

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO
PARANÁ
CÂMPUS PATO BRANCO
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

GABRIELLI MONZANI DE LIMA

**ESTUDO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ÁCIDO SALICÍLICO
SOBRE AS PLANTAS ALVOS: LEITEIRA (*Euphorbia heterophylla*) E
PICÃO PRETO (*Bidens pilosa*)**

Pato Branco – PR
2019

GABRIELLI MONZANI DE LIMA

**ESTUDO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO ÁCIDO SALICÍLICO
SOBRE AS PLANTAS ALVOS: LEITEIRA (*Euphorbia heterophylla*) E
PICÃO PRETO (*Bidens pilosa*)**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sirlei Dias Teixeira

Pato Branco – PR
2019

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado Estudo do potencial alelopático do ácido salicílico sobre as plantas alvos: leiteira (*Euphorbia heterophylla*) e picão preto (*Bidens pilosa*) foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N°4.2.2019-B de 2019.

Fizeram parte da banca os professores.

Sirlei Dias Teixeira

Michelangelo Muzell Trezzi

Mário Antônio Alves da Cunha

Dedico à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por estar ao meu lado principalmente nos momentos mais difíceis.

A minha família, minha mãe Simone, meu pai José Donizetti e meu irmão Gustavo por sempre estarem ao meu lado, sobretudo me apoiando e incentivando nos momentos de desespero. A minha mãe principalmente pelos finais de semanas dispostos. Além de auxiliarem nesta caminhada ofereceram todo o suporte para que esta etapa final seja conquistada. Minha eterna gratidão por esses momentos.

Aos meus amigos que me acompanharam nesta caminhada. Principalmente a Tamires e Marzy, que estão nesta caminhada desde o início, dia a dia, compartilhando as alegrias e frustrações no decorrer da graduação.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Sirlei Dias Teixeira, por toda dedicação e ensinamentos oferecidos neste período. Obrigada pela paciência e pelos momentos de suporte para me acalmar nos momentos na qual as coisas estavam difíceis me incentivando a seguir em frente.

Ao Departamento de Agronomia da UTFPR-PB, em especial ao Prof. Dr. Michelangelo Muzell Trezzi pelo suporte do andamento deste trabalho. E ao Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima pelos conhecimentos oferecidos.

A UTFPR câmpus Pato Branco pela disponibilização dos laboratórios e pelo apoio à execução de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC).

E a todos que de certo modo contribuíram para minha formação.

Muito obrigada!

RESUMO

LIMA, Gabrielli Monzani de. Estudo do potencial alelopático do ácido salicílico sobre as plantas alvos: leiteira (*Euphorbia heterophylla*) e picão preto (*Bidens pilosa*). 2019. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2019.

O ácido salicílico tem como uma de suas características, o potencial alelopático, além de ser um produto sintetizável. Ele pode substituir outras substâncias, que possuem a mesma característica, porém de difícil obtenção. Utilizado como teste preliminar para determinação de faixa de concentração, que influencie significativa e negativamente nas plantas alvos. Para o estudo do potencial alelopático do ácido salicílico foi realizado bioensaio, em incubadora BOD. Foi avaliado o crescimento das plântulas, medindo-se o comprimento da radícula, do hipocótilo e da plântula. As sementes utilizadas como plantas alvos nesse teste, foram a leiteira (*Euphorbia heterophylla*) e o picão-preto (*Bidens pilosa*). Este teste ocorreu por 12 dias, sendo realizada as medidas de 3 em 3 dias para as concentrações de ácido salicílico: 1000, 750, 500, 250, 125 e 62,5 ppm e controle (água destilada). Os dados foram submetidos, inicialmente ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e posteriormente aos testes de ANOVA de dois fatores com repetição, Tukey e normal P-Plot de resíduos. Baseado nos resultados obtidos foi possível observar que diversas concentrações apresentaram diferenças significativas, ou seja, houve diferença nos comprimentos. Houve uma brusca redução no crescimento de ambas as espécies. Os destaques foram para as concentrações de 750 e 1000 ppm para *Euphorbia* e 500, 750 e 1000 ppm para *Bidens*. Porém, entre esses grupos não apresentaram diferença significativa. O comprimento da radícula foi a parte mais afetada negativamente, ocorrendo uma redução para a *E. heterophylla* de 10,2 cm para 0,7 cm e para a *B. pilosa* 4,1 cm para 0,6 cm. A *Euphorbia* foi a que apresentou interferência, com cerca de 93,14% de redução, comparada ao controle. Com esses resultados, é possível determinar uma melhor faixa de concentração e posteriormente aos testes com outras substâncias, formular um produto com característica bioherbicida.

Palavras-chave: Alelopatia; ecologia química; planta daninha

ABSTRACTS

LIMA, Gabrielli Monzani de. Study of Potential Salicylic Acid Allelopathic on Target Plants: “Leiteira” (*Euphorbia heterophylla*) and “Picão Preto” (*Bidens pilosa*). 2019. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2019.

Salicylic acid has as one of its characteristics, the allelopathic potential, besides being a synthesizable product. It can replace other substances that have the same characteristic but are difficult to obtain. Used as a preliminary test for determination of concentration range, which significantly and negatively influences target plants. To study the allelopathic potential of salicylic acid, a bioassay was performed in a BOD incubator. Seedling growth was evaluated by measuring root, hypocotyl, and seedling length. The seeds used as target plants in this test were the “leiteira” (*Euphorbia heterophylla*) and the “picão preto” (*Bidens pilosa*). This test was performed for 12 days, and measurements were taken every 3 days, for concentrations of salicylic acid 1000, 750, 500, 250, 125 and 62.5 ppm and control (distilled water). Data were initially submitted to the Kolmogorov-Smirnov normality test and subsequently to the two-way ANOVA tests with repetition, Tukey and normal P-Plot residue. Based on the results obtained, it was possible to observe that several concentrations presented significant differences, ie there was a difference in the lengths. There was a sharp reduction in the growth of both species. Highlights were for concentrations of 750 and 1000 ppm for *Euphorbia* and 500, 750, and 1000 ppm for *Bidens*. However, between these groups showed no significant difference. Root length was the most negatively affected part, with a reduction for *E. heterophylla* from 10.2 cm to 0.7 cm and for *B. pilosa* 4.1 cm to 0.6 cm. *Euphorbia* was the one that showed interference, with about 93.14% reduction, compared to the control. With these results, it is possible to determine a better concentration range and after testing with other substances, formulate a product with bioherbicidal characteristic.

Keywords: Allelopathy; chemical ecology; weed

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de liberação de substâncias aleloquímicas	15
Figura 2 - Estrutura do ácido salicílico	16
Figura 3 – Estrutura da piplartina	16
Figura 4 - Esquema simplificado das vias de biossíntese e de metabolismo da AS	17
Figura 5 - Plântula de <i>Euphorbia heterophylla</i>	18
Figura 6 - Planta <i>Bidens pilosa</i> (picão preto)	20
Figura 7 - Planta <i>Euphorbia heterophylla</i> (leiteira)	21
Figura 8 – Sementes de i) <i>Euphorbia heterophylla</i> ii) <i>Bidens pilosa</i> em placas de Petri para o início da germinação.	26
Figura 9 – Sementes de i) <i>Euphorbia heterophylla</i> ii) <i>Bidens pilosa</i> em placas de Petri para o início dos testes.	26
Figura 10 – Histogramas de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para as variáveis comprimento da radícula, hipocótilo e plântula da espécie <i>E. heterophylla</i>	30
Figura 11 - Histogramas de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para as variáveis comprimento da radícula, hipocótilo e plântula da espécie <i>B. pilosa</i>	32
Figura 12 – Intervalos de confiança para as médias do comprimento para a espécie <i>E. heterophylla</i>	35
Figura 13 - Intervalos de confiança para as médias do comprimento para a espécie <i>B. pilosa</i>	37
Figura 14 – Intervalo de confiança da média do comprimento da radícula em função das variáveis tempo e concentrações para a <i>E. heterophylla</i>	39
Figura 15 - Intervalo de confiança da média do comprimento da radícula em função das variáveis tempo e concentrações para a <i>B. pilosa</i>	39
Figura 16 – Normal via P-Plot para a espécie <i>E. heterophylla</i>	42
Figura 17 – Normal via P-Plot para a espécie <i>B. pilosa</i>	43
Figura 18 – Anomalias ocorrente na semente de <i>E. heterophylla</i> durante os testes i) plântula morta, ii) necrose total (hipocótilo e radícula) e iii) necrose da radícula	45
Figura 19 - Anomalias ocorrentes nas sementes de <i>B. pilosa</i> durante os testes i) plântula morta, ii) necrose total e iii) necrose da radícula	45
Figura 20 - Variáveis PPN, PPA e PM em comparação a concentração para espécie receptora <i>E. heterophylla</i>	46

Figura 21 – Variáveis PPN, PPA e PM em função da concentração para espécie receptora *B.pilosa*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores dos comprimentos obtidos por meio da medida da radícula e do hipocótilo da espécie receptora <i>E. heterophylla</i>	27
Tabela 2 – Valores dos comprimentos obtidos por meio da medida da radícula e do hipocótilo da espécie receptora <i>B. pilosa</i>	27
Tabela 3 – Determinação dos valores do $F_{\text{crítico}}$	33
Tabela 4 – Valores de F e p para a espécie <i>E. heterophylla</i>	34
Tabela 5 - Valores de F e p para a espécie <i>B. pilosa</i>	34
Tabela 6 – Dados obtidos por meio do teste de Tukey para a espécie <i>E. heterophylla</i>	40
Tabela 7 - Dados obtidos por meio do teste de Tukey para a espécie <i>B. pilosa</i>	41
Tabela 8 – Variáveis PPN, PPA e PM obtidos no 12º dia da espécie receptora <i>E. heterophylla</i>	45
Tabela 9 – Variáveis PPN, PPA e PM obtidos no 12º dia da espécie receptora <i>B. pilosa</i>	46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 ALELOPATIA	14
3.2 ÁCIDO SALICÍLICO	15
3.3 BIOENSAIO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO	17
3.4 PLANTA DANINHA	19
3.4.1 <i>Bidens pilosa</i> (Picão Preto)	20
3.4.2 <i>Euphorbia heterophylla</i> (Leiteira)	21
4 MÉTODOS	23
4.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES	23
4.2 ESPÉCIES RECEPTORAS	23
4.2.1 Assepsia das Sementes	23
4.3 BIOENSAIO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES	23
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO	26
5.1.1 Bioensaio de Germinação	27
5.1.2 Testes Estatísticos	29
5.1.2.1 Testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov	30
5.1.2.2 Testes de ANOVA de dois fatores com repetição	33
5.1.2.3 Testes Tukey	40
5.1.2.4 Análise da Normal P-Plot de resíduos	41
5.1.3 Obtenção das Variáveis Porcentagem de Plântulas Normais (PPN), Porcentagem de Plântulas Anormais (PPA) e Porcentagem de Plântulas Mortas (PM)	44
6 CONCLUSÕES	49
7 REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A alelopatia é considerada uma das possíveis influências de um ser vivo em outro, podendo ser positiva ou negativa. Uma das influências positivas se dá quando uma planta pode auxiliar no crescimento ou na germinação de outra planta, favorecendo assim a outra espécie. A influência negativa é quando uma espécie interfere no crescimento ou na germinação de outra cultura, prejudicando no desenvolvimento ou podendo até ocasionar a morte da outra cultura.

A Piplartina é uma substância que apresenta potencial alelopático. É encontrada em algumas espécies de plantas, por exemplo, plantas do gênero *Piper*, da família Piperaceae, sendo a sua obtenção na forma pura em quantidades razoáveis, muito complexa. Dessa forma, apresenta dificuldades para a realização de testes alelopáticos, pois é necessário determinar uma faixa de concentração que influencie negativamente organismos alvo. Assim é interessante realizar testes preliminares, para determinar uma faixa de concentração adequada, podendo utilizar como referência para que outras substâncias com potencial alelopático sejam testadas.

O ácido salicílico (AS) é uma substância encontrada em plantas, que possui o papel de inibir a germinação e crescimento de plantas, interferir na absorção das raízes, além de agir na defesa de patógenos. É uma substância possível de ser sintetizada, de fácil aquisição, possibilitando dessa forma, a realização dos testes a fim de determinar a faixa de concentração favorável para ação alelopática. Vários trabalhos na literatura indicam o potencial alelopático do AS.

Como o AS também é liberado por algumas plantas, pode ser utilizado como parâmetro para outras substâncias que apresentam características semelhantes. Destacando-se o potencial de interferir em outras plantas, não apenas para a Piplartina, mas também para aquelas que são liberadas por espécies vegetais, com a finalidade de interferir negativamente em outras culturas.

As espécies daninhas *Bidens pilosa* (picão preto) e *Euphorbia heterophylla* (leiteira), são temidas devido a sua elevada infestação em propriedades agrícolas do Brasil e ao seu elevado potencial de danos às culturas agrícolas. Dentre as características que favorecem a grande interferência em culturas de lavoura, estão a competição pelos nutrientes do solo, pelo oxigênio, pela água e outros fatores essenciais para o desenvolvimento da planta.

O controle dessas espécies está cada vez mais complexo, assim necessitando de alternativas adequadas para efetuar o manejo das mesmas. Além de encontrar outra solução natural, que não seja o herbicida, não prejudicando significativamente a cultura, o solo e os lençóis freáticos.

O As foi escolhido pois tem relatos na literatura de atividade alelopática, baixo custo, existência dele em nosso laboratório. Além de que em sua estrutura há a presença de anel aromático.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar, por meio de testes preliminares, potencial atividade alelopática do ácido salicílico, que apresenta características semelhante à Piplartina, (isolada de na *Piper tuberculatum*) sobre espécies daninhas *Euphorbia heterophylla* e *Bidens pilosa*, para posterior realização de testes com a Piplartina.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Pesquisar na literatura uma substância semelhante a piplartina em termos de potencial alelopático;
- Preparar as soluções da substância selecionada em diferentes concentrações, para utilização em testes de germinação;
- Realizar testes de germinação das espécies daninhas alvo *E. heterophylla* (leiteira) e *B. pilosa* (picão preto), empregando diferentes concentrações de ácido salicílico;
- Fazer o tratamento estatístico dos dados obtidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ALELOPATIA

O termo alelopatia vem do grego que significa *allelon* = de uma para outro e *pathós* = sofrer (MOLISCH, 1937). Sendo que a influência poderá ser negativa ou positiva quando a planta libera compostos para o meio ambiente ou diretamente em outras plantas. Influenciando dessa forma, no crescimento das plantas ou transformando as substâncias presentes nos solos. Substâncias alelopáticas podem exercer efeitos inibitórios, neutros ou estimulatórios sobre a germinação e/ou crescimento de espécies vegetais. As espécies apresentam inúmeras funções ecológicas, que podem ser modificadas dependendo das condições ambientais. As plantas invasoras geralmente prejudicam seus vizinhos, assim, a alelopatia pode auxiliar no desenvolvimento de algumas plantas de interesse (INDERJIT et al., 2011).

O crescimento e desenvolvimento das plantas podem sofrer interferência das condições bióticas e abióticas. Microrganismos e plantas podem produzir e liberar aleloquímicos que se constituem em apenas um dos fatores que interferem no crescimento das plantas envolvidas no processo. As ervas daninhas, microrganismos ou culturas podem ser fontes de produção de aleloquímicos ou serem prejudicados pelos mesmos (EINHELLIG, 1996).

Na ecologia, a alelopatia explica como as espécies invasoras excluem espécies nativas, quando liberam compostos para o meio ambiente (HIERRO; CALLAWAY, 2003). Assim, podem interferir nas populações vegetais, tanto em ecossistemas agrícolas, quanto nos naturais. A técnica mais empregada para este estudo é na formulação de um preparo de extratos e analisando a influência do mesmo no crescimento e na germinação das sementes (INDERJIT; DAKSHINI, 1990; PUTNAM, 2018).

Os efeitos aleloquímicos estão sendo muito utilizados para substituir o uso de inseticidas, nematicidas e herbicidas. Essas substâncias procedem do metabolismo secundário, onde as plantas na evolução possuem algumas vantagens contra a ação de microrganismos, insetos, patógenos, predadores e vírus, inibindo a ação dos mesmos ou auxiliando no crescimento ou no desenvolvimento das plantas (INDERJIT, DAKSHINI, 1999).

As plantas que apresentam potencial alelopático possuem diferentes formas de liberação de aleloquímicos para o meio ambiente, como por exsudação radicular, volatilização, lixiviação e por decomposição de resíduos, como exemplificado na Figura 1 (BLUM, 2004).

Figura 1 - Mecanismo de liberação de substâncias aleloquímicas



Fonte: SÁNCHEZ (2002)

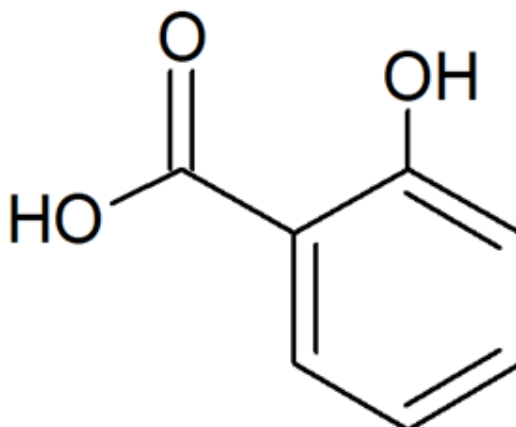
3.2 ÁCIDO SALICÍLICO

O ácido salicílico (AS) vem do latim *Salix*, um salgueiro, nome dado por Raffaele Piria em 1838. No século XIX, o AS e derivados eram isolados de diversas plantas. Em 1874, na Alemanha, foi realizada a primeira produção comercial do AS sintético. O ácido salicílico (Figura 2) pertence ao grupo de diversos fenólicos vegetais, possuindo geralmente um anel aromático que apresenta um grupo hidroxila ou um derivado funcional. Em pH baixos o AS é um inibidor capaz de captar potássio nas raízes das plantas de interesse, assim prejudicando o crescimento (RASKIN, 1992).

O AS produzido na rizosfera funciona como um aleloquímico, podendo assim inibir o crescimento das plantas vizinhas. Além de influenciar na germinação de sementes, crescimento celular, respiração e estabelecimento de plântulas. E atuando como um mecanismo de regulação da termogênese e resistência a doenças (RASKIN,

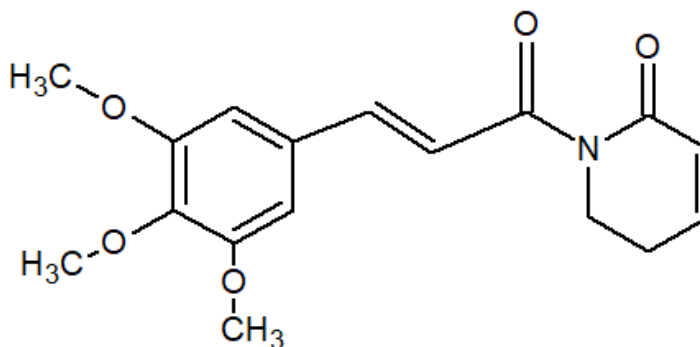
1992; VLOT, 2009). O AS foi escolhido para realizar os testes preliminares para definição da faixa de concentrações que possivelmente apresentariam efeito alelopático e, que portanto poderiam ser utilizadas para testar possível efeito alelopático de substâncias puras, entre elas a piplartina (Figura 3).

Figura 2 - Estrutura do ácido salicílico



Fonte: Elaborada pela autora no softawe ACD Labs® (2019)

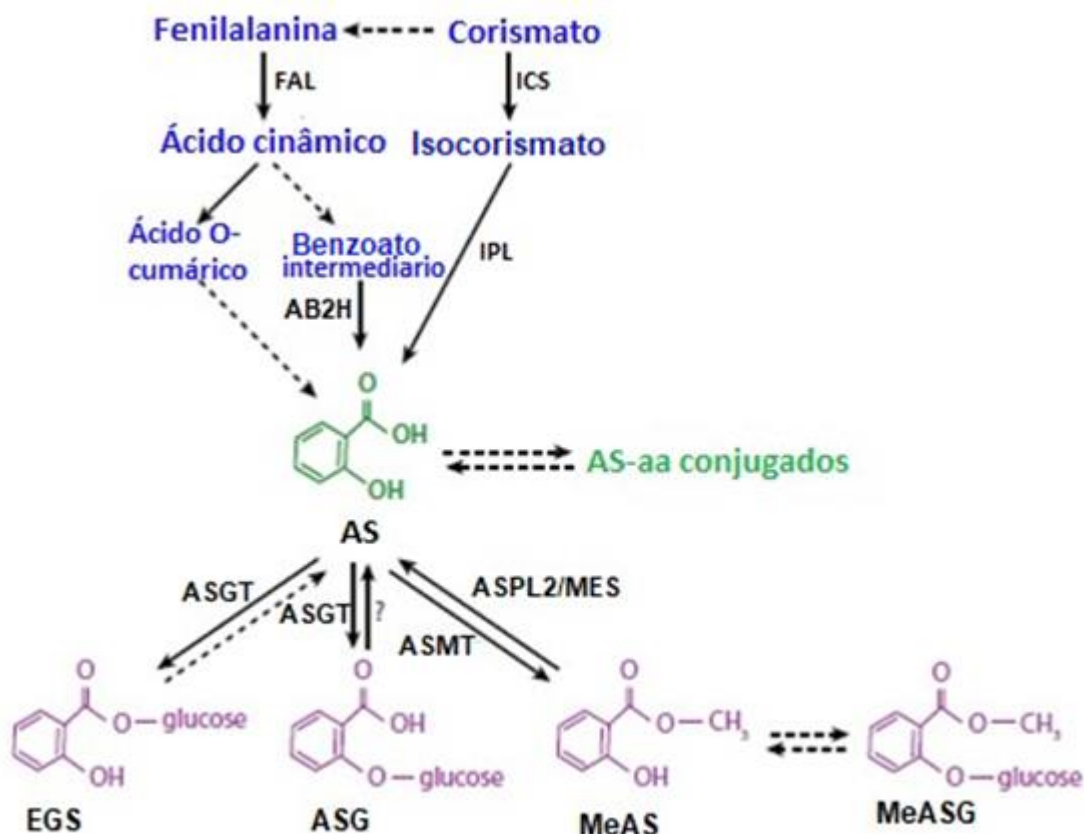
Figura 3 – Estrutura da piplartina



Fonte: Elaborada pela autora no softawe ACD Labs® (2019)

A produção de AS pode ser obtida por intermédio de duas vias enzimáticas. A L-fenilalanina derivada de corismato gera o AS, via benzoato ou ácido cumárico, iniciando por meio de reações enzimáticas a catálise pela fenilalanina amônia liase (PAL). Outro método é por meio do corismato que converte via isocorismato por dois modos, pela isocorismato sintase (ICS) e pela isocorismato piruvato liase (IPL). A *Arabidopsis*, *Nicotiana benthamiana* e *Solanum lycopersicum* são responsáveis pela maior produção de AS pela indução por patógenos. Grande parte do AS produzido pelas plantas é convertido em AS O-β-glicosídeo (ASG) pela AS glicosiltransferase (ASGT) através de patogêneses (Figura 4) (VLOT, 2009).

Figura 4 - Esquema simplificado das vias de biossíntese e de metabolismo da AS



Fonte: VLOT (2009)

Legenda: FAL: fenilalanina amônia liase; ICS: isocorismato sintase; IPL: isocorismato piruvato liase; AB2H: ácido benzóico-2-hidroxilase; AS: ácido salicílico; ASGT: AS glucosiltransferase ; aa: ácido amino; ASMT: AS metiltransferase; ASPL2: AS- proteína de ligação; MES: metil esterase; EGS: éster de glicose de salicílico ; ASG: AS O-β-glicosídeo; MeAS: ASmetil salicilato; MeASG: metil salicilato O-β-glicosídeo.

3.3 BIOENSAIO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO

Para a avaliação do potencial alelopático é necessário que a espécie alvo apresente um alto índice de germinação na natureza, alta sensibilidade a substâncias exógenas, homogeneidade entre os indivíduos e boa disponibilidade das sementes. As plantas daninhas apresentam uma desvantagem devido ao fato das sementes não passarem por um processo de seleção e melhoramento, como ocorre com as espécies comerciais. Porém, a utilização das plantas daninhas como alvo resulta em uma melhor reprodução das situações reais, ocorridas no meio ambiente, onde espécies daninhas acabam interferindo nas espécies cultivadas (SILVA, 2009).

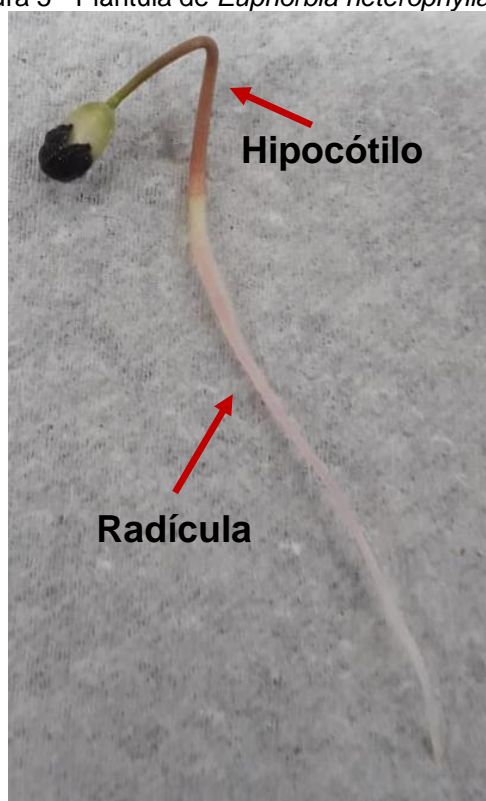
É indicado mais de um tipo de plantas alvos para testes alelopáticos, pois assim podem representar melhor o potencial alelopático de uma substância, além de

possibilitar resultados mais coerentes com a realidade. Cada espécie pode apresentar uma determinada sensibilidade, podendo interferir nos resultados dos testes, por isso a necessidade de se avaliar diferentes espécies vegetais (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

O volume da solução depositado nas placas é de extrema importância para os testes, pois pode gerar condições indesejáveis de estresse hídricos ou anaeróbicas, podendo ocasionar limitações na germinação. Em placas de Petri com 9,0 cm de diâmetro são utilizados 3,0 mL de solução. Evidentemente, quanto maior a placa de Petri maior será o volume de solução necessário para a germinação (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

Quando ocorre a germinação, são externalizados o conjunto da raiz primária e suas ramificações (raízes secundárias, terciárias...), que formam o sistema radicular pivotante ou axial (Figura 5), e também estruturas aéreas. O hipocótilo é o segmento entre a radícula e os cotilédones (POPINIGIS, 1985; ALMEIDA; ALMEIDA, 2014).

Figura 5 - Plântula de *Euphorbia heterophylla*



Fonte: Autoria própria (2019)

Para que uma planta possa se tornar normal, a plântula necessita passar pelas seguintes estruturas: sistema radicular (raiz primária e em alguns gêneros raízes

seminais), parte aérea (hipocótilo, epicótilo), gemas terminais e cotilédones (um ou mais) (BRASIL, 2009).

3.4 PLANTA DANINHA

O termo planta daninha, é utilizado quando uma planta se torna indesejável, ou seja, que apresenta interferências negativas nas demais. Nenhuma espécie deveria ser considerada daninha, pois quando duas culturas estão no mesmo ambiente uma pode prejudicar a outra, exemplo o milho pode interferir no plantio da soja, assim por essa definição o milho seria uma daninha. E algumas espécies apresentam potencial competitivo, mas são essenciais para a reciclagem dos nutrientes, no controle da erosão, além de fornecerem néctar para as abelhas e utilizadas como planta medicinal (SILVA; SILVA, 2007).

As plantas daninhas têm a capacidade de se adaptar com facilidade em diversas condições e interferem nas espécies cultivadas, visto que há uma competição entre elas. Para germinar, crescer e reproduzir-se, as plantas necessitam de água, luz, gás carbônico, oxigênio, nutrientes minerais e calor, que se tornam escassos à medida que a planta se desenvolve, situação que se agrava quando se tem uma competição com outra espécie. As substâncias aleloquímicas são liberadas como toxinas, que podem infiltrar no solo, ocasionando a diminuição do crescimento dessas espécies daninhas, assim favorecendo o cultivo (SOUZA; ALVES, 2000; KARAM, 2007; SILVA; SILVA, 2007).

Os herbicidas ganham grande importância devido ao controle eficaz das plantas daninhas e ao baixo custo. A necessidade de proteger o cultivo que é responsável pela alimentação mundial, faz com que cada vez mais se necessite o uso dos herbicidas (HEAP, 1997).

Os herbicidas são utilizados para um controle químico, com a finalidade de eliminar pragas. Porém o uso desses produtos prejudica o meio ambiente diminuindo os componentes dos solos, ar e água. Quando os produtos são lixiviáveis podem alcançar os lençóis de água e quando voláteis contaminam o ar (KARAM, 2007).

A resistência de algumas plantas daninhas também é um grande problema, pois possuem pouco ou nenhum outro método para este controle. Assim necessitando de dois ou mais mecanismos, geralmente com menos eficiência, gerando mais problemas para o solo, para as culturas, entre outros (SILVA; SILVA, 2007).

3.4.1 *Bidens pilosa* (Picão Preto)

A espécie *Bidens pilosa* (Figura 6) é conhecida por picão preto, carrapicho entre outros. Nativo da América Tropical com grande presença na América do Sul, é encontrada em todo território brasileiro, com maior concentração nas lavouras das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, destacando-se principalmente nas estações primavera e verão. É uma espécie anual, com altura de 40 a 120 cm e propaga-se por sementes (KISSMANN; GROTH, 1933; LORENZI, 1991).

Figura 6 - Planta *Bidens pilosa* (picão preto)



Fonte: ERVANARIUM (2019)

É uma espécie mais frequente nas lavouras e seu ciclo é curto e rápido, podendo assim produzir até três gerações em um ano. Influenciando significativamente na produção de outras culturas, sendo uma das culturas mais afetadas, a de soja, onde pode diminuir sua produtividade em até 30%. Porém possui benefícios como planta medicinal caseira (KISSMANN; GROTH, 1933; LORENZI, 1991).

A *Bidens pilosa* é usada como medicina caseira, por meio de chá das folhas ou da planta inteira. Sendo utilizada para hepatite, icterícia, febres, corrimento vaginal, azia, crise renal e inchações. Também para ferimentos e infecções, onde realiza banhos nos ferimentos externos. Além dessas possíveis utilização a *B. pilosa* também

foi testada em animais, como camundongos, e apresentaram atividades antitumorais. (ALVARINA et al., 2005; MEYER; QUADROS; ZENI, 2012; PASSOS et al., 2018)

Para a germinação, essa espécie precisa de umidade, temperatura, luz e a profundidade do solo não é necessário mais que 1 cm, podendo ser até na superfície do solo. Porém, quando em profundidades maiores as sementes podem permanecer em vida latente por até 5 anos. Geralmente não ocorrem novas infestações imediatas quando as plântulas são controladas por herbicidas. Entretanto, quando eliminados por capina, esperam-se novas gerações, pois o revolvimento do solo desloca mais sementes para a superfície, favorecendo as condições para a germinação (KISSMANN; GROTH, 1933).

3.4.2 *Euphorbia heterophylla* (Leiteira)

A *Euphorbia heterophylla* (Figura 7) vem do grego onde *heteros* = diferentes e *phylon* = folhas, devido as suas folhas apresentarem diversas formas. É conhecida por diversos nomes como leiteira e amendoim-bravo. Nativa de regiões tropicais e subtropicais do Continente Americano. É uma planta com ocorrência anual, possuem folhas muito variáveis, sua altura varia de 30 a 80 cm e a propagação é por sementes (KISSMANN; GROTH, 1933; LORENZI, 1991).

Figura 7 - Planta *Euphorbia heterophylla* (leiteira)



Fonte: GOVERNMENT (2016)

É a espécie mais temida, ocorrente em lavouras anuais e perenes. A multiplicação e o crescimento são rápidos, prejudicando as culturas que apresentam desenvolvimento lento. Essa espécie compete na absorção de água e nutrientes do solo, com as demais culturas. A germinação ocorre no verão, onde a profundidade da raiz atinge cerca de 12 cm, assim mantendo viabilidade da germinação por anos. (KISSMANN; GROTH, 1933; LORENZI, 1991).

4 MÉTODOS

4.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES

Foi preparada uma solução mãe de 1000 ppm de ácido salicílico, posteriormente foram realizadas 5 diluições de 750, 500, 250, 125 e 62,5 ppm.

4.2 ESPÉCIES RECEPTORAS

As espécies de plantas daninhas, *Euphorbia heterophylla* e *Bidens pilosa*, foram fornecidas pelo Departamento de Agronomia da UTFPR – Câmpus Pato Branco, pelo Prof. Dr. Michelangelo Muzell Trezzi. As sementes passaram por um processo de assepsia.

4.2.1 Assepsia das Sementes

Foram depositadas as sementes em uma capela de fluxo laminar H1 (BSTec, Brasil) com lâmpada UV (254 nm), por cerca de 15 minutos, para que ocorresse a assepsia. Em seguida, colocadas 25 sementes em um papel de filtro qualitativo dentro de uma placa de Petri, e adicionados 2 mL água destilada. Assim foram depositadas na câmara de BOD para o início da germinação, as sementes germinadas foram utilizadas no teste, para menor interferência nos resultados, visto que se uma semente está em estado latente, não germinará pela substância, mas sim pelo estado da semente.

4.3 BIOENSAIO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES

As sementes das plantas daninhas que foram germinadas, foram selecionadas e colocadas 5 sementes, pois as sementes necessitam de espaço para crescer, em cada placa de Petri contendo papel de filtro qualitativo e as soluções de ácido salicílico em diferentes concentrações, cerca de 2 mL. Este procedimento foi realizado em triplicata para cada espécie e concentração. Foram analisadas por 12 dias, em uma contagem com um intervalo de 3 dias das sementes germinadas. Para

esta contagem as sementes precisavam apresentar uma extensão radicular igual ou maior a 2 mm (JUNTILA, 1976).

Foram realizados testes em triplicada com as concentrações de 1000, 750, 500, 250, 125, 62,5 e 0 ppm da substância pura ácido salicílico. E adicionados 2 mL de cada solução preparada em cada placa de Petri (100 x 15 mm), adicionando água destilada sempre que o papel filtro estivesse seco.

Foi realizado em uma incubadora de BOD (ELETROlab, Brasil), nas condições controladas de temperatura à 30 °C no período de dia e a noite 25 °C, com um fotoperíodo de 12 horas, para ambas as plantas analisadas (GONÇALVES et al., 2016).

Foram realizadas medidas das partes germinadas das sementes considerando a radícula e o hipocótilo. As medidas foram realizadas com o auxílio de uma régua, onde a semente foi exposta e a radícula e hipocótilo alongados em cima da mesma.

Com os resultados obtidos foi possível determinar as seguintes variáveis: porcentagem de plântulas normais (PPN), anormais (PPA) e mortas (PM), obtendo-as pelas seguintes equações, (SILVA, 2014):

Porcentagem de Plântulas Normais (PPN), Anormais (PPA) e Mortas (PM), segundo OLIVEIRA et al., 2010:

$$PN = \left(\frac{n_r}{T}\right) \times 100 \quad (1)$$

$$PA = \left(\frac{A}{T}\right) \times 100 \quad (2)$$

$$PM = \left(\frac{M}{T}\right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

n_r = número de plântulas normais;

A = número de plântulas Anormais (má formação e/ou necrose);

M = número de plântulas mortas;

T = número total de sementes para germinar.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

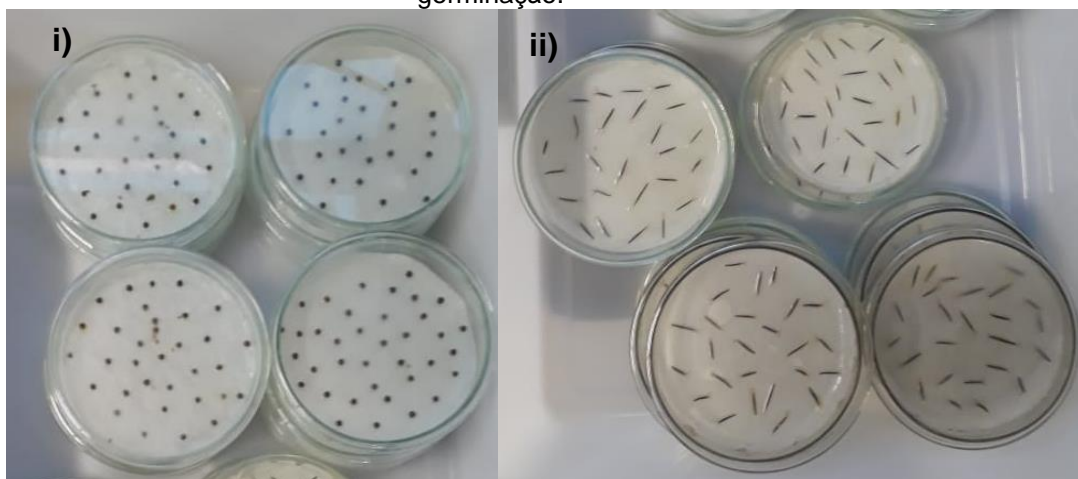
Após a realização dos testes de crescimento, executados em triplicata, foi verificada a normalidade dos dados por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov utilizando o Software Statistics®. Na sequência com hipótese confirmada foram realizados os testes de ANOVA de dois fatores com repetição e de Tukey, com o nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO

As sementes receptoras, leiteira (*E. heterophylla*) e picão preto (*B. pilosa*), após serem submetidas a um processo de assepsia e dispostas para germinar (Figura 8). As sementes germinadas com comprimento de cerca 0,2 cm de radícula e 0,1 cm de hipocótilo foram utilizadas para a realização dos testes alelopáticos (Figura 9).

Figura 8 – Sementes de i) *Euphorbia heterophylla* ii) *Bidens pilosa* em placas de Petri para o início da germinação.



Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 9 – Sementes de i) *Euphorbia heterophylla* ii) *Bidens pilosa* em placas de Petri para o início dos testes.



Fonte: Autoria própria (2019)

5.1.1 Bioensaio de Germinação

Os bioensaios foram realizados duraram 12 dias sendo as medidas realizadas a cada 3 dias, onde foi medido o comprimento da radícula e do hipocótilo, representados nas Tabela 1 e Tabela 2.

Tabela 1 – Valores dos comprimentos obtidos por meio da medida da radícula e do hipocótilo da espécie receptora *E. heterophylla*

Tempo (dias)	Concentração (ppm)	Radícula (cm)	Hipocótilo (cm)	Comprimento da plântula (cm)
0	0	0,2	0,1	0,3
3	0	8,4	5,5	13,9
6	0	9,3	6,0	15,3
9	0	9,6	6,4	16,0
12	0	10,2	6,8	16,9
0	62,5	0,2	0,1	0,3
3	62,5	5,2	5,6	10,8
6	62,5	6,8	5,8	12,6
9	62,5	7,2	6,2	13,5
12	62,5	7,3	6,8	14,1
0	125	0,2	0,1	0,3
3	125	4,0	4,7	8,7
6	125	5,2	5,5	10,7
9	125	5,8	5,8	11,7
12	125	7,3	6,1	13,4
0	250	0,2	0,1	0,3
3	250	3,3	5,6	8,9
6	250	4,5	6,2	10,7
9	250	4,9	6,7	11,6
12	250	5,5	7,0	12,4
0	500	0,2	0,1	0,3
3	500	1,6	4,2	5,8
6	500	2,3	4,6	6,9
9	500	2,8	5,1	7,9
12	500	3,7	5,7	9,4
0	750	0,2	0,1	0,3
3	750	0,9	2,9	3,9
6	750	1,0	3,4	4,4
9	750	1,0	3,7	4,7
12	750	1,1	4,0	5,0
0	1000	0,2	0,1	0,3
3	1000	0,6	3,1	3,6
6	1000	0,7	3,5	4,1
9	1000	0,7	3,8	4,5
12	1000	0,7	4,2	4,9

Tabela 2 – Valores dos comprimentos obtidos por meio da medida da radícula e do hipocótilo da espécie receptora *B. pilosa*

Tempo (dias)	Concentração (ppm)	Radícula (cm)	Hipocótilo (cm)	Comprimento da plântula (cm)
0	0	0,2	0,1	0,3
3	0	3,4	1,7	5,0
6	0	3,8	1,9	5,7
9	0	4,0	2,0	6,0

12	0	4,1	2,1	6,2
0	62,5	0,2	0,1	0,3
3	62,5	2,2	2,0	4,2
6	62,5	2,9	2,2	5,1
9	62,5	3,4	2,3	5,7
12	62,5	3,7	2,4	6,2
0	125	0,2	0,1	0,3
3	125	2,2	2,0	4,1
6	125	2,8	2,3	5,1
9	125	3,4	2,5	5,9
12	125	3,7	2,7	6,4
0	250	0,2	0,1	0,3
3	250	1,8	1,7	3,5
6	250	1,9	1,9	3,9
9	250	2,0	2,1	4,2
12	250	2,1	2,2	4,3
0	500	0,2	0,1	0,3
3	500	0,8	1,3	2,1
6	500	0,9	1,5	2,4
9	500	0,9	1,6	2,5
12	500	0,9	1,8	2,7
0	750	0,2	0,1	0,3
3	750	0,6	1,2	1,8
6	750	0,6	1,3	1,9
9	750	0,7	1,3	1,9
12	750	0,7	1,4	2,1
0	1000	0,2	0,1	0,3
3	1000	0,5	1,2	1,7
6	1000	0,6	1,3	1,9
9	1000	0,6	1,4	2,0
12	1000	0,6	1,5	2,1

Com os valores obtidos nas medidas das plântulas, podemos observar que houve uma diminuição do comprimento da radícula ou hipocótilo entre o controle e as demais concentrações. As concentrações mais altas apresentaram também uma mortalidade em plântulas ou deformidades, como necrose da radícula e/ou hipocótilo, necrose ou má formação nas folhas e a estabilidade no crescimento, ou seja, a plântula não cresce ou com taxa de crescimento baixa.

Na espécie receptora *E. heterophylla*, representados na Tabela 1, observamos que ocorreu uma diminuição do comprimento da radícula e da plântula, conforme o aumento da concentração de ácido salicílico e em alguns casos apresentou-se até a mesma média. Por outro lado, o comprimento do hipocótilo aparentemente diminuiu à medida que aumentou a concentração, exceto na concentração de 250 ppm que apresentou um crescimento maior que o controle.

Na espécie receptora *B. pilosa*, representado na Tabela 2, nota-se que o comprimento da radícula diminuiu conforme o aumento da concentração ou permaneceu o mesmo tamanho, como nas concentrações de 62,5 e 125 ppm. Uma

das três placas de Petri do controle, absorveu mais água que as demais secando as plântulas, ocasionando a estabilidade do crescimento, desta maneira diminui na média do comprimento da plântula, principalmente no hipocótilo. Apesar de ter perdido uma amostra, o que poderia prejudicar na identificação da diferença significativa, a radícula apresentou uma diminuição com o aumento do ácido salicílico.

Esta variação no comprimento do hipocótilo em ambas as espécies receptoras podem ser justificadas por alguns fatores, como em algumas plântulas o comprimento da radícula possuir uma taxa de crescimento maior, atrapalhando no crescimento do hipocótilo. Outro principal fator foi a quantidade de sementes presentes na placa de Petri, visto que com o alto desenvolvimento de algumas plântulas, ocasiona competição entre elas, prejudicando as demais, provocando uma interferência no potencial do crescimento, assim diminuindo a média do comprimento. Essa influência é visível nas primeiras concentrações, onde as plântulas se desenvolvem mais. Apesar desses fatores de interferência, houve diminuição quando comparado o comprimento da radícula em todas as concentrações e no comprimento do hipocótilo e da plântula quando comparada a altas concentrações.

O comprimento da radícula é a parte mais sensível da plântula aos efeitos alelopáticos. Devido à raiz entrar em contato diretamente com a solução, sendo onde ocorre a absorção dos aleloquímicos. Essa ação diretamente com o aleloquímicos ligam-se nas membranas da planta daninha ou penetra nas células, interferindo no crescimento e desenvolvimento da plântula (SOUZA FILHO; RODRIGUES; RODRIGUES, 1997; FERREIRA; AQUILA, 2000).

5.1.2 Testes Estatísticos

Os testes foram realizados no software Statística[®], sendo que, após a verificação da normalidade dos valores via Kolmogorov-Smirnov, optou-se pelo teste de ANOVA de dois fatores com repetição, visto que outras ANOVA avaliam somente o efeito médio de cada fator, já neste teste é possível avaliar a interação entre os fatores. Quando a diferença entre os níveis de um fator é diferente para todos os outros níveis, existe interação entre dois fatores (BARBETTA; REIS; BORNIA, 2010).

Posteriormente à ANOVA, foram realizados o teste Tukey, para testar todo ou qualquer contraste entre duas médias de tratamento. Sendo levado em consideração os intervalos conjuntos com $1 - \alpha$ de confiança, para todas as comparações entre as

médias em I níveis, o que indica, por exemplo, que em cada intervalo contém diferença nas médias (SILVA, 2010; REIS; PINTO; SOARES, 2016).

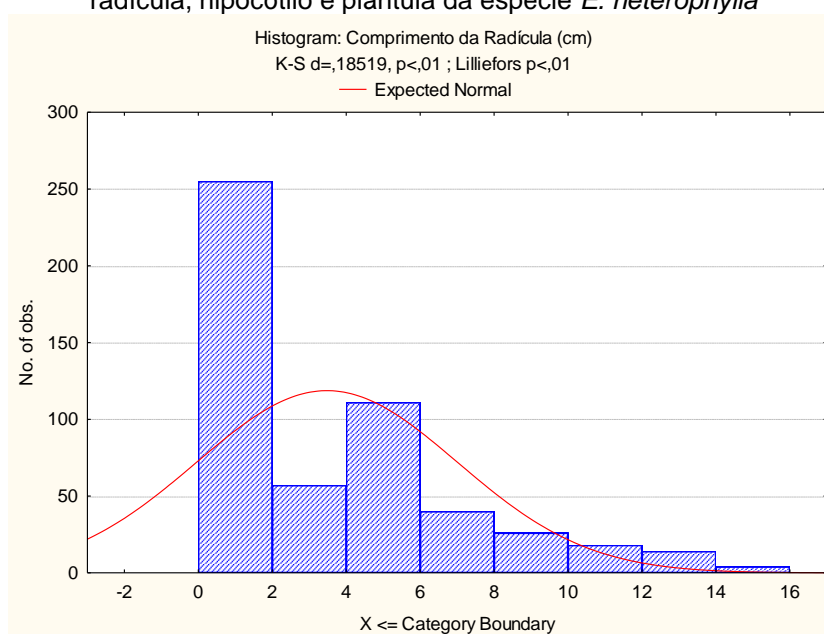
Para finalizar os testes estatísticos foram realizados a análise residual, para verificação da suposição de que os erros sejam distribuídos de forma normal, com variação constante. Para que os erros sejam distribuídos normalmente, os resíduos devem cair em um intervalo de -2 ou +2 (MONTGOMERY; RUNGER, 2016).

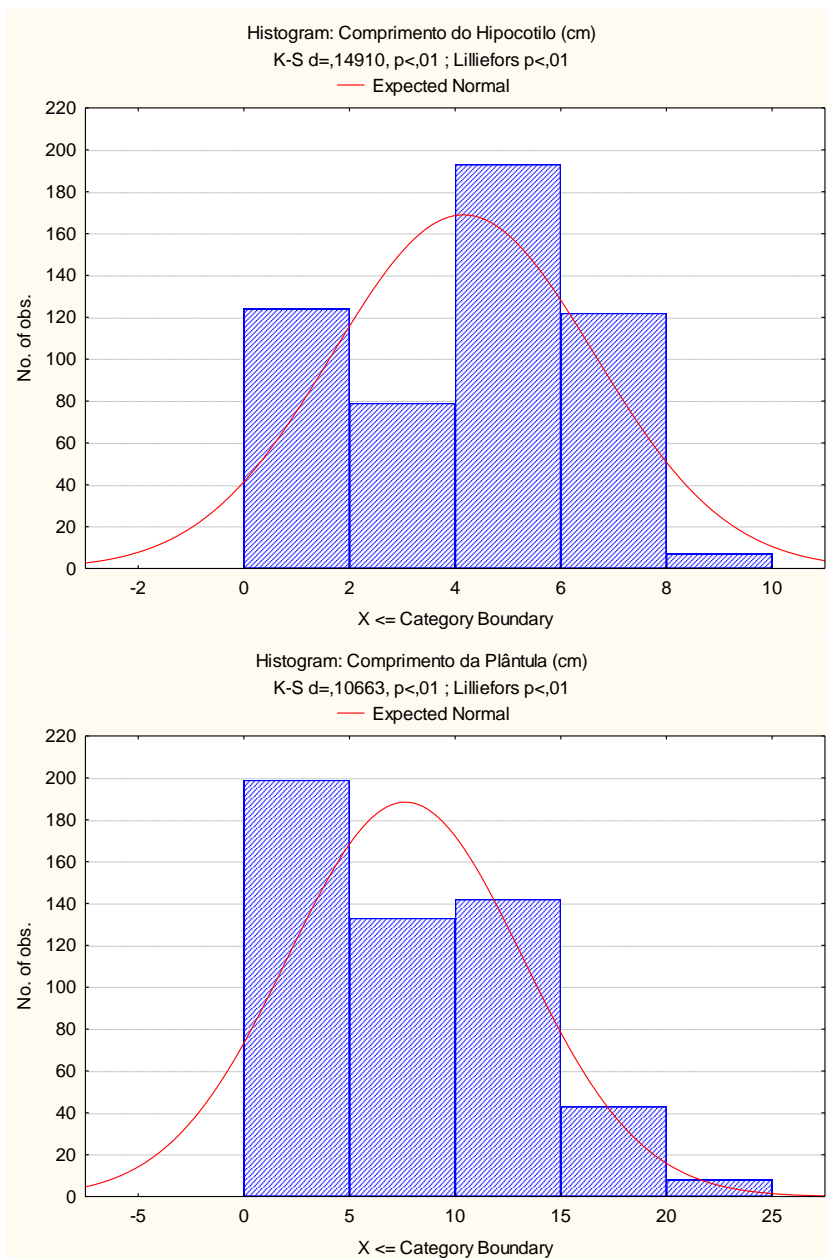
5.1.2.1 Testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov

Primeiramente foi testada a normalidade via Kolmogorov-Smirnov, obtendo-se os histogramas. Deste modo, foi avaliado o valor da probabilidade de significância (p-valor ou p-value), onde é necessário que o valor seja inferior a 0,1 para não rejeitar a hipótese, ou seja, para que os dados sigam a normalidade. Este dado é informado na parte superior do histograma, representado pela letra p (Figuras 10 e 11).

Foram avaliados o p-valor para todas as variáveis, comprimento da radícula, do hipocótilo e da plântula para ambas as espécies receptoras, sendo que todos apresentaram $p < 0,1$, significando que dados seguem a normalidade. Para uma confirmação foi realizada também o teste de normalidade de Shapiro Wilk, onde o p-valor apresentou para todas as variáveis o valor de 0,00000.

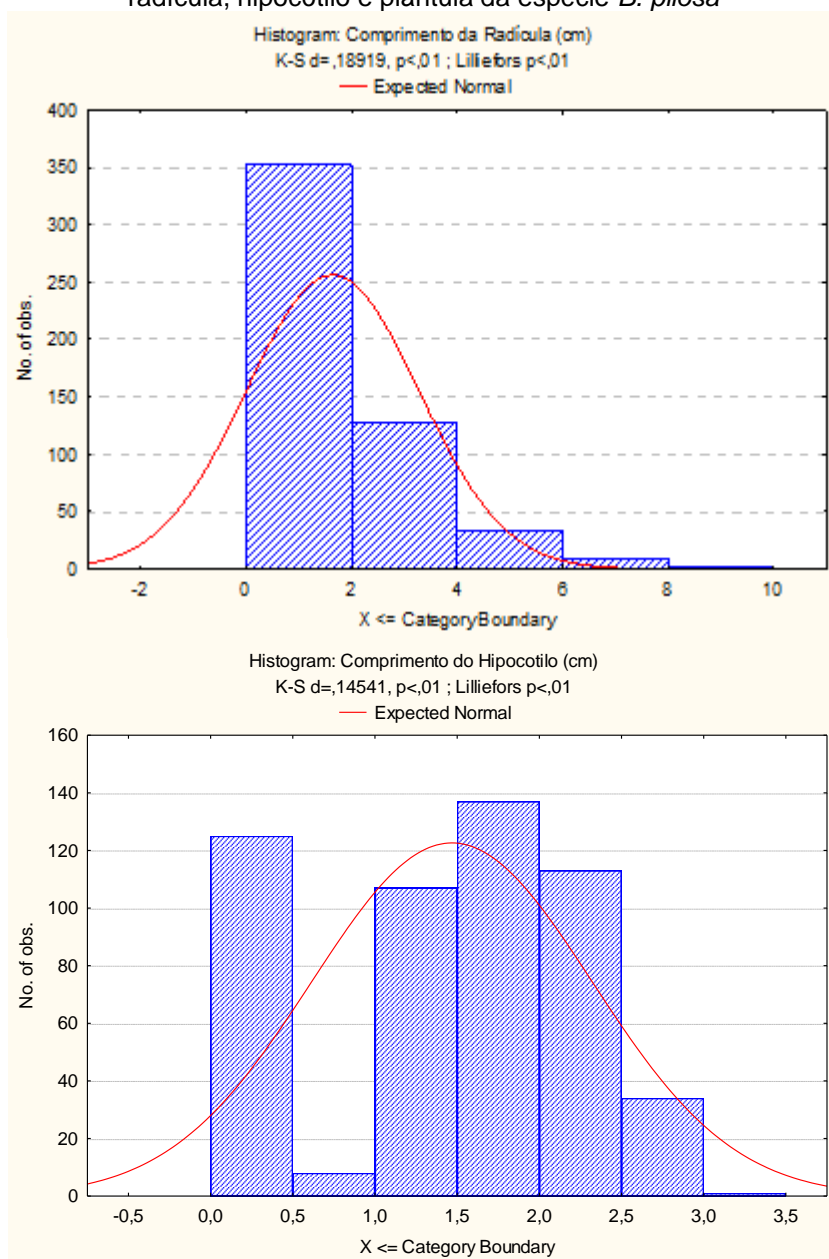
Figura 10 – Histogramas de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para as variáveis comprimento da radícula, hipocótilo e plântula da espécie *E. heterophylla*

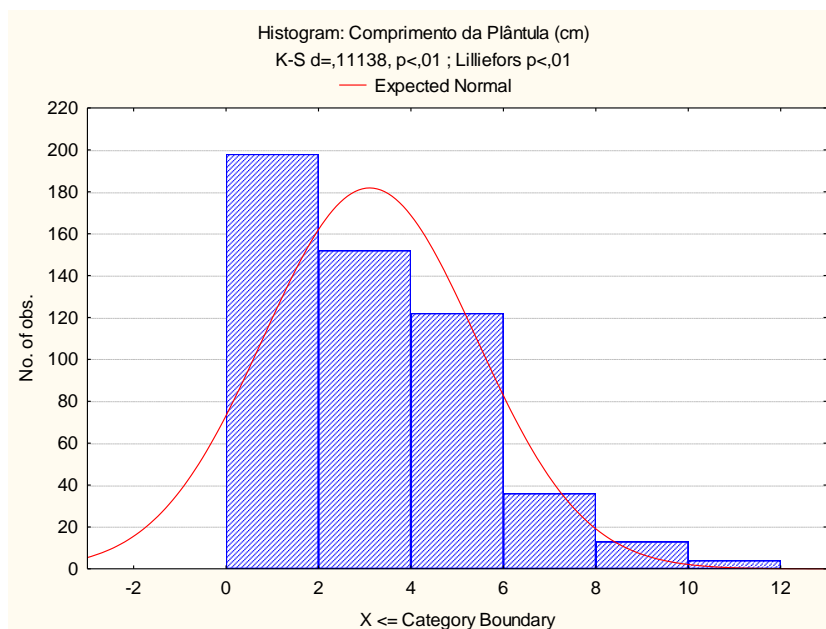




Fonte: Elaborada pela autora no softwae Statistica® (2019)

Figura 11 - Histogramas de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para as variáveis comprimento da radícula, hipocótilo e plântula da espécie *B. pilosa*





Fonte: Elaborada pela autora no software Statistica® (2019)

5.1.2.2 Testes de ANOVA de dois fatores com repetição

Após a confirmação da normalidade dos dados foi realizado a ANOVA de dois fatores com repetição, sendo neste caso avaliado os valores e F e p. Para esta análise é preciso determinar um valor de $F_{\text{crítico}}$, como um parâmetro de comparação. O $F_{\text{crítico}}$ é o valor mínimo necessário para que haja uma diferença significativa. Para determinar o $F_{\text{crítico}}$ é necessário primeiramente encontrar o grau de liberdade e o grau denominador, obtido através das fórmulas (LOESCH, 2015), representadas na Tabela 3, sendo o grau denominador o grau de liberdade do total. As variáveis foram iguais para as duas espécies, assim o valor de $F_{\text{crítico}}$ será o mesmo.

Tabela 3 – Determinação dos valores do $F_{\text{crítico}}$

	Fórmula	Grau de liberdade	$F_{\text{crítico}}$
Tempo (dias)	K-1	4	$F_{5\%;4;34} = 2,6499$
Concentração (ppm)	n-1	6	$F_{5\%;6;34} = 2,3803$
Tempo (dias)*Concentração (ppm)	$(k-1)*(n-1)$	24	$F_{5\%;24;34} = 1,8427$
TOTAL	$Kn-1$	34	

Onde:

K = quantidade de dias analisado;

n= quantidade de concentrações.

Comparando os valores de F, representados nas Tabelas 4 e 5, para a *E. heterophylla*, nota-se que para o tempo era necessário no mínimo 2,6499 e obteve-se

valores superiores a 137 para as três medidas. Para a concentração 2,3803 e foram superiores a 76 e na interação destas variáveis o mínimo de 1,8427 e observou superior a 4. Na *B. pilosa*, para o tempo obteve-se valores superiores 81, para a concentração superior a 71 e a interação superior 5.

Tabela 4 – Valores de F e p para a espécie *E. heterophylla*

	Comprimento da radícula (cm)		Comprimento do hipocótilo (cm)		Comprimento da plântula (cm)	
	F	p	F	p	F	p
Tempo (dias)	137,974	0,00	620,501	0,000000	420,044	0,00
Concentração (ppm)	168,925	0,00	76,217	0,000000	191,016	0,00
Tempo (dias) *						
Concentração (ppm)	11,344	0,00	4,915	0,000000	12,563	0,00

Tabela 5 - Valores de F e p para a espécie *B. pilosa*

	Comprimento da radícula (cm)		Comprimento do hipocótilo (cm)		Comprimento da plântula (cm)	
	F	p	F	p	F	p
Tempo (dias)	81,411	0,00	532,447	0,000000	223,286	0,00
Concentração (ppm)	93,261	0,00	71,422	0,000000	112,489	0,00
Tempo (dias) *						
Concentração (ppm)	6,885	0,00	5,050	0,000000	8,065	0,00

Observou-se que a *B. pilosa* apresentou valores menores de F quando comparadas a *E. heterophylla*, porém ainda assim apresenta grandes diferenças significativas. Concluindo-se que para variáveis individuais e a interação entre elas apresentaram diferença nas médias para todas os comprimentos, em ambas as espécies.

Outro fator a ser analisado é pelo valor de p, sendo necessário valores menores que 0,5, visto que o nível de significância é de 5%. Os valores obtidos, Tabela 4 e 5, por meio dos testes foram todos iguais a zero, confirmando-se dessa forma, a hipótese inicial, que apresentava diferença significativa.

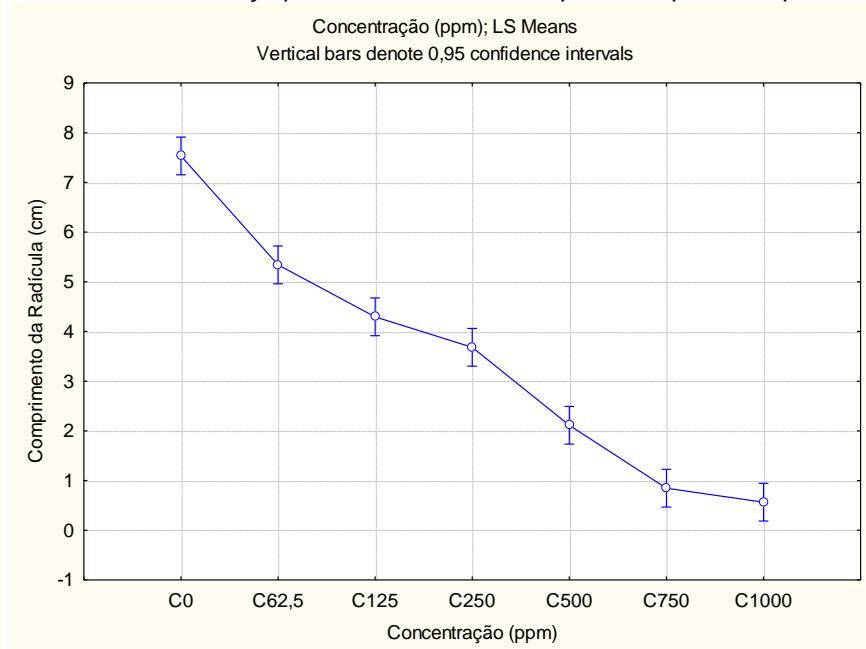
Após a ANOVA, foi realizado um pré-teste para avaliar se existiam diferenças significativas entre dois grupos. Por meio dos gráficos de intervalos de confiança foi possível identificar quais concentrações apresentavam diferenças significativas ao nível de 5%.

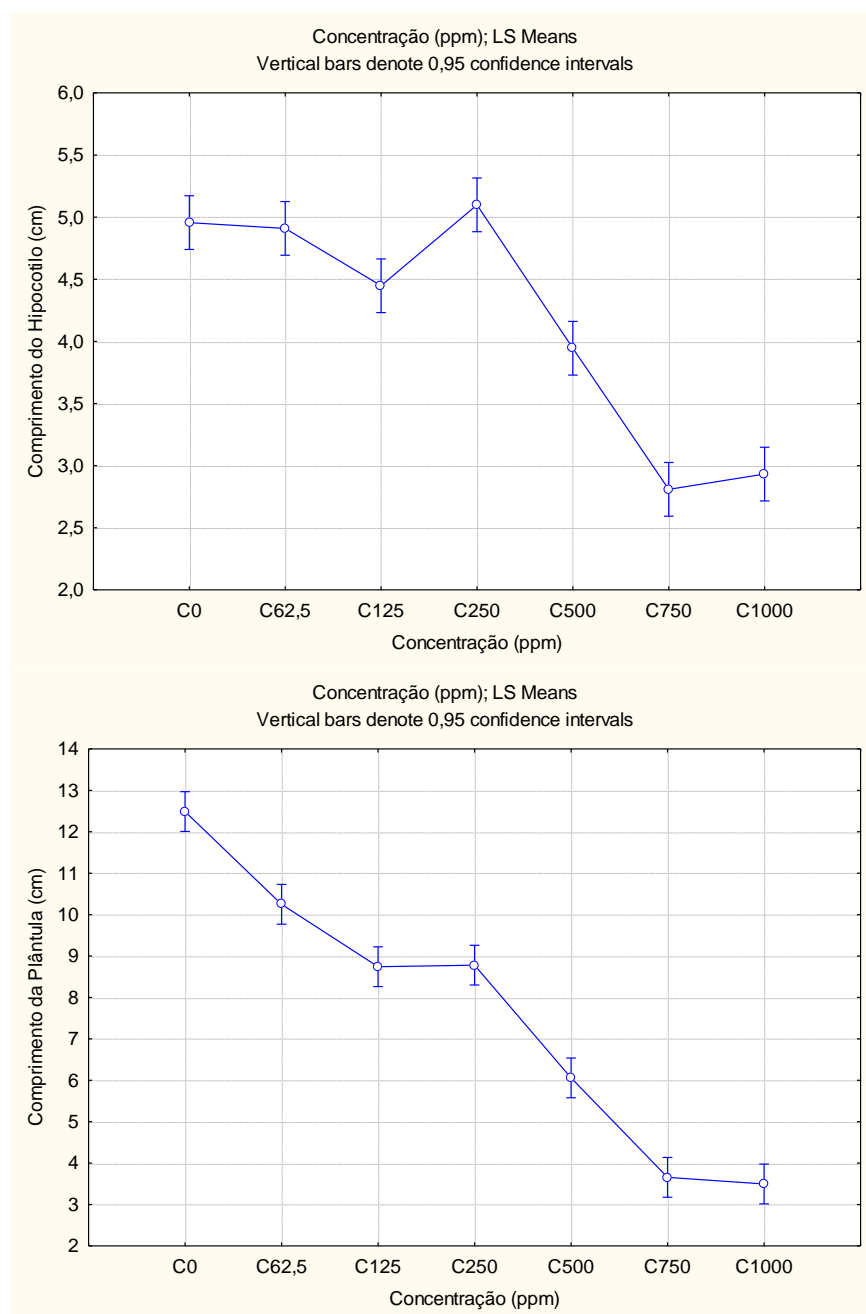
Para a *E. heterophylla*, a partir dos gráficos apresentados na Figura 12, foi possível visualizar que o comprimento da radícula e da plântula diminuíram conforme

o aumento da concentração. Contudo, entre os dois pares de concentrações de 125 e 250 ppm e 750 e 1000 ppm não houve diferença significativa entre as médias, devido à intersecção entre as médias, ou seja, não houve variação significativa do comprimento com o aumento da concentração. Por outro lado, dentre os pares que apresentaram diferenças significativas, destacam-se: (i) controle e 500 ppm; (ii) controle e 750 ppm e (iii) controle e 1000 ppm.

No comprimento do hipocótilo é visível a interferência que ocorreu nas médias devido as falhas citadas anteriormente. Dentre as concentrações controle, 62,5 e 125 ppm e 750 e 1000 ppm, não apresentaram diferenças significativas. De outro modo, os pares que apresentaram maior variação foram: (i) controle e 750 ppm; e (ii) controle e 1000 ppm.

Figura 12 – Intervalos de confiança para as médias do comprimento para a espécie *E. heterophylla*





Fonte: Elaborada pela autora no softawre Statistica® (2019)

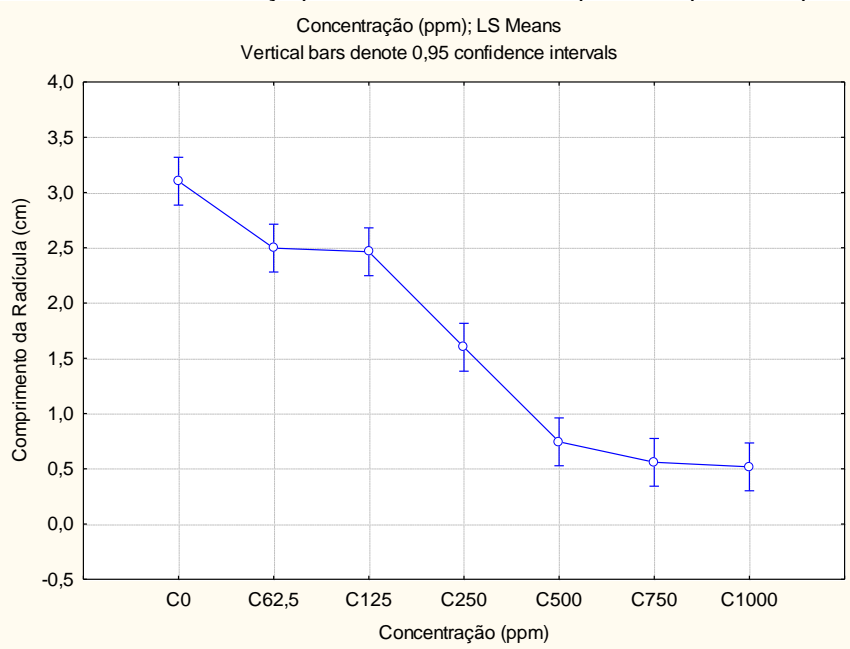
Na *B. pilosa*, representados na Figura 13, também foi notável o mesmo comportamento da *E. heterophylla* para a radícula. Entretanto, os grupos das concentrações 62,5 e 125 ppm e 500, 750 e 1000 ppm, não apresentaram diferença significativa. Para o comprimento da plântula os grupos controle, 62,5 e 125 ppm e 500, 750 e 1000 ppm não tiveram diferenças significativas. Quando em concentrações próximas, por ser uma planta sensível, podem ocorrer alguns fatores que ocasionaram pequenas variações no comprimento, cerca de 0,05 cm, como a quantidade de água

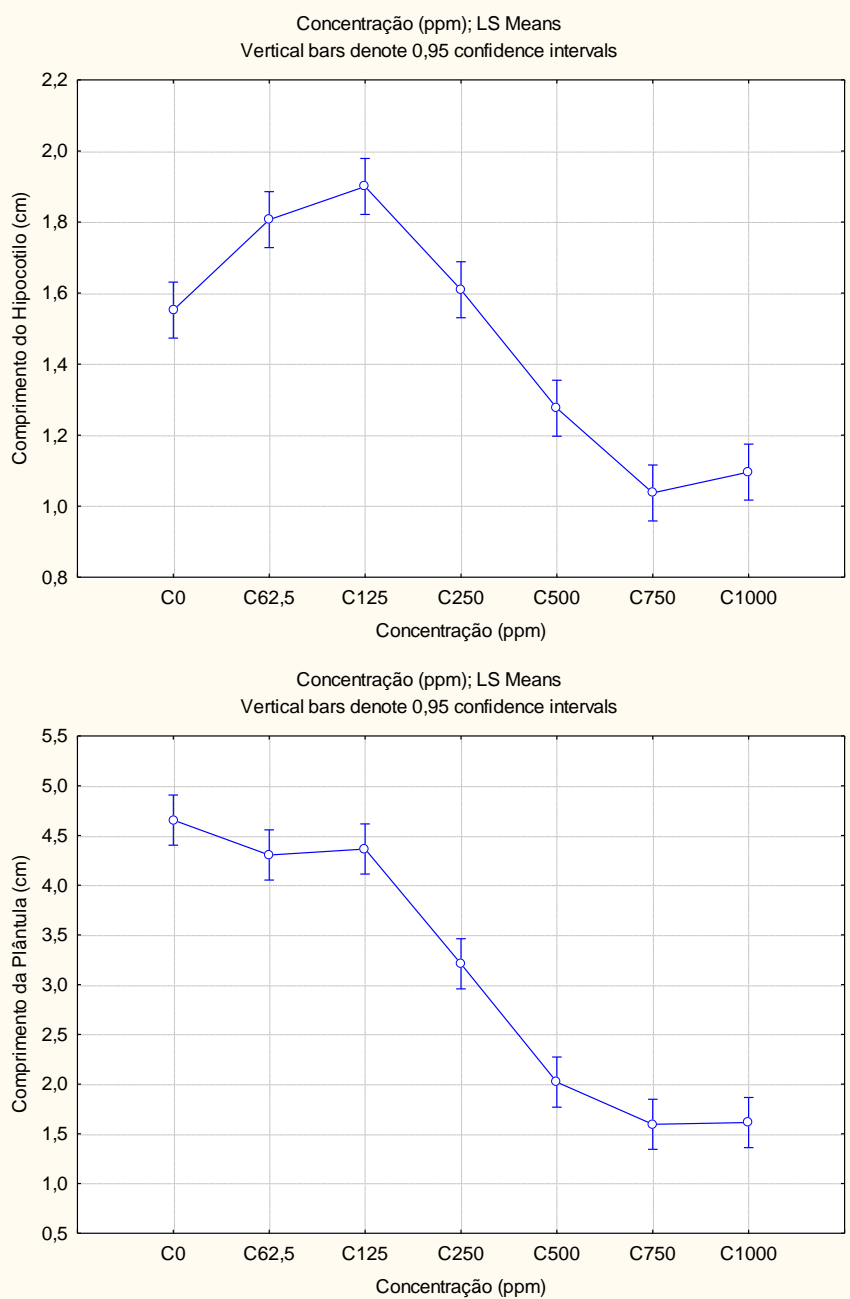
e luz. Entre as que apresentaram diferenças, as que mais se destacaram foram: (i) controle e 500 ppm; (ii) controle e 750 ppm; e (iii) controle e 1000 ppm.

No comprimento do hipocótilo, também foi possível visualizar a influência que as falhas tiveram nesta variável, diminuindo significativamente o tamanho do controle. No entanto não houve diferença significativa nos grupos controle e 250 ppm, 62,5 e 125 ppm e 750 e 1000 ppm. Por outro lado, independentemente dos erros, sucedeu-se uma variação, destacando-se nos pares de concentrações: (i) Controle e 750 ppm; e (ii) Controle e 1000 ppm.

Outro fator possível, para explicar as interferências no comprimento do hipocótilo, visível na Figura 13 b, é o efeito hormético. Visto que algumas substâncias tóxicas podem estimular o crescimento e aumentar a produtividade, quando em pequenas quantidades. Este efeito paradoxal é beneficiado em pequenas doses de estresse. Nessas pequenas quantidades de estresse oxidativo, ocasiona ajustes antioxidantes que auxiliam na capacidade de suporta quantidades maiores deste estresse em uma exigência física maior (CALABRESE; BALDWIN, 2002; JI, 2002; PEREIRA; SOUZA JR, 2005).

Figura 13 - Intervalos de confiança para as médias do comprimento para a espécie *B. pilosa*

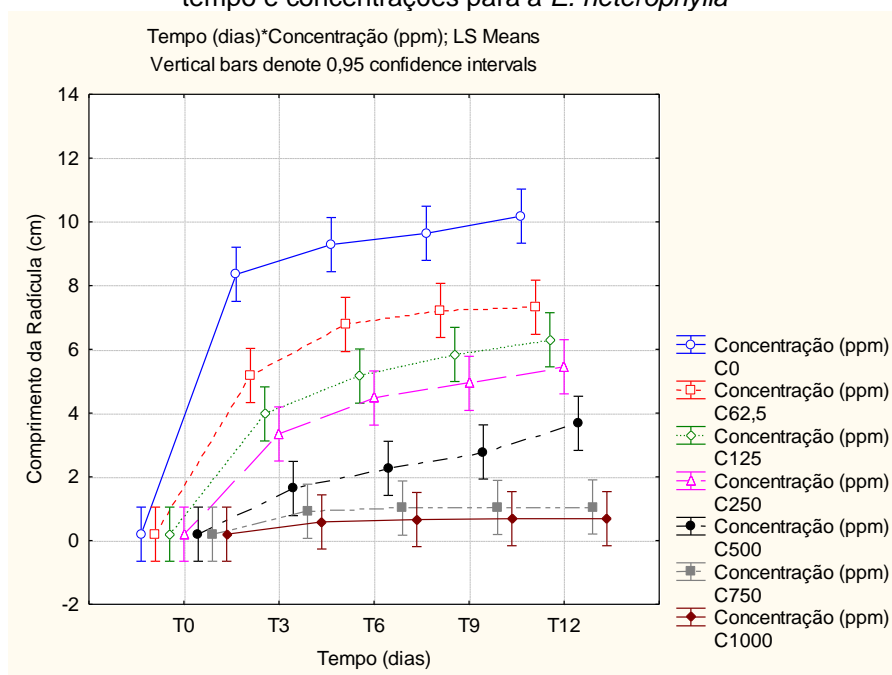




Fonte: Elaborada pela autora no software Statistica® (2019)

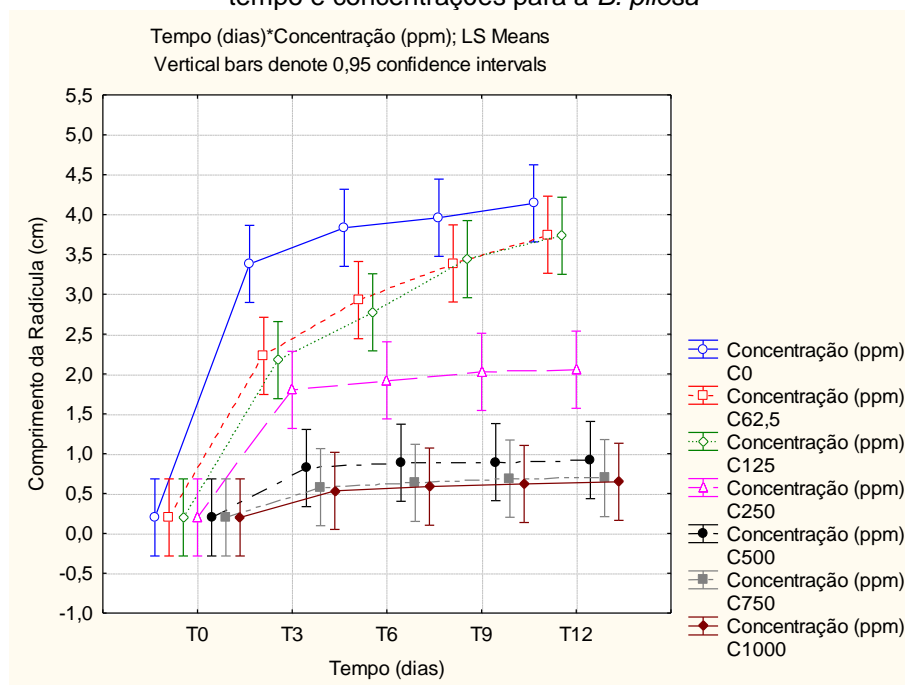
As Figuras 14 e 15 permitem visualizar melhor, como o aumento da concentração interferiu diretamente no comprimento da radícula com o decorrer do tempo. Sendo a concentração 750 e 1000 ppm a que apresentou a menor taxa de variação nas médias e uma baixa taxa de crescimento com o passar dos dias para ambas as espécies receptoras.

Figura 14 – Intervalo de confiança da média do comprimento da radícula em função das variáveis tempo e concentrações para a *E. heterophylla*



Fonte: Elaborada pela autora no softwae Statistica® (2019)

Figura 15 - Intervalo de confiança da média do comprimento da radícula em função das variáveis tempo e concentrações para a *B. pilosa*



Fonte: Elaborada pela autora no softwae Statistica® (2019)

5.1.2.3 Testes Tukey

Posteriormente ao teste F apresentar significância foi possível realizar o teste de Tukey, com a finalidade de testar as diferenças significativas entre duas médias. Confirmando os resultados obtidos anteriormente nos pré-testes. Com os dados adquiridos neste teste é possível mediante as letras subscritas ao lado das médias fazer esta comparação, onde letras iguais não apresentam diferenças significativas. Entretanto para o teste de Tukey foi levado em consideração o tempo e a concentração, visto que no pré-teste foi realizado apenas para concentração.

Para a *E. heterophylla*, representada na Tabela 6, na variável radícula em comparação ao tempo não houve diferença significativa entre o par 6 e 9 dias e no grupo 6,9 e 12 dias, e para a concentração os pares 125 e 250 ppm e 750 e 1000 ppm. Na variável do hipocótilo na comparação tempo, todas as médias apresentaram diferenças. E entre as concentrações as que não apresentaram diferenças: (i) controle, 62,5 e 250 ppm; e (ii) 750 e 1000 ppm.

Tabela 6 – Dados obtidos por meio do teste de Tukey para a espécie *E. heterophylla*

Tempo (dias)	Comprimento da radícula (cm)	Comprimento do hipocótilo (cm)	Comprimento da plântula (cm)
T0	0,20 ^d	0,10 ^e	0,30 ^d
T3	3,43 ^c	4,50 ^d	7,93 ^c
T6	4,24 ^{ab}	5,01 ^c	9,25 ^b
T9	4,60 ^{ab}	5,38 ^b	9,98 ^{ab}
T12	4,95 ^a	5,78 ^a	10,74 ^a
Concentração(ppm)			
C0	7,53 ^a	4,96 ^a	12,49 ^a
C62,5	5,34 ^b	4,91 ^a	10,25 ^b
C125	4,29 ^c	4,45 ^b	8,78 ^c
C250	3,68 ^c	5,10 ^a	8,74 ^c
C500	2,11 ^d	3,95 ^c	6,06 ^d
C750	0,85 ^e	2,93 ^d	3,66 ^e
C1000	0,56 ^e	2,93 ^d	3,50 ^e

Para a *B. pilosa*, representada na Tabela 7, para a variável radícula em relação ao tempo, o par 3 e 6 dias e o grupo 6, 9 e 12 dias não apresentaram diferenças significativas, já na concentração o par 62,5 e 125 ppm e o grupo 500, 750 e 1000 ppm. Para o hipocótilo, no tempo os pares 6 e 9 dias e 9 e 12 dias e na concentração os pares: (i) controle e 250 ppm; (ii) 62,5 e 125 ppm; e (iii) 750 e 1000 ppm.

Tabela 7 - Dados obtidos por meio do teste de Tukey para a espécie *B. pilosa*

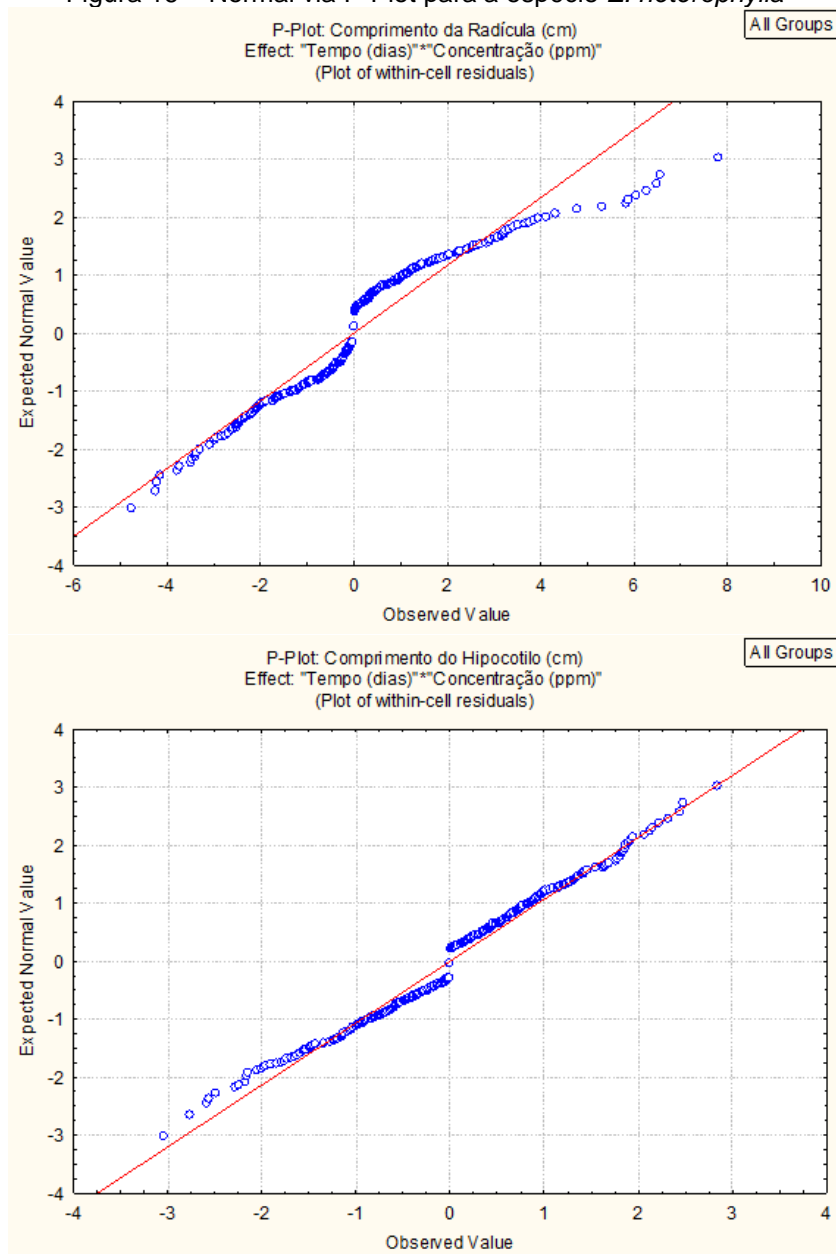
Tempo (dias)	Comprimento da radícula (cm)	Comprimento do hipocótilo (cm)	Comprimento da plântula (cm)
T0	0,20 ^c	0,10 ^d	0,30 ^d
T3	1,64 ^b	1,56 ^c	3,21 ^c
T6	1,94 ^{ab}	1,78 ^b	3,72 ^b
T9	2,14 ^a	1,90 ^{ab}	4,04 ^{ab}
T12	2,28 ^a	2,00 ^a	4,28 ^a
Concentração(ppm)			
C0	3,10 ^a	1,55 ^b	4,65 ^a
C62,5	2,50 ^b	1,81 ^a	4,30 ^a
C125	2,46 ^b	1,90 ^a	4,37 ^a
C250	1,60 ^c	1,61 ^b	3,21 ^b
C500	0,74 ^d	1,28 ^c	2,02 ^c
C750	0,56 ^d	1,04 ^d	1,60 ^c
C1000	0,52 ^d	1,10 ^d	1,61 ^c

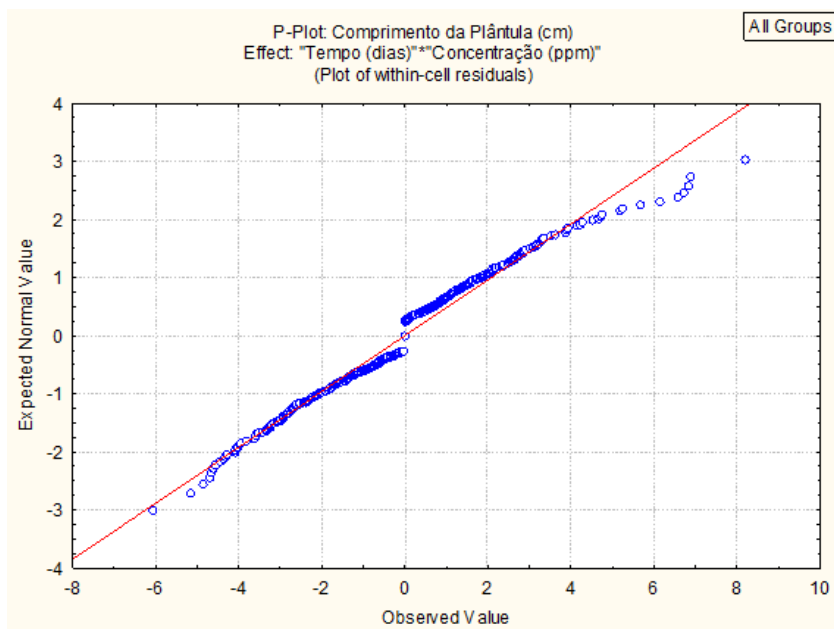
Por meio dessa análise é possível determinar quais as melhores concentrações, sendo preferível as concentrações que apresentam diferenças significativas. Desta forma as concentrações que não apresentam diferenças, é mais aconselhável optar-se sempre pela menor concentração, visto que o custo será inferior, pois a quantidade da substância será menor.

5.1.2.4 Análise da Normal P-Plot de resíduos

Para finalizar os testes, foi realizada a análise da normalidade pelos resíduos, por meio dos gráficos P-Plot, onde avalia a normalidade da distribuição dos erros. O gráfico mostra o valor normal esperado (reta vermelha) e valor observado (pontos azuis), representados pelas Figuras 16 e 17.

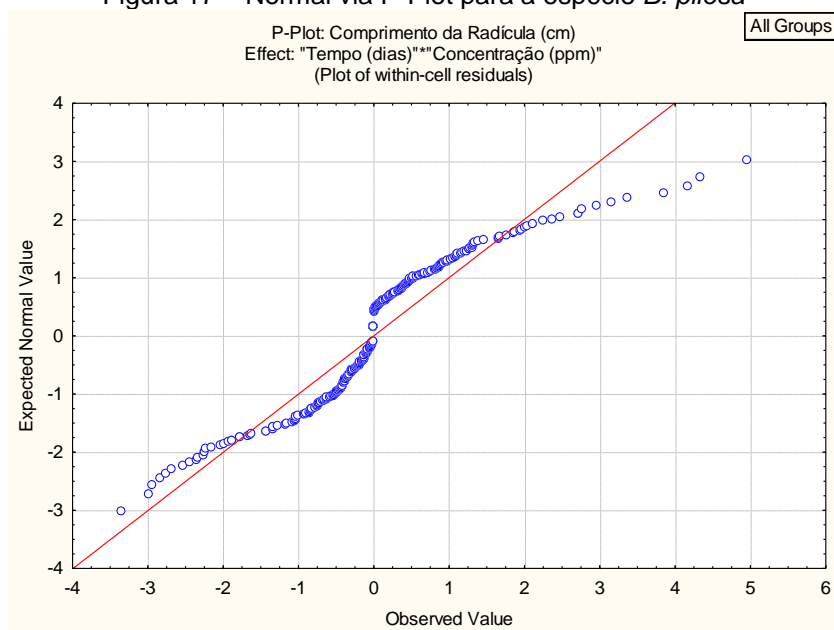
Foi realizado o teste para as três variáveis (radícula, hipocótilo e plântula) para as duas espécies. Como podemos observar em todos os gráficos os valores observados ficaram próximo da reta do esperado, alguns pontos ficaram afastados da reta, mas não o suficiente para influenciar na normalidade, ou seja dentro do intervalo permitido, assim confirmando a normalidade dos resíduos.

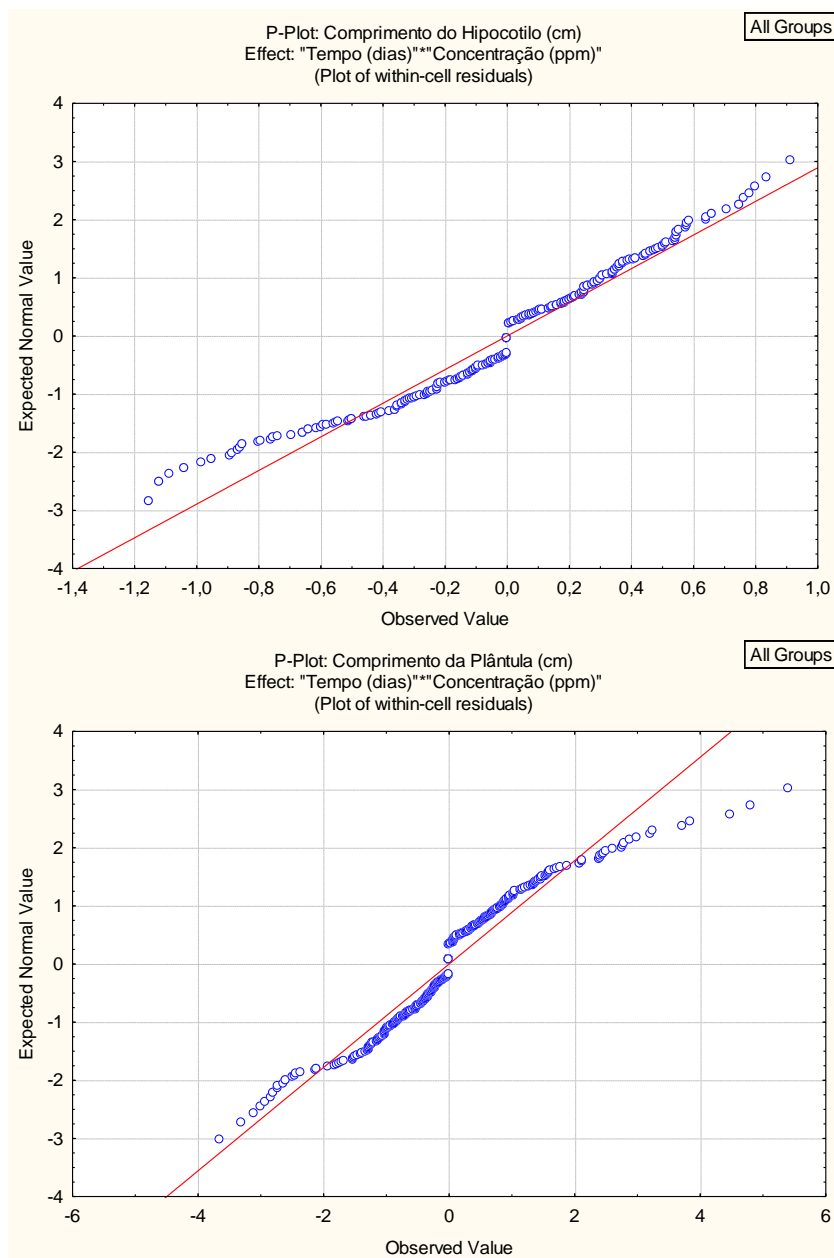
Figura 16 – Normal via P-Plot para a espécie *E. heterophylla*



Fonte: Elaborada pela autora no softwre Statistica® (2019)

Figura 17 – Normal via P-Plot para a espécie *B. pilosa*





Fonte: Elaborada pela autora no software Statistica® (2019)

5.1.3 Obtenção das Variáveis Porcentagem de Plântulas Normais (PPN), Porcentagem de Plântulas Anormais (PPA) e Porcentagem de Plântulas Mortas (PM)

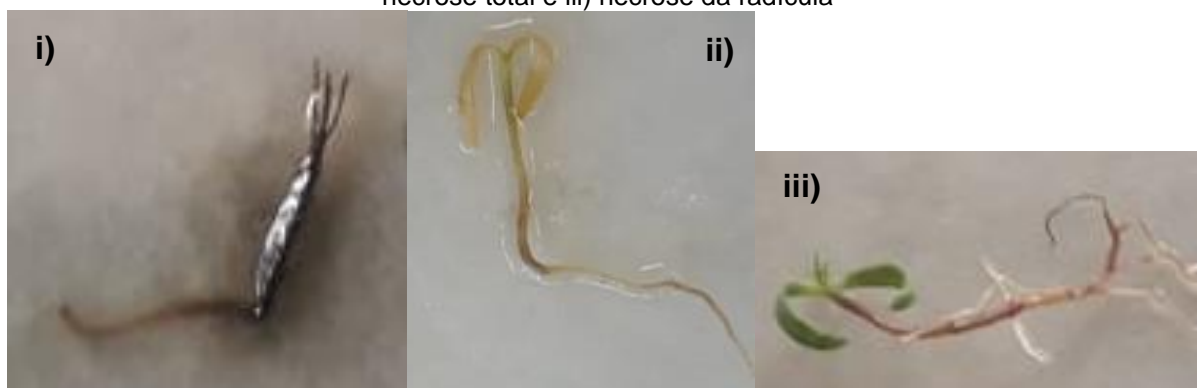
No último dia da análise foram realizadas a contagem de plântulas normais, anormais e mortas para ambas as espécies receptoras, Figuras 18 e 19. Para ser considerada plântula anormal, deve apresentar necrose em alguma parte da radícula e/ou hipocótilo ou alguma má formação, mesmo sendo o dano pequeno.

Figura 18 – Anomalias ocorrente na semente de *E. heterophylla* durante os testes i) plântula morta, ii) necrose total (hipocótilo e radícula) e iii) necrose da radícula



Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 19 - Anomalias ocorrentes nas sementes de *B. pilosa* durante os testes i) plântula morta, ii) necrose total e iii) necrose da radícula



Fonte: Autoria própria (2019)

Deste modo, foi possível calcular por meio das equações 1, 2 e 3, a porcentagem de plântulas normais (PPN), de plântulas anormais (PPA) e plântulas mortas (PM), sendo os resultados apresentadas nas Tabelas 8 e 9.

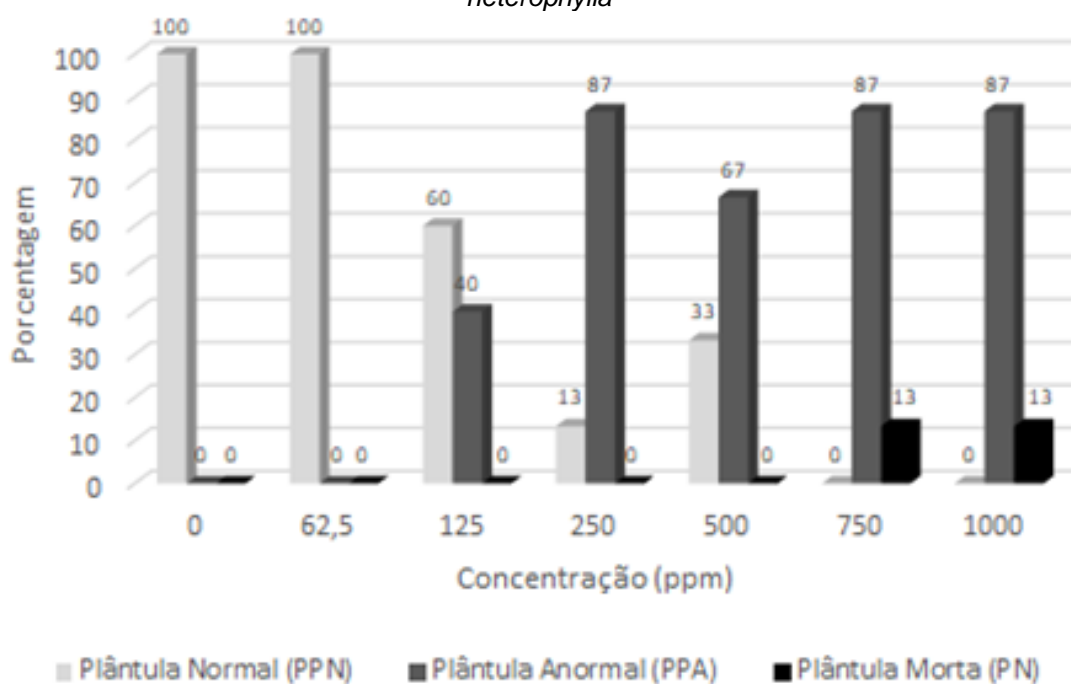
Tabela 8 – Variáveis PPN, PPA e PM obtidos no 12º dia da espécie receptora *E. heterophylla*

Concentração (ppm)	Porcentagem de plântulas normais (PPN)	Porcentagem plântulas anormais (PPA)	Porcentagem de plântulas mortas (PM)
0	100	0,00	0,00
62,5	100	0,00	0,00
125	60,00	40,00	0,00
250	13,33	86,67	0,00
500	33,33	66,67	0,00
750	0,00	86,67	13,33
1000	0,00	86,67	13,33
MÉDIA	43,81	52,38	3,81

Tabela 9 – Variáveis PPN, PPA e PM obtidos no 12º dia da espécie receptora *B. pilosa*

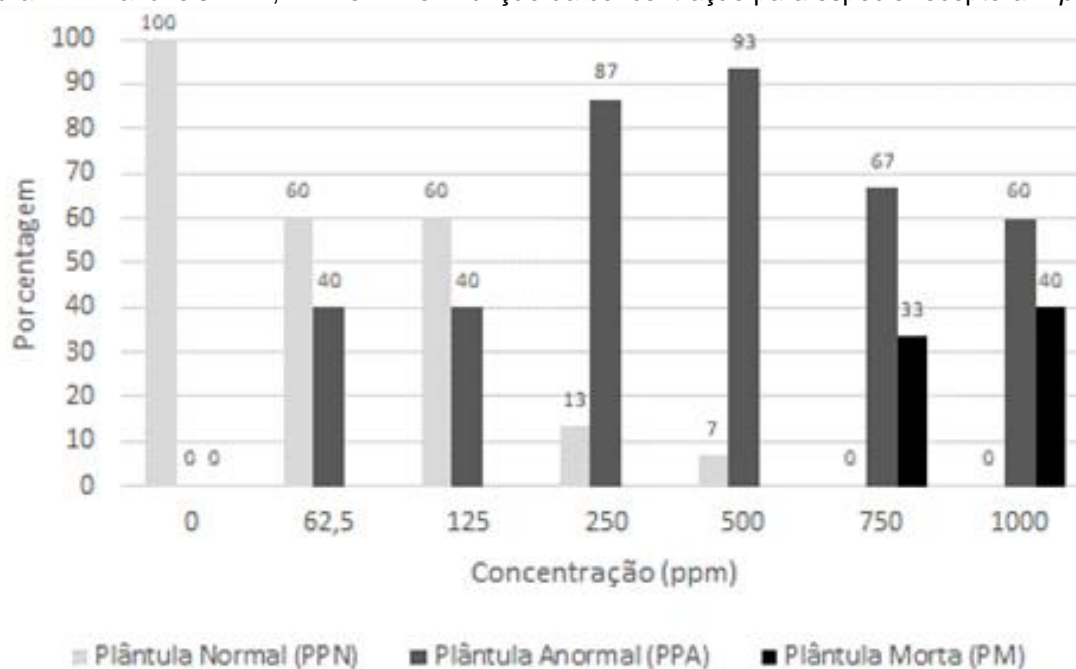
Concentração (ppm)	Porcentagem de plântulas normais (PPN)	Porcentagem plântulas anormais (PPA)	Porcentagem de plântulas mortas (PM)
0	100	0,00	0,00
62,5	60	40	0,00
125	60	40	0,00
250	13,33	86,67	0,00
500	6,67	93,33	0,00
750	0	66,67	33,33
1000	0	60	40
MÉDIA	34,29	55,24	24,44

Conforme os resultados das variáveis (PPN, PPA e PM) obtidos por meio dos testes alelopáticos apresentados nas Figuras 20 e 21, pode-se observar que os maiores danos em plântulas foram em questão de anormalidade, onde ocorreu necrose total ou parcial. A porcentagem de plântulas anormais foi superior as demais variáveis, sendo a de maior influência na espécie receptora de *B. pilosa* com 55,24% e 52,38% para a espécie *E. heterophylla*, comparadas ao número total de sementes. Sabe-se que a *B. pilosa* é uma planta com maior sensibilidade, quando comparada à *E. heterophylla*.

Figura 20 - Variáveis PPN, PPA e PM em comparação a concentração para espécie receptora *E. heterophylla*

Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 21 – Variáveis PPN, PPA e PM em função da concentração para espécie receptora *B.pilosa*



Fonte: Autoria própria (2019)

Na *E. heterophylla*, o controle e 62,5 ppm não apresentaram nenhuma anormalidade, devido à nenhuma ou baixa concentração. Com o aumento da concentração, começou a dar início ao surgimento de anormalidades, mesmo que pequenas, geralmente oxidação (necrose) na ponta da radícula. Já nas concentrações mais elevadas, 750 e 1000 ppm observou-se mortalidade de algumas plântulas e anormalidades em maiores extensões, ou seja, necrose em toda a radícula e em alguns casos no hipocótilo também.

Na *B. pilosa*, por ser uma planta mais sensível e com taxa de crescimento menor quando comparada a *E. heterophylla*, a partir da concentração 62,5 já apresentou anormalidades. Em questão de mortalidade, também apenas em 750 e 1000 ppm, mas com uma taxa maior, além das oxidações serem maiores.

Conforme discutido anteriormente, para a espécie *B. pilosa* entre o grupo 500, 750 e 1000 ppm não apresentaram diferença significativas. Assim aconselha-se a escolha da menor concentração para realizar o teste. No entanto, quando comparados com a variável de plântulas mortas é visível que apenas a partir do 750 ppm que surgem a mortalidade. Desta forma, é mais relevante escolher a concentração 750

ppm, visto que já ocorre uma diminuição na quantidade de substância utilizada, quando comparadas a 1000 ppm.

Qualquer inibição que ocorra, mesmo pequena, reduz a competitividade entre as plantas daninhas, favorecendo o desenvolvimento da espécie de interesse, ou seja, aumentando a população, sendo de grande importância para a economia, além de ter implicações ecológicas favoráveis. (SOUZA FILHO; RODRIGUES; RODRIGUES, 1997).

Assim conclui-se, que a maior parte da anormalidade foi visível na radícula, devido a absorção ocorrer nesta parte radicular. Qualquer anormalidade ou pequena porcentagem de mortalidade é essencial, visto que até mesmo pequenas anormalidades já interferem no crescimento das plântulas. Como já discutido sobre a absorção de nutriente, qualquer mínimo dano é desejável, visto que um dano na radícula irá influenciar futuramente na absorção dos nutrientes.

6 CONCLUSÕES

O ácido salicílico foi eficiente quando testado como aleloquímico, visto que apresentou resultados satisfatórios na redução do comprimento da radícula e da plântula, proporcionais ao aumento da concentração da solução utilizada. No comprimento do hipocótilo, nas menores concentrações, houve interferência devido à competitividade das sementes, sendo então sugerido uma diminuição de sementes dispostas nas placas.

A maior interferência observada foi no comprimento da radícula, visto que é a principal forma de absorção dos nutrientes. Ocorrendo uma redução da radícula para a *E. heterophylla* de 10,2 cm para 0,7 cm e para a *B. pilosa* 4,1 cm para 0,6 cm. Para a influência do comprimento a *E. heterophylla* foi o mais influenciado.

Outro resultado relevante foi que, em concentrações altas, principalmente 750 e 1000 ppm, apresentaram taxa de anormalidade e de mortalidade, fatores importantes para a eliminação ou redução dessas plantas daninhas. Além de confirmar que qualquer anomalia interfere na taxa de crescimento da plântula. Sendo a espécie *B. pilosa* foi a mais influência em termo de anormalidade e mortalidade.

Apesar de algumas interferências, o resultado foi satisfatório, visto que os testes estatísticos comprovaram que houve diferença estatística em todos os comprimentos, principalmente na radícula, parte fundamental para absorção dos nutrientes.

Com base nesses resultados é possível determinar uma faixa de concentração base. Com a finalidade de utilizar em outras substâncias que apresentam potencial alelopático, liberadas por plantas, e essas substâncias de difícil obtenção, além de normalmente isoladas e purificadas em muito pequena quantidade. Sendo possível assim escolher as concentrações que apresentaram diferenças significativas entre elas. Quando não apresentarem diferenças, recomenda-se a menor concentração, a fim de evitar custos. Os resultados deste trabalho, servirá por exemplo, para a definição de uma faixa de concentração de soluções de piplartina, a ser utilizada na realização de testes alelopáticos utilizando como planta alvo a *E. heterophylla* e *B. pilosa*.

7 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. de; ALMEIDA, C. V. de. **Morfologia da raiz de plantas com sementes**. Piracicaba: Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2014.
- ALVARINA, C. et al. **Medicina Popular**. [s.l: s.n.].
- BLUM, U. Fate of Phenolic Allelochemicals in Soils - the Role of Soil and Rhizosphere Microorganisms. In: MACÍAS, F. A. et al. (Ed.). **Allelopathy**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2004.
- BRASIL. **REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES**. Brasília: Biblioteca Nacional de Agricultura – BINAGRI, 2009.
- CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. **Applications of hormesis in toxicology, risk assessment and chemotherapeutics** *Trends in Pharmacological Sciences*, 1 jul. 2002. .
- EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, 1996.
- ERVANARIUM. **Picão Preto**. Disponível em: <<https://ervanarium.com.br/planta/picao-preto-planta-medicinal/>>. Acesso em: 6 nov. 2019.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegeta**, p. 175–204, 2000.
- GONÇALVES, V. D. et al. Allelopathic potential of Inga laurina leaf extract on lettuce seed germination. **Científica**, 2016.
- GOVERNMENT, Q. **Euphorbia heterophylla**. Disponível em: <https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/euphorbia_heterophylla.htm>. Acesso em: 6 nov. 2019.
- HEAP, I. M. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. In: Pesticide Science, **Anais...**1997.
- HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R. M. **Allelopathy and exotic plant invasion** *Plant and Soil*, 2003. .
- INDERJIT, K. M. M. DAKSHINI, C. L. F. **Principles and practices in plant ecology : allelochemical interactions**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1999.
- INDERJIT et al. **The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy** *Trends in Ecology and Evolution*, 2011. .
- INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M. The nature of the interference potential of *Pluchea lanceolata* (DC) C B Clarke (Asteraceae). **Plant and Soil: An International Journal**

on **Plant-Soil Relationships**, 1990.

Jl, L. L. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. In: Annals of the New York Academy of Sciences, **Anais...New York Academy of Sciences**, 2002.

KARAM, D. MANEJO INTEGRADO DE PLANTAS DANINHAS. **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PLANTAS DANINHAS NO SEMI-ÁRIDO**, p. 151–158, 2007. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/72933/1/Manejo-integrado-5.pdf>>. Acesso em: 7 jun. 2019.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas Infestante e nocivas**. São Paulo: BASF, 1933.

LOESCH, C. **Probabilidade e estatística**. 1. ed. Rio de Janeiro: GEN, 2015.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. São Paulo: Plantarum, 1991.

MEYER, L.; QUADROS, K. E.; ZENI, A. L. B. Etnobotânica na comunidade de Santa Bárbara, Ascurra, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, p. 258–266, 2012.

MOLISCH, H. **Der Einfluss einer Pflanze auf die Andere: Allelopathie**. 1. ed. [s.l.] Nature Publishing Group, 1937. v. 141

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenharia**. 6. ed. Rio de Janeiro: GEN, 2016.

PASSOS, M. M. B. dos et al. Disseminação cultural das garrafadas no Brasil: um paralelo entre medicina popular e legislação sanitária. **Saúde Debate**, v. 42, n. 116, p. 248–262, jan. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-11042018000100248&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 15 dez. 2019.

PEREIRA, B.; SOUZA JR, T. P. de. Adaptação e rendimento físico – considerações biológicas e antropológicas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, p. 65, 2005.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. 2. ed. Brasília: AGIPLAN - Ministério da Agricultura, 1985.

PUTNAM, A. R. Weed allelopathy. In: **Weed Physiology: Volume I: Reproduction and Ecophysiology**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2018.

RASKIN, I. Role of Salicylic Acid in Plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, n. 1, p. 439–463, 28 jun. 1992. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pp.43.060192.002255>>. Acesso em: 31 maio. 2019.

REIS, B. C. M.; PINTO, R. L. M.; SOARES, C. L. Aplicação da análise estatística via teste de Tukey e análise de variância para a avaliação dos parâmetros de qualidade

de corte em um processo de fabricação. In: XXXVI Encontro Nacional de engenharia de produção, **Anais...**2016.

SÁNCHEZ, D. C. **Optimización de bioensayos alelopáticos: aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales.** 2002. 2002. Disponível em: <<https://rodin.uca.es/xmlui/handle/10498/14839>>. Acesso em: 24 maio. 2019.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. **Editora UFV**, 2007.

SILVA, H. L. da. **POTENCIAL ALELOPÁTICO DA CULTURA DO GIRASSOL (*Helianthus annuus* L.).** 2009. 2009. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/251/1/PB_PPGA_M_Silva%2CHenriqueLuisda_2009.pdf>. Acesso em: 4 jun. 2019.

SILVA, M. G. F. da. **Avaliação do potencial alelopático de raízes de capim annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) e estudo fitoquímico.** 2014. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/handle/1/1113>>. Acesso em: 24 maio. 2019.

SILVA, R. C. **Teste de comparações de Média.** 2010. Universidade Estadual da Paraíba, 2010.

SOUZA, F. A. P. S.; ALVES, S. M. Potencial alelopático de plantas de Acapu (Vouacapoua americana): Efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. **Planta Daninha, Viçosa- MG**, 2000.

SOUZA FILHO, A. P. da S.; RODRIGUES, L. R. de A.; RODRIGUES, T. de J. D. Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 165–170, 1997.

SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. **Planta Daninha**, 2010.

VLOT, A. C. D. A. D. D. F. K. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. **Annual Review of Phytopathology**, p. 177–206, 2009.