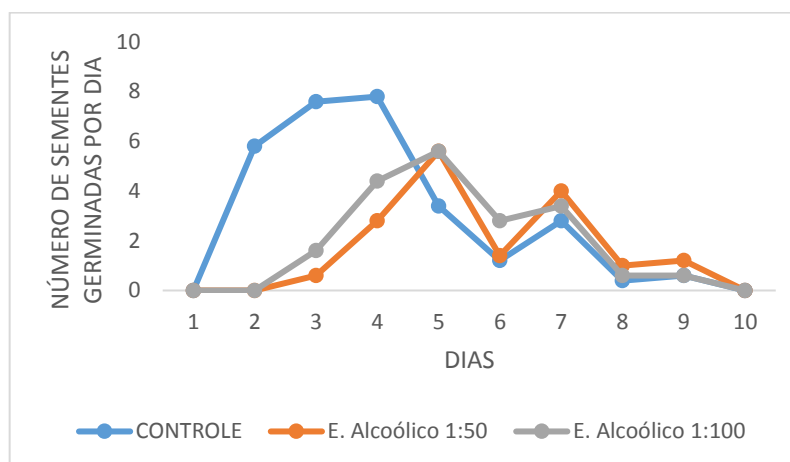
TABELA 5 – VALORES MÉDIOS DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO NA PRESENÇA DO EXTRATO ALCOÓLICO EM CONCENTRAÇÃO DE 1:50 (p/v) E 1:100 (p/v) DAS FOLHAS DE CANJARANA

TRATAMENTOS	IVG
Controle	8,77 a
E. Alcoólico 1:50	3,30 b
E. Alcoólico 1:100	3,97 b
CV (%)	16,61

Letras diferentes na coluna representam tratamentos diferentes pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

O gráfico 2 apresenta uma comparação entre o número de sementes germinadas durante o período de avaliação de cada tratamento. Sendo possível observar diferença quanto o período em que as sementes germinaram. Assim como observado no gráfico 1 no controle as sementes germinaram em maior número entre o 2º e o 4º dia, e já nos tratamentos elas germinaram em maior número a partir do 4º e do 5º dia, indicando atraso no início da germinação.

GRÁFICO 2 – VALORES MÉDIOS DO NÚMERO DE SEMENTES DE PICÃO-PRETO GERMINADAS POR DIA NA PRESENÇA DO EXTRATO ALCOÓLICO EM CONCENTRAÇÃO DE 1:50 (P/V) E 1:100 (P/V) DAS FOLHAS DE CANJARANA



FONTE: ACCO (2015)

Para o preparo dos extratos utilizados, tanto aquoso como o alcoólico, a escolha do solvente foi realizada visando uma extração dentro de métodos tradicionais, os quais fazem uso de solventes orgânicos (etanol, éter e metanol). A escolha do etanol como solvente na confecção do extrato alcoólico se deu devido a sua baixa toxicidade, e como segundo Andreo e Jorge (2006) o etanol e a água são os solventes mais empregados para a extração de compostos bioativos em plantas por razões de abundância. Além disso, por ser um solvente polar ele extrai todas as substâncias presentes no extrato, desde apolares, de média polaridade e polares. O fato da extração de um grande número de compostos é relevante uma vez que a composição química do extrato era desconhecida, não permitindo a extração de compostos específicos.

Tanto o extrato aquoso obtido por infusão quanto os extratos alcoólicos reduziram a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação de maneira significativa em relação ao controle. Segundo Ranal e Santana (2006) pode-se inferir que a velocidade de germinação é livre da influência do número de sementes germinadas. Resultados mostrando diferentes influências sobre as variáveis foram encontrados por Tatibana *et al.* (2009), que em estudo sobre a ação de extratos alcoólicos de *Chomelia obtusa* na germinação e crescimento de plântulas de alface, constataram que não houve interferência significativa na germinação, porém os extratos interferiram negativamente no índice de velocidade de germinação das sementes.

Azambuja *et al.* (2010) citam que uma das formas pelas quais os efeitos alelopáticos dos compostos químicos são pesquisados é através do uso de extratos alcoólicos ou aquosos obtidos de partes das plantas. Pode-se relacionar os efeitos inibitórios apresentados nos ensaios de germinação com a presença de terpenos no extrato alcoólico e aquoso (infusão), sendo que segundo Castro *et al.* (1983), entre os exemplos de compostos do metabolismo secundário das plantas com potencial alelopático estão os terpenóides.

4.3 CRESCIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO SOB OS EXTRATOS ALCOÓLICOS (1:100 P/V) E AQUOSO EXTRAÍDO POR INFUSÃO

As tabelas 6 e 7 apresentam os resultados obtidos do bioensaio de crescimento das plântulas de picão-preto comparando extrato aquoso por infusão e com o extrato alcoólico na concentração de 1:100 (p/v). Ambos os tratamentos reduziram as médias de comprimento radicular das plântulas quando comparados ao controle, sendo que o extrato aquoso obtido por infusão reduziu cerca de 59,4%, enquanto o extrato alcoólico na concentração de 1:100 (p/v) reduziu cerca de 44%. Em relação ao comprimento da parte aérea não houve diferença entre os tratamentos e o controle.

TABELA 6 – VALORES MÉDIOS DO COMPRIMENTO RADICULAR DAS PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO GERMINADAS NA PRESENÇA DE EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR INFUSÃO E EXTRATO ALCOÓLICO (1:100 p/v) DE FOLHAS DE CANJARANA

TRATAMENTOS	COMPRIMENTO RADICULAR
Controle	2,86 a
Infusão	1,16 b
E. Alcoólico 1:100	1,58 b
CV (%)	19,23

Letras diferentes na coluna representam tratamentos diferentes pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

TABELA 7 - VALORES MÉDIOS DO COMPRIMENTO DA PARTE AÉREA DAS PLÂNTULAS DE PICÃO NA PRESENÇA DE EXTRATO AQUOSO OBTIDO POR INFUSÃO E EXTRATO ALCOÓLICO (1:100 p/v) DE FOLHAS DE CANJARANA

TRATAMENTOS	PARTE AÉREA
Controle	1,88 a
Infusão	1,77 a
E. Alcoólico 1:100	1,52 a
CV (%)	17,28

Letras diferentes na coluna representam tratamentos diferentes pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

A influência de extratos vegetais no sistema radicular de plântulas, também foi observado por Hoffman *et al.* (2007) os quais atribuem esses resultados a maior sensibilidade do sistema radicular das plantas a ação de aleloquímicos. Dentre os mecanismos de ação dos aleloquímicos que justifica a redução no comprimento radicular e da parte aérea está a regulação do crescimento que pode ocorrer através da redução da divisão e alongamento celular, da interferência na síntese orgânica, por interações com hormônios ou por efeitos na atividade enzimática (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A interferência alelopática negativa sobre o crescimento do sistema radicular também foi evidenciada por Borella e Pastorini (2009), Heidarzade *et al.* (2010), Prichoa *et al.* (2013), Machado e Pastorini (2014). O sistema radicular das plântulas quando afetado compromete o seu desenvolvimento normal, sendo considerado um dano efetivo para o controle das mesmas.

4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA DE PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO

Não houve diferença entre os tratamentos e o controle em relação a porcentagem de plântulas normais e anormais. No total obteve-se uma média de 44,7% de plântulas anormais. A anormalidade em plantas daninhas pode ser considerada de ocorrência natural uma vez que são plantas que apresentam características relacionadas a rusticidade e seus lotes de sementes não passam por processos de beneficiamento como o lote de sementes de culturas de interesse econômico.

A anormalidade em plântulas de picão-preto foi estabelecida através do conceito definido pela RAS (Regras para Análises de Sementes), o qual estabeleceu que plântulas anormais são aquelas que não mostram potencial para continuar o seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, mesmo crescendo em condições favoráveis (BRASIL, 2009).

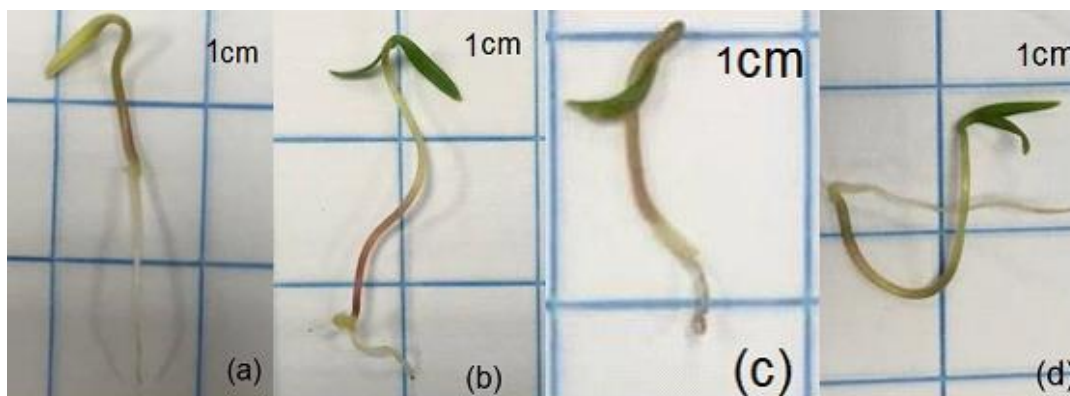
A partir dos ensaios realizados com as sementes de picão-preto, estabeleceu-se um padrão de normalidade (Foto 2) e a partir deste classificou as demais plântulas em normais e anormais. As anormalidades observadas como falta de pigmentação da parte aérea (Foto 3a), raízes primárias distorcidas (Foto 3b), raízes necrosadas (Foto 3c) e distorção da parte aérea (Foto 3d).

FOTO 2 – FOTO DE PLÂNTULA DE PICÃO-PRETO CLASSIFICADA COMO NORMAL



FONTE: ACCO (2016)

FOTO 3 – FOTOS DE ANORMALIDADES EM PLÂNTULAS DE PICÃO-PRETO: FALTA DE PIGMENTAÇÃO (A), RAIZ PRIMÁRIA DISTORCIDA (B), NECROSE DA RAIZ PRIMÁRIA (C) E DISTORÇÃO DA PARTE AÉREA E DA RAIZ PRIMÁRIA (D).



FONTE: ACCO (2016)

As anormalidades não tiveram relação com a atividade alelopática no tratamento de sementes, embora na literatura haja relatos nesse sentido (FERREIRA e AQUILA, 2000; GATTI *et al.*, 2004).

5 CONCLUSÕES

A extração obtida por infusão foi eficiente na obtenção de compostos bioativos que interferiram na germinação e crescimento radicular das plântulas de picão.

Os extratos alcoólicos afetaram a porcentagem de germinação e o crescimento radicular possivelmente pelo acúmulo de terpenos detectados no mesmo. Nenhum extrato afetou a morfologia das plântulas de picão-preto. As folhas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. apresentam potencial alelopático.

Há a necessidade de mais estudos sobre as características alelopáticas da canjarana, tanto para a melhoria dos aspectos metodológicos quanto para a maior identificação de compostos químicos com atividade alelopática.

6 REFERÊNCIAS

ALVES, M. C. S. *et al.* Alelopátia de extratos voláteis a germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, 2004.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

ANESE, S.; GRISI, P. U.; IMATOMI, M.; PEREIRA, V. C.; GUALTIERI, S. C. J.. Fitotoxicidade de extratos etanólicos de frutos e folhas de *Banisteriopsis oxyclada* (A. Juss.) B. Gates sobre o crescimento de plantas daninhas. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 29, n.1, p. 1-10, 2016.

AZAMBUJA, N.; HOFFMANN, C. E. F.; NEVES, L. A. S.; GOULART, P. L.; Potencial alelopático de *Plectranthus barbatus* Andrews na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. e de *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 9, p. 66-73, 2010.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas**, Frederico Westphalen, v. 22, n. 3, p. 67-75. RS, 2009.

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Circular Técnica, 67**: Canjarana. Colombo: Embrapa, 2002. 17 p.

CASTRO, P. R. C.; RODRIGUES, J. D.; MORAES, M. A.; CARVALHO, V. L. M. Efeitos alelopáticos de alguns extratos vegetais na germinação do tomateiro. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 1, n. 2, p. 79-85. 1983

CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C. B.. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, Piracicaba, v. 12, n. 1, p. 13-20, 1994.

CHRISTOFFOLETI, P. J. *et al.* **Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas**. 3. ed., 120 O. São Paulo: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas, 2008.

EMBRAPA; VARGAS, L.; ROMAN, E. S. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução. **EMBRAPA TRIGO**, Agosto -2006. Disponível em http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do58.pdf> Acesso em 01 de junho de 2016.

EMBRAPA. **Padrão de produção de compostos químicos com atividade alelopática em duas Brachiaria**. 2010. Disponível em <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/44621/1/AnaPaulaQuirino.pdf> Acesso em 04 de abril de 2016.

EMATER. **Plantas bioativas**. Área Técnica, 2016. Disponível em < <http://www.emater.tche.br/site/area-tecnica/agricultura-base-ecologica/plantas-bioativas.php#.V3JaYfkrLDc> > Acesso em 06 de junho de 2016.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, ed. Especial 12, p.175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Editora Artmed, 2004. 323 p.

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

GAZZIERO, D. L. P. *et al.* **Manual de Identificação de Plantas Daninhas da Cultura da Soja**. Londrina: Embrapa, 2006. 114 p.

HEIDARZADE, A.; PIRDASHTI, H.; ESMAEILI, M. Quantification of allelopathic substances and inhibitory potencial in root exudates of rice (*Oryza sativa*) varieties on Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* L.). **Plant Omics Journal**, Sari – Iran, v. 3, n. 6, p. 204-209. 2010.

HOFFMAN, C. E. F.; NEVES, L. A. S.; BASTOS, C. F.; WALLAU, G. L. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta schott* em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.1, p. 11-21, 2007.

LIMA, C. P.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Efeito dos extratos de duas plantas medicinais do gênero *Bidens* sobre o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 83-87. 2011.

LEITAO, G. G. *et al.* Preparative Isolation of Antimycobacterial Shoreic Acid from *Cabralea canjerana* by High Speed Countercurrent Chromatography. **Natural Product Communications**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 8, p. 1995-1997. 2008.

LOPES, E. M. C. *et al.* Screening for antigungal, DNA-damaging and anticholinesterasic activities of Brazilian plants from the Atlantic Rainforest – Iha do Cardoso State Park. **Rev. Bras. Farmacogn**, João Pessoa, v. 18, p. 655-660, 2008.

LOVATTO, P. B.; MARTINEZ, E. A.; MAUCH, C. E.; SCHIEDECK, G. A utilização da espécie *Melia azedarach* L. (Meliaceae) como alternativa à produção de insumos ecológicos na região sul do Brasil. **Rev. Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 2, p. 137-149. 2012.

MACHADO, G. G.; PASTORINI, L. H. Potencial Fitotóxico de *Cordia trichotoma* (VELL.) ARRAB. EX STEUD (BORAGINACEAE). **Enciclopedia Biosfera**, Maringá, v. 10, n. 19, p. 2390, 2014.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE J. B. Solubilidade das substancias orgânicas. **Quim. Nova**, Salvador, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H.. **Biologia e Manejo de plantas daninhas**. 22. ed. Curitiba: Omnipax, 2011. 348 p.

PITELLI, R. A.. Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 4, n. 12, p. 1-24, 1987.

PRICHOA, F. C.; LEYSER, G.; OLIVEIRA, J. V.; CANSIAN, R. L. Efeito alelopático comparativo de extratos aquosos de *Cryptocarya moschata* com *Ocotea odorifera* sobre *Lactuca sativa*. **Acta Sci.**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 197-202, 2013.

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process. **Revista Brasil. Bot.**, v. 29, n. 1, p. 1-11. 2006.

Regras para análise de sementes – RAS. Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – Brasília: Mapa, ACS, 2009. 1ª ed.

ROCHA, B. C. A. **Extração e caracterização do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)**. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013.

SHANKAR, S. R. M. *et al.* Allelopathic effects of phenolics and terpenoids extracted from *Gmelina arborea* on germination of Black gram (*Vigna mungo*) and Green gram (*Vigna radiata*). **Allelopathy Journal**, India, v. 23, n. 2, p. 323-332, 2009.

SOARES, Márcio Santos *et al.* Triterpeno e Limonóides isolados dos frutos de *Cabralea canjerana*. In: REUNIÃO ANUAL SOBRE EVOLUÇÃO, SISTEMÁTICA E ECOLOGIA MICROMOLECULARES, 26., 2004, Niterói. **Resumo extendido**. Niterói: Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 2004. p. 01 – 02.

TABATIANA, L. T.; SERT, M. A.; SARRAGIOTTO, M. H.; SANTIN, S. M. O. **Avaliação da ação de extratos alcoólicos de *Chomelia obtusa* na germinação e crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.)**. Trabalho publicado no IV Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, Maringá, 2009.

VASCONCELOS, M. C. C.; SILVA, A. F. A.; LIMA, R. S. Interferência de Plantas Daninhas sobre Plantas Cultivadas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p.01-06, 2012.