

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ANDRESSA DANIELLI PLETSCH

**EFEITOS MORFO-ANATÔMICOS DO EXTRATO DE
SPHAGNETICOLA TRILOBATA (L.) PRUSKI EM SEMENTES E
PLÂNTULAS DE CORDA-DE-VIOLA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

SANTA HELENA

2021

ANDRESSA DANIELLI PLETSCH

EFEITOS MORFO-ANATÔMICOS DO EXTRATO DE *SPHAGNETICOLA TRILOBATA* (L.) PRUSKI EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE CORDA-DE-VIOLA

MORPHO-ANATOMICAL EFFECTS OF *SPHAGNETICOLA TRILOBATA* (L.) PRUSKI EXTRACT ON MORNING GLORY SEEDS AND SEEDLINGS

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dra. Rejane Barbosa de Oliveira

SANTA HELENA

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

ANDRESSA DANIELLI PLETSCH

EFEITOS MORFO-ANATÔMICOS DO EXTRATO DE *SPHAGNETICOLA TRILOBATA* (L.) PRUSKI (VEDÉLIA) EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE CORDA-DE-VIOLA

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 17 de agosto de 2021, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas, outorgado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A aluna Andressa Danielli Pletsch foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Tit. Edicléia Bonini
UTFPR

Prof. Tit. Leonardo Biral
UTFPR

Prof. Tit. Rejane Barbosa De Oliveira
Orientador(a) - UTFPR

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

Dedico este trabalho à minha avó Araci Tereza Tessaro que sempre esteve presente em minha carreira acadêmica me dando todo o apoio e incentivo, lutando pelo meu sucesso até seus últimos dias, Obrigada Nona.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pelo apoio e pela oportunidade da realização deste trabalho.

A minha orientadora, Prof. Dr^a . Rejane Barbosa de Oliveira pelos ensinamentos, dedicação e amizade. Agradeço o privilégio por esses anos de convivência.

À Instituição Araucária pelo apoio financeiro.

À colega Ana Paula Humberto, pelo convívio, amizade e ajuda nas análises.

Ao colega Daniel Reis Soares Silva, pelo convívio, amizade e ajuda nos procedimentos.

Aos colegas de Graduação, em especial a Maíra Thais de Lima, Fernanda Rodrigues, Daniel Reis Soares Silva, Nathalie Martins, pelas experiências compartilhadas desde o início.

Aos Técnicos de laboratório e funcionários da UTFPR.

A todas as pessoas que de forma direta ou indireta ajudaram na concretização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Método de lavagem foliar	19
Figura 2: Sementes da corda-de-viola germinadas após 15h do plaqueamento.	21
Figura 3: Radículas da corda-de-viola após seis dias do plaqueamento.	Erro!
Indicador não definido.	
Figura 4: Desenvolvimento do embrião das sementes submetidas aos diferentes tratamentos após 15h do plaqueamento.	22
Figura 5: Cortes transversais das radículas do grupo controle.	23
Figura 6: Cortes transversais das radículas do grupo tratado com Glifosato 1 mg/mL	24
Figura 7: Corte transversal da radícula tratada com extrato de lavagem foliar 1mg/m	25
Figura 8: Placas dos tratamentos.....	25

RESUMO

PLETSCH, Andressa Danielli. **EFEITOS MORFO-ANATÔMICOS DO EXTRATO DE SPHAGNETICOLA TRILOBATA (L.) PRUSKI (VEDÉLIA) EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE CORDA-DE-VIOLA.** 2021. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2021.

Estudos vêm demonstrando que extratos de diferentes espécies da família Asteraceae são capazes de inibir a germinação de plantas daninhas. Assim, o objetivo deste trabalho é analisar possíveis modificações morfo-anatômicas em sementes de *Ipomoea triloba* L. (corda-de-viola) tratadas com extrato da espécie *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (vedélia), com o intuito de avaliar a utilidade da vedélia no combate à infestação pela corda-de-viola. Para isso, foram coletados folhas e caules da vedélia na cidade de Santa Helena – PR, os quais foram secos em estufas de ar circulante a 45°C. As sementes foram submetidas à quebra da dormência por choque térmico a 50°C e desinfestação em hipoclorito de sódio 10%. Para o ensaio de germinação *in vitro*, 20 sementes foram colocadas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com a solução controle (água destilada) e com as soluções testes (extrato e glifosato nas concentrações de 1,0 mg/ml). A germinação das sementes foi realizada em BOD com umidade de 70%, temperatura a 35°C e ciclo de claro-escuro de 12h. Nos estudos morfológicos realizados, verificou-se que o extrato de lavagem foliar da vedélia a 1mg/ml causa alterações no padrão de fissura e fragmentação da casca das sementes da corda-de-viola, bem como alterações no desenvolvimento da radícula. As alterações nessas características também foram observadas nas sementes tratadas com o glifosato, sugerindo que a vedélia pode conter substâncias de interesse para o desenvolvimento de novo herbicida para o controle da corda-de viola.

Palavras-chave: *Ipomoea*; Germinação; Herbicida.

Abstract

PLETSCH, Andressa Danielli. **MORPHO-ANATOMIC EFFECTS OF SPHAGNETICOLA TRILOBATA (L.) PRUSKI (WEDELIA) EXTRACT ON MORNING GLORY SEEDS AND SEEDLINGS.** 2021. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2021.

Studies have shown that extracts from different species of the Asteraceae family are capable of inhibiting weed germination. Thus, the objective of this work is to analyse possible morpho-anatomical modifications in seeds of *Ipomoea triloba* L. (morning glory) treated with extract of the species *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (wedelia), in order to evaluate the usefulness of the wedelia in the infestation control by the morning glory weed. For this, leaves and stems of the wedelia were collected in the city of Santa Helena – PR and dried in air-circulation ovens at 45°C. The seeds were submitted to dormancy breaking by thermal shock at 50°C and disinfestation in 10% sodium hypochlorite. For the *in vitro* germination test, 20 seeds were placed in Petri dishes containing filter paper moistened with the control solution (distilled water) and with the test solutions (extract and glyphosate at concentrations of 1.0 mg/ml). Seed germination was carried out in BOD with 70% humidity, temperature at 35°C and 12h light-dark cycle. In the morphological studies carried out, it was found that the wedelia leaf rinsing extract at 1.0 mg/ml causes alterations in the fissure pattern and fragmentation of the coat of the morning glory seeds, as well as alterations in the radicle development. Changes in these characteristics were also observed in seeds treated with glyphosate, suggesting that wedelia may contain substances of interest for the development of a new herbicide to control the viola string.

Keywords: *Ipomoea*; Germination; Herbicide.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	10
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1	IMPACTOS DE AGROTÓXICOS NO MEIO AMBIENTE	12
3.2	O IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS NOS SERES HUMANOS	13
3.3	ALELOPATIA.....	15
3.4	A CORDA-DE-VIOLA (<i>IPOMOEA TRILOBATA</i> L.)	16
3.5	A VEDÉLIA (<i>SPHAGNETICOLA TRILOBATA</i> (L.) PRUSKI)	16
4	PRESSUPOSTOS METODOLÓGICO	18
4.1	COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	18
4.2	PREPARO DO EXTRATO	18
4.3	ENSAIOS DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES.....	19
4.4	ANÁLISES MORFOLÓGICAS	20
4.5	PREPARO E ANÁLISE DE CORTES HISTOLÓGICOS	20
5	RESULTADOS	20
6	DISCUSSÃO	26
7	CONCLUSÕES	29
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
9	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO GERAL

Plantas infestantes podem ser sensíveis ou não aos herbicidas comerciais existentes atualmente no mercado. Uma planta sensível é aquela que morre, ou que sofre modificações no seu crescimento e desenvolvimento após a aplicação de herbicidas.

A ampla variabilidade genética é uma das principais características das plantas daninhas que permite sua adaptação e sobrevivência em diversas condições ambientais, sendo naturais da própria espécie. Devido a essa capacidade de adaptação, em uma população específica de plantas, existem aquelas que toleram mais, e aquelas que toleram menos um determinado tipo de defensivo agrícola. Adicionalmente, a pressão de seleção exercida pela aplicação repetitiva de um herbicida aumenta a frequência dos indivíduos tolerantes em uma população. Essa seleção de biótipos resistentes tem ocorrido para todas as classes de herbicidas, embora alguns mecanismos de ação tenham selecionado biótipos resistentes com mais frequência que outros (CHRISTOFFOLETI, 2003). Assim, a resistência pode ser definida como a capacidade adquirida da planta em sobreviver a determinada dose de um herbicida, em condições normais, podendo essa característica ser específica de um indivíduo, não atingindo necessariamente toda a população (VARGAS; ROMAN, 2006). Assim, muitas espécies de plantas daninhas encontram-se hoje resistentes a muitos dos produtos comercializados, e busca por novos herbicidas torna-se importante para a manutenção da produtividade das lavouras.

Estudos vêm demonstrando que compostos isolados de extratos de lavagem foliar de diferentes espécies da família Asteraceae são capazes de inibir a germinação de plantas daninhas (DUKE, 1987). Um estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa demonstrou que o extrato de lavagem foliar de uma espécie dessa família, *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski, conhecida popularmente como vedélia, foi capaz de inibir o crescimento da radícula de plântulas da corda-de-viola (*Ipomoea triloba* L.), uma planta daninha que infesta diferentes tipos de lavoura (SILVA, 2018). Os resultados obtidos nos levaram a pesquisar de forma mais detalhada esse efeito.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

O objetivo deste trabalho é analisar possíveis modificações morfo-anatômicas em sementes de corda-de-viola tratadas com extratos das folhas da vedélia, com o intuito de avaliar a utilidade desses extratos no combate à infestação pela corda-de-viola.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtenção de extrato rico em lactonas sesquiterpênicas a partir das folhas da vedélia;
- Analisar possíveis modificações morfo-anatômicas nas sementes de corda-de-viola tratadas com o extrato obtido;
- Comparar os resultados do efeito do extrato com o efeito do herbicida glifosato sobre as sementes testadas.
- Buscar novos compostos com potencial bioherbicida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A crescente demanda por frutas, grãos e hortaliças tem estimulado os agricultores a utilizar uma maior variedade de agrotóxicos para manter os altos índices de produtividade e reduzir perdas. Contudo, os agrotóxicos utilizados no controle de pragas e doenças em ambientes agrícolas, urbanos, hídricos e industriais podem ser potencialmente nocivos à saúde humana (RIBEIRO; VIEIRA, 2010).

Com o grande incentivo às campanhas publicitárias patrocinadas pelas empresas multinacionais, estimulou-se o consumo e o uso de agrotóxicos de forma indiscriminada, acarretando no desenvolvimento de resistências cada vez maiores das pragas como microrganismos fitopatogênicos e plantas infestantes, em função

de mutações genéticas que aumentam sua variabilidade genética. O consumo exagerado de agrotóxicos pode gerar um círculo vicioso, pois quanto mais se usa, mais desequilíbrio é causado, levando a uma maior necessidade de uso em doses cada vez mais altas. Esse ciclo leva a uma maior dependência de insumos químicos por parte de produtores, resultado de uma visão equivocada do processo agrícola (KIM et al., 2012).

Os compostos presentes em extratos de plantas vêm se tornando uma medida alternativa para o controle de plantas daninhas (HINZ et al., 2014). Esta medida de controle apresenta elevado potencial ecológico para substituir o emprego dos herbicidas sintéticos por meio da utilização de metabólitos secundários de extratos de plantas e de microrganismos (BRUN et al., 2016; BUNKOED; WICHITTRAKARN; LAOSINWATTANA, 2017).

3.1 Impactos de agrotóxicos no Meio Ambiente

O uso extensivo de agrotóxicos representa uma ameaça ao ecossistema, podendo levar à destruição do ambiente natural e das fontes alimentares de certas aves e anfíbios, afetando diretamente a reprodução e sobrevivência de animais aquáticos, resultando na redução das populações (AMARANTE JUNIOR; RODRIGUES; SANTOS, 2002). Os impactos ambientais causados dependem do ambiente de aplicação e de características como retenção, transferência, transporte e transformação dos componentes químicos presentes nos agrotóxicos (RIBEIRO; VIEIRA, 2010). Levando-se em consideração as informações toxicológicas das moléculas presentes nos agrotóxicos, estes também exibem atividade bioquímica em espécies não-alvo, afetando diretamente a reprodução e sobrevivência de plantas e animais aquáticos. A morte dessas plantas, que são responsáveis por fornecer até 80% do oxigênio dissolvido aos organismos aquáticos, leva à diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido e sufocação desses animais. Podendo causar também danos ao meio ambiente e colocar em risco a saúde das pessoas que consomem produtos com excesso de agrotóxicos (LIMA et al., 2013; SKOVRONSKI, 2019). Devido a isso, vários estudos estão sendo conduzidos para avaliar os efeitos dos herbicidas em diferentes espécies e no meio ambiente.

Em sua pesquisa, Amarante Junior e colaboradores (2002) constataram que o glifosato pode impedir funções enzimáticas nos animais. Ao ser injetado no abdômen de ratos, causou diminuição da atividade de algumas enzimas. Esses autores atestaram que o glifosato apresenta grande toxicidade também em plantas não-alvo, já que se trata de um herbicida não-seletivo, exceto em caules suberizados. Nos ambientes aquáticos, a toxicidade do glifosato é intensificada devido ao aumento da temperatura e do pH. O uso constante tem resultado na maior resistência de ervas daninhas por meio de mecanismos da seleção natural que beneficiam biótipos resistentes, preexistentes na população, acarretando o aumento da quantidade destes indivíduos. Posto isso, a população de plantas resistentes poderá aumentar ao nível de comprometer o controle das ervas.

Em seu trabalho, Skovronski (2019), demonstrou que a mistura dos agrotóxicos 2,4 D, e glifosato alterou a atividade natatória de girinos de forma significativa em todas as concentrações. Foi observada maior frequência de indivíduos com contrações espasmódicas, tremores ou convulsões e ao final dos testes, apenas uma pequena quantidade de girinos sobreviveu. Duas espécies de anfíbios do gênero *Physalaemus* expostas a concentrações legalmente permitidas de glifosato tiveram malformações em seus girinos, com formação de edemas, mudanças na morfologia do intestino, olho, cor do epitélio e morfologia corporal, como desvio na coluna e boca. Apesar dos agrotóxicos citados serem desenvolvidos para controle de plantas infestantes na agricultura, a exposição principalmente, de *P. cuvieri* à mistura de 2,4 D e glifosato, mesmo em baixa concentração, configurou alto risco ecológico para esta espécie, podendo afetar sua sobrevivência, demonstrando assim sua alta sensibilidade à estas substâncias.

3.2 Os impactos dos agrotóxicos nos Seres Humanos

A partir do momento da aplicação dos agrotóxicos, eles passam a ser dispersados no meio ambiente de modo que irão ser transportados pelos ventos e pela água das chuvas, causando assim a contaminação em vários pontos do sistema hidrológico. Saindo do ponto de aplicação, o agrotóxico atinge as águas superficiais por escoamento, e as subterrâneas por percolação e lixiviação no solo. Sendo assim, a contaminação de um sistema hídrico não representa apenas a

contaminação da água consumida pela população local, mas também a contaminação de toda a população que é abastecida por esta água contaminada com componentes comprovadamente prejudiciais à saúde humana, diferentemente da maioria dos componentes naturais (LIMA et al., 2013).

Além de ser consumida diretamente pelos humanos, a água contaminada é consumida também por animais e utilizada para irrigar lavouras, entrando assim nas cadeias alimentares em todos os níveis tróficos. Essa entrada na cadeia alimentar leva ao efeito de magnificação biológica, que é um fenômeno caracterizado pelo acúmulo progressivo de substâncias de um nível trófico para outro ao longo da teia alimentar. Como exemplo, tem-se o DDT que se acumula em cada nível trófico, tornando-se mais concentrado e podendo levar à morte de vertebrados e predadores, incluindo os humanos (CARRARO, 1997).

Os efeitos da magnificação podem ser agravados pelo processo de estoques de matéria-prima, os quais com o intuito de preservar o material por mais tempo, também mantêm o agroquímico nesta matéria por mais tempo, inclusive após o processo de industrialização (CARRARO, 1997). Para controlar esses níveis, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) realiza estudos periódicos em alimentos por todo o país. Em estudo recente desenvolvido por esse programa envolvendo amostras coletadas dos 26 estados brasileiros, cerca de um terço dos alimentos que são consumidos diariamente no Brasil apresentam vestígios de agrotóxicos acima do permitido por lei (ANVISA, 2014). Esses resultados são preocupantes, visto que trabalhos relatam que dentre as intoxicações exógenas conhecidas, a intoxicação por agrotóxicos ocupa o segundo lugar, causando mais mortes do que outras formas de intoxicação.

A intoxicação aguda por agrotóxicos favorece o surgimento de malformações congênitas, alguns tipos de cânceres, distúrbios endócrinos, neurológicos e transtornos psiquiátricos (ANVISA, 2014). Dentre os diversos fatores que auxiliam para as intoxicações, Pignati (2018) ressalta que a desinformação e o despreparo dos operadores dos sistemas de saúde, principalmente em regiões produtoras do Brasil, podem fazer com que casos de distúrbios alimentares associados a agrotóxicos passem despercebidos, especialmente na população infanto-juvenil. Essa desinformação é preocupante principalmente para os indivíduos que realizam a aplicação dos agrotóxicos, os quais correm sérios riscos de se intoxicar pelo uso

incorreto de equipamentos de proteção, bem como uso incorreto dos produtos (PIGNATI, 2018).

Trabalhos relatam que devido à exposição imprópria aos agrotóxicos, foram observados valores de intoxicações e óbitos variáveis no decorrer dos últimos anos, sendo apontados números de notificações para intoxicação mais evidentes nas regiões centro-sul do Brasil, enquanto a letalidade foi mais evidente na região nordeste (CARRARO, 1997; SILVA et al., 2019).

Amarante Junior e colaboradores (2002); Silva e colaboradores (2019), descrevem os efeitos que podem ser esperados em casos de ingestão de grandes quantidades de agroquímicos, ou seja, níveis agudos e crônicos em seres humanos, sendo assim: dermatite de contato, irritação do aparelho digestório, onde são majoritariamente absorvidas as toxinas, portanto, síndrome tóxica após a ingestão de doses elevadas, epigastria, ulceração ou lesão de mucosa gástrica, hipertermia, anúria, oligúria, hipotensão, conjuntivite, edema orbital, choque cardiogênico, arritmias cardíacas, edema pulmonar não-carcinogênico, pneumonite, necrose tubular aguda, elevação de enzimas hepáticas, aumento da quantidade de leucócitos, acidose metabólica e hipercalemia, irritação dos olhos e mucosas, náuseas, vômitos e diarreia.

Devido ao exposto acima, é importante realizar pesquisas que visem novos herbicidas que sejam menos agressivos ao meio ambiente e à saúde da população.

3.3 Alelopatia

Alelopatia pode ser definida como efeito que inibe direta ou indiretamente, ou beneficia a influência de uma planta em outra planta ao produzir substâncias químicas liberadas no meio ambiente. Os compostos alelopáticos vêm do metabolismo secundário das plantas e são liberados no meio ambiente por meio da decomposição de matéria orgânica, exsudados de raízes ou substâncias voláteis do ar (COSTA et al., 2018).

A inibição da germinação ou o crescimento de ervas daninhas por meio de tratamentos alelopáticos se apresenta como uma alternativa ao manejo integrado das plantas infestantes, uma vez que o uso potencial de extratos como agentes químicos naturais e a existência de novos compostos presentes em extratos, pode

ser usado como herbicida biológico substituindo, portanto, os herbicidas convencionais de alta toxicidade (COSTA et al., 2018).

3.4 Corda-de-viola (*Ipomoea trilobata* L.)

Ipomoea é um gênero grande e diversificado da família Convolvulaceae. Compreende cerca de 650 espécies em distribuição cosmopolita, sendo que 149 são brasileiras (PINHEIRO, 2010). Podem ser apreciadas como ornamentais devido as suas flores serem coloridas; infestantes devido sua capacidade competitiva ou, ainda, tóxicas devido aos metabólitos secundários que produz (PINHEIRO, 2010).

Dentro desse gênero, evidencia-se a espécie *I. triloba*, a qual é uma planta infestante popularmente conhecida como corda-de-viola. Essa espécie possui hábito de vida trepador, geralmente infestante de lavouras na região sul do Brasil, ocasionando grandes prejuízos nas lavouras além de ser altamente competitiva. Essa espécie também vem se tornando problemática tanto em áreas onde o controle das plantas infestantes baseia-se no uso intensivo do glifosato, como em áreas com colheita mecânica de cana-de-açúcar e cultivo de milho (PINHEIRO, 2010). A condição infestante dessa espécie é acentuada pela sua alta produção de sementes dormentes (cerca de 300 sementes por indivíduo), gerando fluxos de germinação em diferentes períodos do ano (KISSMANN, 1997). Dessa forma, é importante a busca por novos compostos capazes de controlar a proliferação dessa espécie nas lavouras.

3.5 Vedélia (*Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski)

A espécie *S. trilobata*, conhecida popularmente por pseudo-arnica, margaridão, picão-da-praia ou vedélia, pertence à família Asteraceae, uma das maiores famílias de plantas com cerca de 1.600 gêneros e 25.000 espécies. No Brasil, a família está distribuída em todo território com aproximadamente 2.000 espécies e 250 gêneros. A espécie é nativa da América Central e América do Sul, porém pode ser encontrada em áreas tropicais úmidas, como nas Índias Ocidentais, Havaí, Sul da Flórida, Índia e Bangladesh (BACCARIN et al., 2009).

As espécies da família Asteraceae, incluindo na vedélia, podem ser quimicamente caracterizadas pela presença de metabólitos secundários denominados lactonas sesquiterpênicas (LSTs). As LSTs são compostas de 15 carbonos, de ocorrência principalmente em Asteraceae, Apiaceae, Burseraceae, Lauraceae e Magnoliaceae (PICMAN, 1986). Embora haja um grande número de trabalhos descrevendo as atividades das LSTs em células animais, seus efeitos sobre células vegetais, bem como seu papel fisiológico e ecológico, são pouco explorados. No geral, as LSTs são descritas como substâncias tóxicas, atuando na defesa do vegetal contra a herbivoria (PICMAN, 1986; SCHMIDT, 1999). No entanto, estudos sobre a atividade alelopática de espécies de Asteraceae demonstraram que as LSTs são capazes de agir sobre sementes de mono e dicotiledôneas, inibindo ou induzindo sua germinação, sugerindo que a ação dessas substâncias vai além da função de dissuasórios alimentares (DUKE, 1987; PICMAN, 1986). Nesses estudos, muitas das LSTs testadas foram mais eficientes na inibição da germinação do que vários herbicidas comerciais (MACÍAS, 2000).

Assim, a presença das LSTs na vedélia, somado ao fato dos extratos de suas folhas terem afetado o crescimento da radícula da corda-de-viola em trabalho realizado anteriormente por Silva (2018), faz da vedélia uma boa candidata para busca de novos compostos com potencial herbicida. Contudo, para validar a utilidade da vedélia no combate à infestação pela corda-de-viola, é necessário o entendimento de como ocorre a ação desse extrato nas sementes e plântulas da espécie infestante. Uma das maneiras de fazer isso, é através do estudo das alterações morfo-anatômicas resultantes do tratamento das sementes (BITENCOURT; RESENDE; FAVERO, 2008). A semente é o principal meio de perpetuação das espécies e produto de uma série de eventos biológicos que inicia com a floração e conclui com a germinação (KUNIYOSHI, 1983). Substâncias que causem qualquer perturbação no processo de germinação, ou desenvolvimento da plântula, podem levar à inviabilidade do estabelecimento da espécie infestante nas culturas (KUNIYOSHI, 1983).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo analisar possíveis modificações morfo-anatômicas em sementes da corda-de-viola que serão submetidas a tratamentos com extratos ricos em LSTs extraídos das folhas de vedélia, comparando com os resultados obtidos com o tratamento por glifosato, que é um dos herbicidas mais utilizados no combate às plantas infestantes.

4 PRESSUPOSTOS METODOLÓGICO

4.1 Coleta do material vegetal

A vedélia utilizada para o preparo dos extratos foi coletada na região central da cidade de Santa Helena – PR. Folhas e caules foram secos em estufa de ar circulante a 45 °C por 48h. Exsicatas da espécie foram montadas como material testemunho e enviados para depósito no herbário da UTFPR- Santa Helena. As sementes da planta infestante (corda-de-viola) foram compradas da empresa Cosmos Agrícola Produção e Serviços Rurais Ltda. – Epp, certificada na produção de sementes.

4.2 Preparo do extrato

O material vegetal seco passou por um processo de lavagem com acetona para obtenção do extrato de lavagem foliar. Após o processo de lavagem do material seco ocorre a liberação das LSTs contidas nos tricomas glandulares da face abaxial das folhas (Figura 1). Posteriormente, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, utilizando-se evaporador rotativo. O extrato bruto resultante foi submetido à partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (hexano e acetato de etila). A fração em acetato de etila foi utilizada em teste de germinação *in vitro* com o objetivo de verificar a capacidade de inibir a germinação das sementes da corda-de-viola.

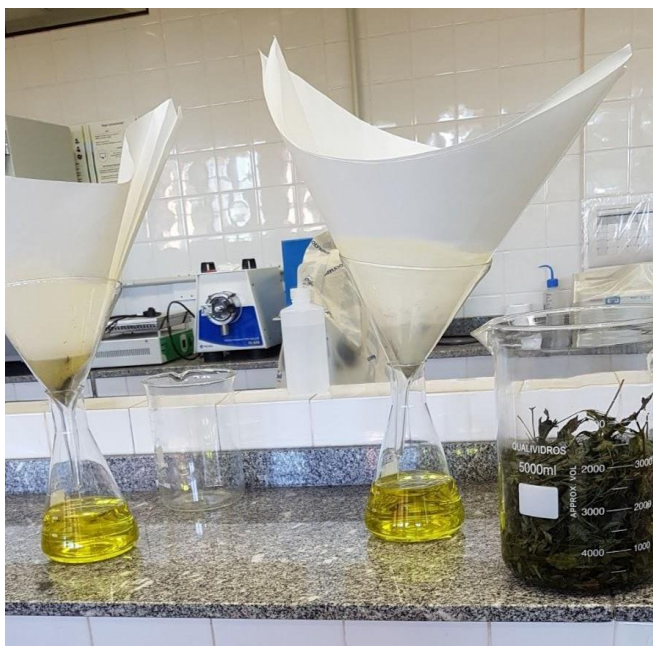


Figura 1. Método de lavagem foliar. **Fonte:** Autoria própria.

4.3 Ensaio de germinação de sementes

Cerca de 240 sementes de corda-de-viola foram submetidas à quebra da dormência por meio de choque térmico a quente (50°C) em equipamento de banho-maria digital, durante 20 minutos. Em seguida, as sementes passaram por desinfestação em uma solução de hipoclorito de sódio 10%, por 5 minutos. Para o plaqueamento foram utilizadas 20 sementes dispostas em placas de Petri com papel de filtro umedecido com solução controle (água destilada), glifosato ou extrato na concentração de 1mg/mL. A germinação das sementes foi realizada em BOD (Limatec- L-320) com umidade de 70%, temperatura há 35°C e ciclo de claro-escuro de 12h, e a germinação acompanhada durante sete dias. Os teste foram realizados em triplicata.

4.4 Análises morfológicas

Para as análises morfológicas das sementes, foram realizados cortes longitudinais à mão livre e corados com azul de toluidina em sementes após um dia de tratamento, e das radículas após 7 dias de tratamento. As amostras foram observadas com o auxílio de estereomicroscópio.

4.5 Preparo e análise de cortes histológicos

Após sete dias de germinação, as radículas das plântulas da corda-de-viola foram transferidas para solução de fixação em formalina por 24h. Em seguida, transferidas para álcool 70% para armazenamento em geladeira até o momento do uso. Os cortes foram realizados nas raízes principais das plantas de cada tratamento com o uso de navalha de aço descartável, fotografados em microscópio óptico com uma câmera de celular acoplada à objetiva por meio de um suporte plástico impresso em impressora 3D. O corante azul de toluidina foi utilizado para a coloração diferencial das paredes celulares primárias e secundárias. A presença de amido, substâncias fenólicas e lipídicas foi determinada utilizando os corantes lugol, cloreto férrico e Sudan IV, respectivamente.

5 RESULTADOS

A partir das análises realizadas, observou-se que as sementes tratadas com extrato e com glifosato apresentaram diferenças no padrão de fissuras da casca após a embebição. As sementes do grupo controle apresentaram um padrão definido de fissuras, o qual resultou em fragmentos pequenos, com o formato mais ou menos quadrado (Figura 2A). As sementes tratadas com glifosato também apresentaram um padrão definido de fissuras, mas resultando em fragmentos maiores (Figura 2B) do que os observados no controle, e de formato semelhante a retângulos. Já nas sementes embebidas com o extrato, as fissuras e fragmentos foram irregulares, sem padrão definido (Figura 2C).

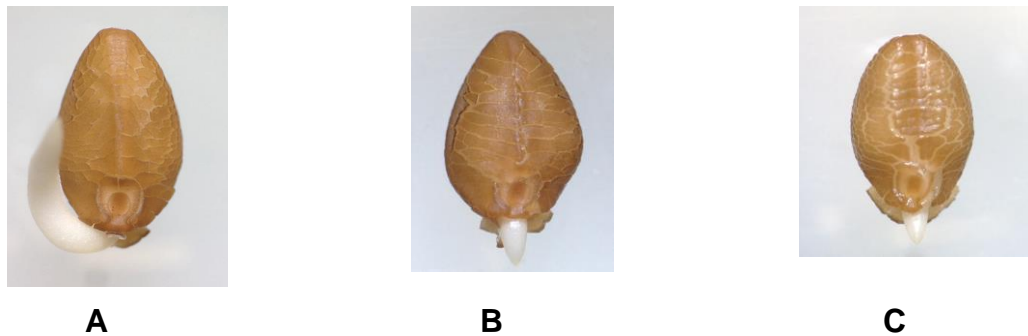


Figura 2. Sementes da corda-de-viola germinadas após 15h do plaqueamento, evidenciando o desenvolvimento da radícula e o padrão de fissuras do tegumento das sementes após a embebição com os diferentes tratamentos. **A.** Controle. **B.** Glifosato 1 mg/mL. **C.** Extrato de lavagem foliar da vedélia 1mg/mL. **Fonte:** Autoria Própria

Após a germinação, constatou-se que o tratamento com o glifosato e com o extrato afetou o desenvolvimento da radícula. As radículas das sementes tratadas apresentaram um comprimento menor do que as das sementes controle. Além disso, nas radículas do grupo controle ocorreu o desenvolvimento de raízes laterais (Figura 3A), o que não ocorreu nas radículas das sementes tratadas com glifosato (Figura 3B). As radículas das sementes tratadas com o extrato desenvolveram raízes laterais, porém logo se tornaram necrosadas (Figura 3C).

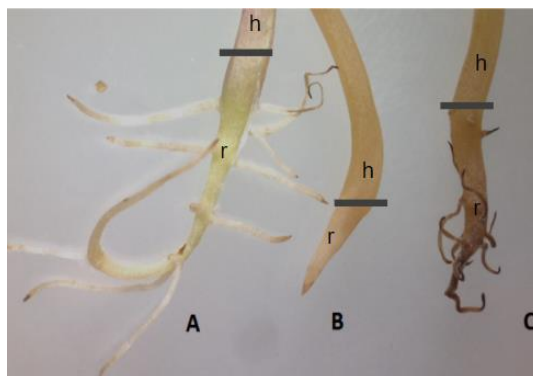


Figura 3. Radículas da corda-de-viola após seis dias do plaqueamento, evidenciado as alterações morfológicas resultantes dos diferentes tratamentos. **A.** Controle. **B.** Glifosato 1 mg/mL. **C.** Extrato de lavagem foliar de vedélia 1mg/mL. h. hipocótilo, r. raíz. **Fonte:** Autoria própria.

Os tratamentos com o glifosato e com o extrato resultaram, também, em um menor desenvolvimento do tamanho total do embrião (Figura 4). Este resultado deve estar, provavelmente, associado ao desenvolvimento ineficiente da radícula das sementes que sofreram esses tratamentos.

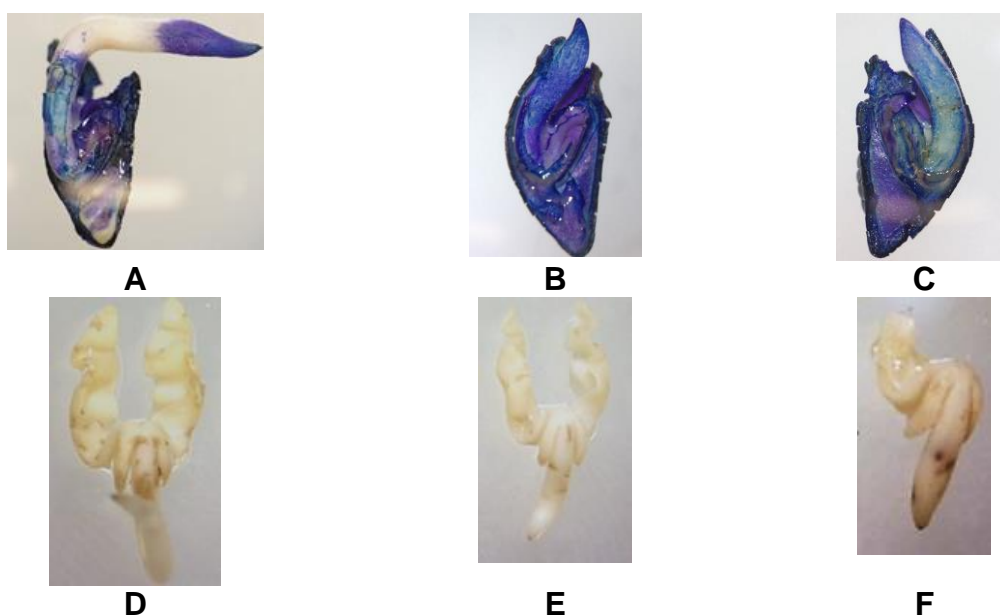


Figura 3. Desenvolvimento do embrião das sementes submetidas aos diferentes tratamentos, após 15h do plaqueamento. **A-C.** Sementes em corte longitudinal, evidenciando o embrião corado com azul de toluidina. **D-F.** Embriões dissecados **A e D.** Controle. **B e E.** Glifosato 1 mg/mL. **C e F.** Extrato de lavagem foliar de vedélia 1mg/mL. **Fonte:** Autoria própria.

Em relação às modificações anatômicas que puderam ser observadas nas sementes germinadas após 7 dias de tratamento, verificou-se que as raízes principais das amostras do grupo controle apresentaram epiderme modificada em longos tricomas para captação de água (Figuras 5A, 5D e 5E). Abaixo da epiderme é possível observar uma camada de exoderme bem definida (Figuras 5D e 5E) e células parenquimáticas corticais relativamente compactas, com espaços intercelulares confinados aos ângulos entre as células. A endoderme é bem definida com estrias de Caspary visíveis mesmo sem coloração (Figuras 5B e 5C). O periciclo é ativo com desenvolvimentos de várias raízes laterais (Figuras 5A e 5B). O cilindro vascular é sólido, sem a presença de medula, e apresenta quatro arcos de xilema intercalados com floema, podendo a radícula ser classificada como tetrarca

devido à essa disposição anatômica (Figuras 5A-C). Substâncias de reserva como amido, lipídios e substâncias fenólicas foram detectados de forma dispersa na região cortical e também na epiderme.

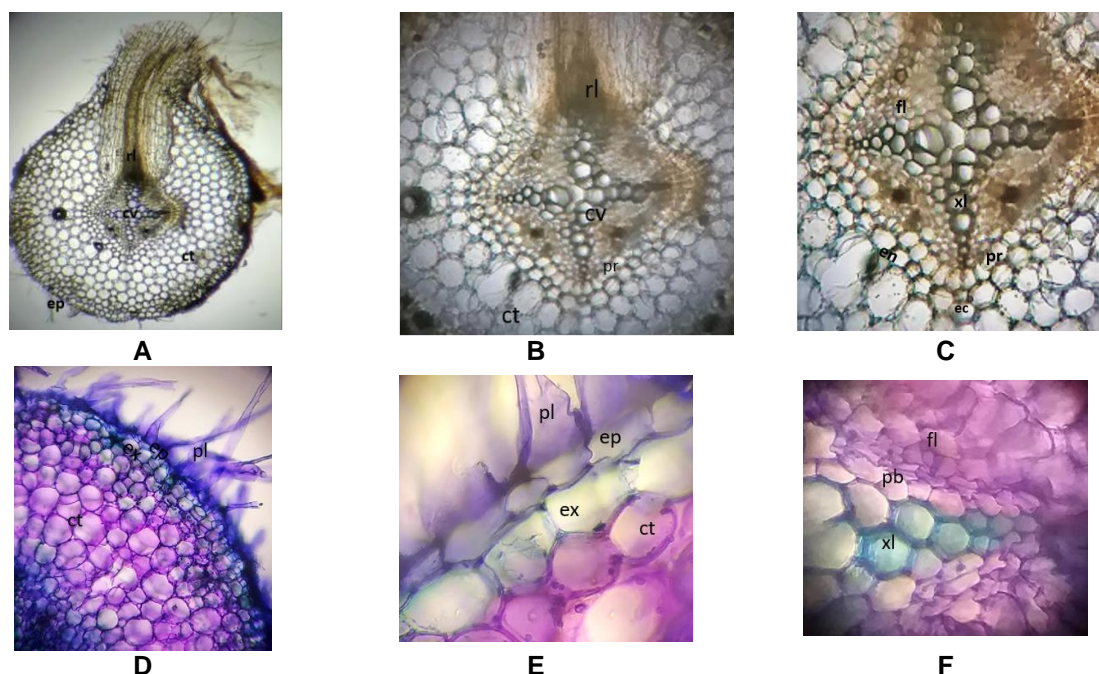


Figura 4. Cortes transversais das radículas do grupo controle. **A-C.** Controle sem coloração. **D-F.** Controle corado com azul de toluidina. **A.** Epiderme, córtex, cilindro vascular e raiz lateral, 10x. **B.** Endoderme, periciclo, cordões do xilema e floema, 40x. **C.** endoderme, estrias de Caspary, periciclo, floema e xilema, 100x **D.** Evidenciação dos pelos ou tricomas na epiderme, 40x. **E.** Epiderme, pêlos radiculares, exoderme e parênquima cortical, 100x **F.** Xilema, procâmbio e floema, 100x. ep. epiderme, ct. córtex, cv. cilindro vascular, rl, raiz lateral, ex. exoderme, en. endoderme, ec. estrias de Caspary, pr. periciclo, xl. xilema, fl. floema, pl. pelos radiculares, pb, procâmbio. **Fonte:** Aatoria própria

As radículas das plantas submetidas ao tratamento com glifosato apresentaram diferenças anatômicas em relação às plantas do grupo controle. As diferenças mais evidentes puderam ser identificadas na epiderme e no sistema vascular. As células da epiderme não foram capazes de formar pêlos radiculares (Figuras 6A e 6C), o que pode interferir na absorção de água e, conseqüentemente, no desenvolvimento da plântula. O sistema vascular apresentou uma diminuição do tamanho dos arcos do xilema e presença de medula formada por várias camadas de células parenquimáticas (Figura 6A-D). Observou-se, ainda, a ausência de raízes laterais, o que pode indicar um mau funcionamento da atividade do periciclo, o qual é responsável pela formação dessas raízes.

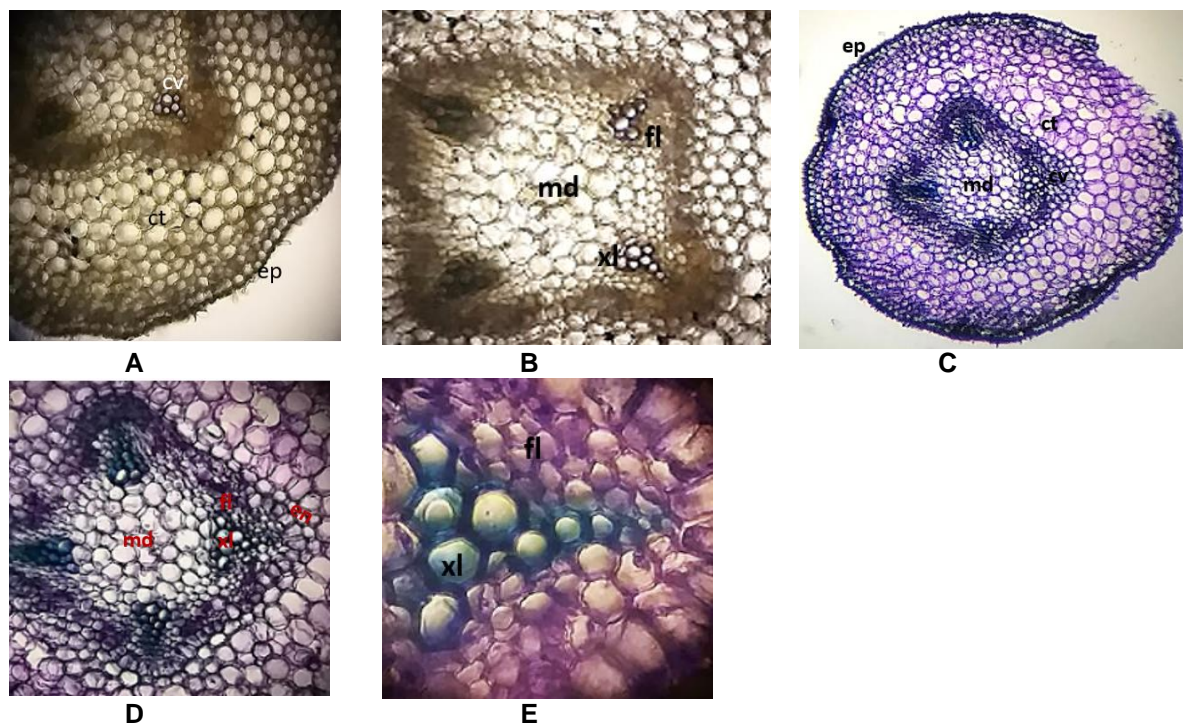


Figura 5. Cortes transversais das radículas do grupo tratado com Glifosato 1 mg/mL. **A-B.** Glifosato sem coloração. **C-E.** Grupo tratado com Glifosato corado com azul de toluidina. **A.** Epiderme sem formação de tricomas ou pêlos, 40x. **B.** Formato do feixe se aproximando da estrutura secundária, 40x. **C.** Visualização do corte total sem formação de tricomas, bem como de raízes laterais, 10x. **E.** Feixe vascular, 100x. ep. epiderme, ct. córtex, cv. cilindro vascular, en. endoderme, xl. xilema, fl. floema. **Fonte:** Autoria Própria.

As amostras tratadas com extrato de lavagem foliar da vedélia 1 mg/mL, apresentaram após sua germinação geotropismo negativo (Figura 8 C) e formação de estômatos nas raízes primárias (Figuras 7C e D). Isso pode ter ocorrido como uma forma de evitar ação do extrato presente no substrato e captação da umidade do ar. Nas células da epiderme foi possível verificar a formação de papilas, porém sem desenvolvimento de tricomas. De forma similar ao que ocorreu com o grupo tratado com glifosato, o cilindro vascular das radículas das plantas tratadas com o extrato apresentou uma diminuição do tamanho dos arcos de xilema e desenvolvimento de uma medula parenquimática oca. Foi possível observar a presença de formação de algumas raízes laterais (Figura 7A).

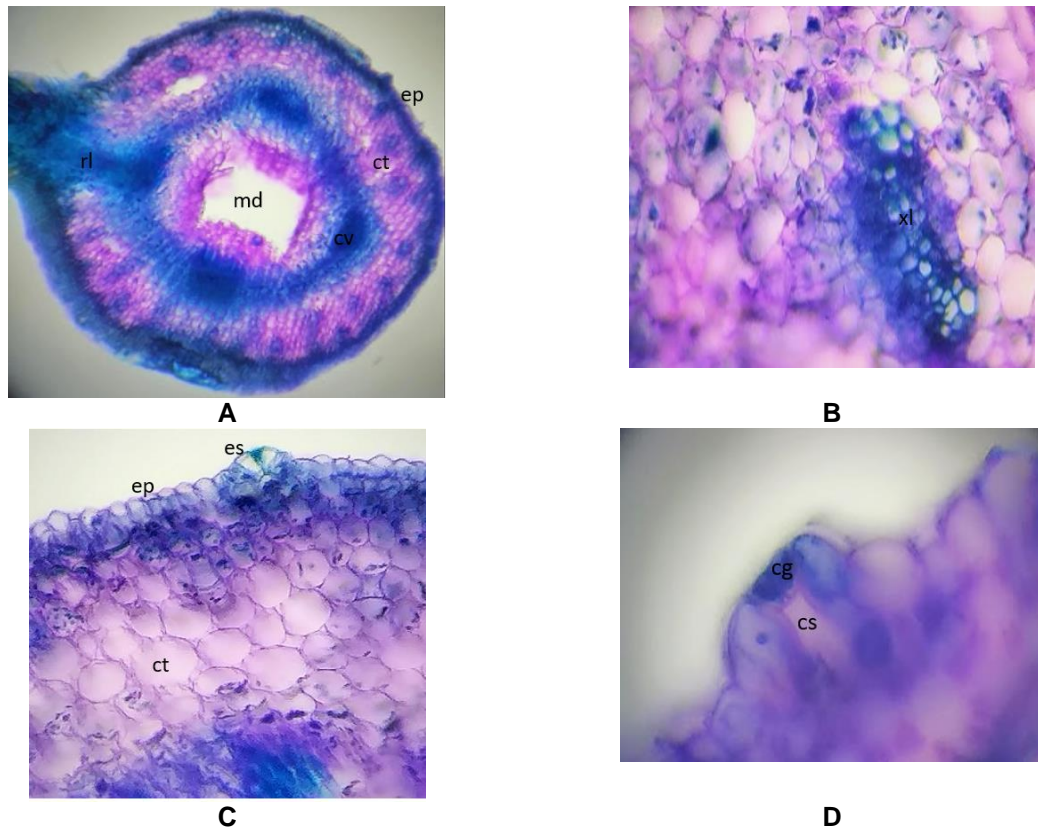


Figura 6. Corte transversal da radícula tratada com Extrato de lavagem foliar 1mg/mL com Azul de Toluidina. **A.** Evidenciação de medula oca e ausência de tricomas, 10x. **B.** Características das células do feixe, 40x. **C.** Epiderme com papilas e formação de estômatos, 40x. **D.** Estômato, 100x. ep. epiderme, ct. córtex, cv. cilindro vascular, rl, raiz lateral, xl. xilema, fl. floema, es. Estômato, cg. célula-guarda, cs. cavidade subestomática.

Fonte: Autoria Própria

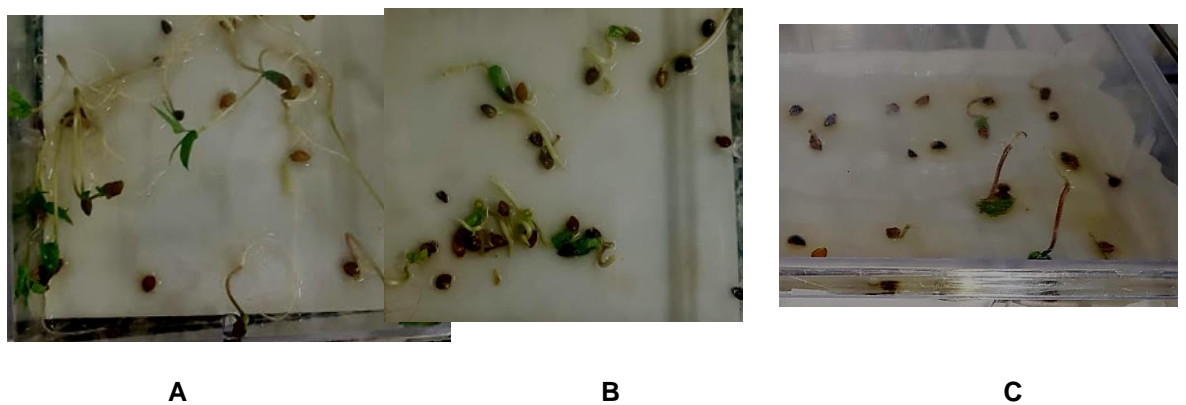


Figura 7. Placas dos tratamentos com A. Controle. B. Glifosato e C. Extrato das folhas de vedélia; Geotropismo negativo na placa tratada com o extrato das folhas de vedélia (C).
Fonte: Autoria Própria.

6 DISCUSSÃO

Desde a Revolução Verde, o uso de herbicidas como o glifosato se tornou frequente. Alguns dos sintomas que podem ser observados após a aplicação de glifosato são, a deficiência na produção de clorofila foliar seguida de necrose. Outros sintomas foliares são: malformação ou enrugamento e necrose de meristemas de rizomas e estolões em plantas perenes. Diferentemente de muitos herbicidas de contato, os sintomas fitotóxicos de danos pelo glifosato geralmente desenvolvem-se lentamente, com a morte ocorrendo após vários dias ou semanas, devido ao transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive (YAMADA; CASTRO, 2007).

Contudo, a aplicação de glifosato resulta na presença de resíduos no cultivo a ser colhido e em animais usados na alimentação humana. Quando aplicado em altas concentrações, o glifosato pode permanecer no ambiente, penetrar no solo e em águas subterrâneas (HALLBERG, 1989). Quando aplicado de forma direta em águas superficiais, o herbicida pode contaminar a água potável, tornando-a imprópria para o consumo (AMARANTE JUNIOR; RODRIGUES; SANTOS, 2002). Segundo Yamada (2007), desde a década de 1980 é constatado que o glifosato aplicado em plantas invasoras é transferido para as plantas que não são alvo por meio do contato radículas. Essa transferência foi comprovada por estudos mais recentes utilizando o ¹⁴C- glifosato como marcador. Sendo assim, torna-se questionável a utilização deste herbicida para as culturas perenes, sendo necessária a busca por compostos menos danosos ao meio ambiente.

Como já demonstrado em trabalhos anteriores, o glifosato reduz a produção de hormônio de crescimento das raízes, o que explica o baixo desenvolvimento das radículas tratadas com este herbicida observado neste trabalho. É possível que o extrato testado tenha efeito similar e, embora sejam necessários trabalhos adicionais para comprovar essa hipótese, a literatura científica vem corroborando com a utilidade de extratos vegetais no controle de plantas daninhas (YAMADA; CASTRO, 2007).

Silva (2017), por exemplo, testou extratos de diferentes plantas em sementes de corda-de-viola. Os autores utilizaram o índice de velocidade da germinação (IVG) e a porcentagem de germinação para verificar se os extratos iriam alterar essas

variantes da germinação, com o intuito de verificar o potencial alelopático dos extratos. Dessa forma, constaram que em concentrações de 10%, os extratos de nabo forrageiro e aveia preta foram capazes de reduzir a taxa de germinação das sementes de corda-de-viola. No presente trabalho, constatou-se que as sementes nos três testes (controle, glifosato e extrato de lavagem foliar) promoveram diferentes padrões de fissuras tegumentares, essa diferença de fissuras pode significar uma alteração na permeabilidade destas sementes impedindo ou auxiliando na embebição para o início da germinação.

Nos resultados obtidos através da análise das plântulas foi possível observar a necrose tecidual das radículas. Antes de ocorrer a necrose, as células expostas utilizam toda a sua capacidade adaptativa para reverter a situação que está lhe causando danos, por exemplo desenvolvendo anomalias em sua estrutura. A necrose celular revela que o organismo não possui mais mecanismos para se adaptar e sobreviver iniciando, portanto, o processo de morte celular. Silva et al. (2017) obtiveram resultados semelhantes, constando necrose nas sementes tratadas com 5 e 10% do extrato de nabo forrageiro.

Costa et al. (2018) destacam que extratos aquosos de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf causaram a inibição do crescimento de raízes em *Lolium multiflorum* Lam. e que o extrato de Nim causou a diminuição da taxa de germinação em *Bidens pilosa* L. Neste trabalho observamos a necrose radicular e também a ausência da região medular usando o extrato de vedélia, indícios que afetam no crescimento das raízes assim como no trabalho de Costa et al. (2018).

Grisi et al. (2013) identificou que os extratos aquosos de raízes de *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) causaram alterações mais severas como necrose radicular, inversão gravitrópica e atrofia das plântulas de capim-arroz e corda-de-viola. Em tratamentos com maiores concentrações do extrato houve maior inibição no desenvolvimento radicular das plantas de corda-de-viola do que comparado com as partes aéreas. Considerou ainda a necrose como sintoma evidente em plântulas quando se trata de efeitos alelopáticos atuando então diretamente no estabelecimento da planta. Assim como no trabalho citado este trabalho também identificou o comportamento de geotropismo inverso, ou seja, as plantas passaram a se desenvolver em direção oposta à tradicional, como medida portanto para superar as reações provocadas pela aplicação do extrato. Outra alteração observada foi formação de estômatos nas raízes com esse comportamento adaptativo.

Em trabalho testando a ação das lactonas sesquiterpênicas sobre duas espécies infestantes e parasitas, *Orobanche cumana* Wallr e *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel, (Orobanchaceae), os autores relatam alguns compostos mais ativos em concentrações mais baixas, atingindo uma concentração ótima na qual mostraram inibição da germinação. Sendo dois dos testes em concentrações menores com maior taxa de inibição de germinação das sementes da *P. ramosa* e estimulador em *O. cumana*, os autores concluem que seria interessante explorar no futuro as possíveis interações entre a atividade fitotóxica das lactonas sesquiterpênicas em certas faixas de concentração e sua atividade estimuladora em outras espécies (CALA et al., 2019). Adicionalmente, Rial et al. (2020) realizaram testes em três plantas infestantes com o intuito de identificar a atividade de lactonas sesquiterpênicas e outros compostos sobre a germinação e crescimento delas. Constataram que a atividade das lactonas testadas foi superior à do herbicida comercial Logran em todos os casos.

Anwar et al. (2020) em seu trabalho obtiveram resultados que demonstraram que a aplicação de extrato aquoso de planta e material em pó seco de folhas de *Carica papaya* L. (mamão) reduziu significativamente a porcentagem de germinação de todas as espécies testadas, Aveia-brava, língua de vaca, girassol, milho e trigo respectivamente (*Avena fatua* L., *Rumex dentatus* L., *Helianthus annuus* L., *Zea mays* L. e *Triticum aestivum* L.), a inibição mais significativa na porcentagem de germinação (%) foi observada pelo seu extrato aquoso aplicado em papel filtro. Bem como observando no presente trabalho podemos observar a inibição da germinação, o que indica o potencial alélopático de diferentes extratos vegetais e compostos derivados de material vegetal.

No trabalho desenvolvido por Anwar et al. (2020) também foram feitas análises quanto à porcentagem no crescimento radicular, o qual apresentou alterações significativas, principalmente na forma de extrato aquoso, o qual apresenta aleloquímicos solúveis em água, apontando mais uma vez o potencial alelopático de extratos vegetais. Assim como nos resultados deste trabalho, em que as radículas sofreram processo de morte celular ao ponto de necrose. Para usar esta planta como um herbicida natural, acredita-se que seus compostos químicos e efeitos devem ser estudados em detalhes usando técnicas mais avançadas.

Extratos aquosos de cinco espécies de *Bothriochloa* (Poaceae) inibem a germinação de alface, choro de capim (*Eragrostis curvula* (Schard.) Nees), milho e

paspalum verde-inverno. A inibição da germinação foi fortemente correlacionada com o tempo de exposição, o tempo de tratamento mais longo foi de 168 horas e a atividade inibitória a mais alta. A atividade inibitória do tratamento com extrato aquoso de raízes e caules aumentou gradualmente de 48 horas para 168 horas e a taxa de inibição foi maior em 168 horas. Os maiores valores de atividade inibitória do tratamento com o extrato aquoso de folhas ocorreram, portanto, às 120h, sem diferenças significativas em relação aos valores registrados às 168h. A atividade inibitória da germinação aumentou com o tempo as sementes foram expostas ao extrato aquoso (SCRIVANTI; ANTON, 2021). Bem como registrado no presente trabalho, os resultados foram mais significativos após mais tempo de tratamento, podendo assim se afirmar que a ação dos extratos ocorre de maneira gradual e se torna mais intensa em determinados períodos.

Sendo assim, tanto dados da literatura, quanto os resultados obtidos nesse trabalho evidenciam a utilidade de extratos vegetais como possíveis substitutos de herbicidas convencionais. Estudos como este, que analisam os efeitos desses extratos na morfologia e anatomia das plantas tratadas são essenciais para entender o mecanismo de ação por qual esses extratos operam, e se esses efeitos são similares àqueles causados pelos herbicidas utilizados atualmente no mercado.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que a aplicação do extrato de lavagem foliar da vedélia a 1 mg/ml causa alterações morfo-anatômicas na semente, embrião e radícula de plântulas da corda-de-viola. Algumas dessas alterações são similares àquelas causadas por glifosato na mesma concentração.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os aspectos analisados, a utilização do extrato de lavagem foliar da vedélia apresentou eficácia contra o estabelecimento de plantas de corda-de-viola, devido às alterações identificadas em suas estruturas.

A tentativa adaptativa de inversão gravitrópica e formação de estômatos nas radículas das plântulas tratadas com extrato, ausência medular e necrose. As alterações podem ser atribuídas à presença de substâncias químicas no extrato, sugerindo que a vedélia pode conter substâncias de interesse para o desenvolvimento de novo bio herbicida para o controle da infestação da corda-de-violão. Com tais evidências podem se também serem desenvolvidos novos trabalhos na área para conhecimento mais aprofundada das alterações que o extrato de vedélia pode causar.

9 REFERÊNCIAS

AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; BRITO, N. M.; *et al.* Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589–593, 2002. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/Z9DJG6fy8ZQR79ch8cdxwVP/>>. Acesso em: 27 Ago. 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (Para): Relatório Complementar Relativo À Segunda Etapa Das Análises De Amostras Coletadas Em 2012**. Brasília, 2014. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3785json-file-1>>. Acesso em: 22 Ago. 2020.

ANWAR, T.; QURESHI, H.; PARVEEN, N.; *et al.* Evaluation of bioherbicidal potential of Carica papaya leaves. **Brazilian Journal of Biology**, p. 565–573, 2020. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1132399>>. Acesso em: 27 Ago. 2020.

BACCARIN, T.; CZEPULA, A. I.; FERREIRA, R. A.; *et al.* Análise morfoanatômica das partes aéreas de Wedelia paludosa DC. (*Acmela brasiliensis*, *Sphagneticola trilobata*), Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 612–616, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/Zr4MZdVfyS54n6x7h73PGfL/>>. Acesso em: 15 Ago. 2020.

BITENCOURT, G. A.; RESENDE, U. M.; FAVERO, S. Descrição morfo-anatômica das sementes de senna occidentalis (L.) link. (fabaceae-caesalpinoideae) e phyllanthus niruri L. (euphorbiaceae), **Revista de Biologia e Farmácia**, São Paulo, v. 03, n. 01, p. 38-43 – 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/298787414_DESCRICAO_MORFO-ANATOMICA_DAS_SEMENTES_DE_Senna_occidentalis_L_LINK_FABACEAE-CAESALPINOIDEAE_E_Phyllanthus_niruri_L_EUPHORBIACEAE>. Acesso em: 29 mar. 2019.

BRUN, T.; RABUSKE, J. E.; TODERO, I.; *et al.* Production of bioherbicide by Phoma sp. in a stirred-tank bioreactor. **3 Biotech**, v. 6, n. 2, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5083679/>>. Acesso em: 27 Fer. 2021.

BUNKOED, W.; WICHITTRAKARN, P.; LAOSINWATTANA, C. Allelopathic Potential of Essential Oil from Bottle Brush (*Callistemon lanceolatus* DC.) on The Germination and Growth of *Echinochloa crus-gall* L. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 13, n. 3, p. 2693–2701, 2017. Disponível em: <http://www.aatsea.org/images/conference_publications/pdf/v13_n7_3_2017_Decem>

ber/51_IJAT_13%287.3%29_2017_Worachet%20Bunkoed%20_Plant%20Sciences.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2020.

CALA, A.; ZORRILLA, J. G.; RIAL, C.; *et al.* Easy Access to Alkoxy, Amino, Carbamoyl, Hydroxy, and Thiol Derivatives of Sesquiterpene Lactones and Evaluation of Their Bioactivity on Parasitic Weeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 38, p. 10764–10773, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31487158/>>. Acesso em: 29 mar. 2020.

CARRARO, G. Agrotóxico e meio ambiente: uma proposta de ensino de ciências e química. **Série Química e Meio ambiente**. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997. Disponível em: <http://www.quimica.seed.pr.gov.br/arquivos/File/AIQ_2011/agrotoxicos_ufrgs.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2021

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 507–515, 2003. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/pd/a/gwwV6Mp4W6nVzmRkvCFvLdh/>>. Acesso em: 02 ago. 2019.

COSTA, N. V.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; COELHO, É. M. P.; *et al.* Métodos de controle de plantas daninhas em sistemas orgânicos: breve revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 25–44, 2018. Disponível em: <<https://www.weedcontroljournal.org/pt-br/article/metodos-de-controle-de-plantas-daninhas-em-sistemas-organicos-breve-revisao/>>. Acesso em: 28 mar. 2020.

DUKE, S. O.; VAUGHN, K. C.; CROOM, E. M.; *et al.* Artemisinin, a Constituent of Annual Wormwood (*Artemisia annua*), is a Selective Phytotoxin. **Weed Science**, Cambridge, v. 35, n. 4, p. 499–505, 1987. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/weed-science/article/abs/artemisinin-a-constituent-of-annual-wormwood-artemisia-annua-is-a-selective-phytotoxin/B88DA7DFA2C12D4850E6954643455024>>. Acesso em: 28 mar. 2021.

GRISI, P. U.; JULIANO, C.; RANAL, M. A.; *et al.* Influência alelopática do extrato aquoso de raiz de *Sapindus saponaria* L. sobre capim-arroz e corda-de-viola. **Bioscience Journal**, Moscow, v. 29, n. 3, p. 760- 766, 2013. Disponível em: <<https://search.bvsalud.org/gim/resource/en/biblio-914612>>. Acesso em: 28 fev. 2021.

HALLBERG, G. R. Pesticides pollution of groundwater in the humid United States. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 26, n. 3-4, p. 299–367, 1989. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0167880989900170>>. Acesso em: 25 jul. 2020.

HINZ, H. L.; SCHWARZLÄNDER, M.; GASSMANN, A.; *et al.* Successes We May Not Have Had: A Retrospective Analysis of Selected Weed Biological Control Agents in the United States. **Invasive Plant Science and Management**, v. 7, n. 4, p. 565–579, 2014. Disponível em: < <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge>

core/content/view/50FD3A7F6ECC4C6DB7371F58F2613D27/S1939729100004120 a.pdf/successes_we_may_not_have_had_a_retrospective_analysis_of_selected_we ed_biological_control_agents_in_the_united_states.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2020.

KIM, E. L.; LI, J. L.; DANG, H. T.; *et al.* Cytotoxic cytochalasins from the endozoic fungus *Phoma* sp. of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 9, p. 3126–3129, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22483395/>>. Acesso em: 12 jun. 2021.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. **BASF**. São Paulo, ed. 1, p. 978, 1997. Disponível em: <<https://www.scirp.org/%28S%28vtj3fa45qm1ean45vvffcz55%29%29/reference/referencpapers.aspx?referenceid=2213367>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

KUNIYOSHI, Y.S. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com araucária**. Curitiba- PR, 245 f. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, 1983. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/25193>>. Acesso em: 11 jul. 2021.

BOHNER, T. O. L.; ARAÚJO, L. E. B.; NISHIJIMA, T. O Impacto Ambiental Do Uso De Agrotóxicos No Meio Ambiente E Na Saúde Dos Trabalhadores Rurais. **Revista Eletrônica do Curso de Direito da UFSM, Revista Eletrônica do Curso de Direito da UFSM**, Santa Maria, RS, v. 8, p. 329, 2013. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/revistadireito/article/view/8280>>. Acesso em: 21 fev. 2020.

MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. C.G.; MOLINILLO, J. M.G.; *et al.* Dehydrozaluzanin C: a potent plant growth regulator with potential use as a natural herbicide template. **Phytochemistry**, v. 54, n. 2, p. 165–171, 2000. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10872207/>>. Acesso em: 20 mar. 2020.

PEREIRA, R. A.; COSTA, C. M. L.; LIMA, E. M. O IMPACTO DOS AGROTÓXICOS SOBRE A SAÚDE HUMANA E O MEIO AMBIENTE. **Revista Extensão**, v. 3, n. 1, p. 29–37, 2019. Disponível em: <<https://revista.unitins.br/index.php/extensao/article/view/1684>>. Acesso em: 21 fev. 2020.

PICMAN, A. K. Biological activities of sesquiterpene lactones. **Biochemical Systematics and Ecology**, Ottawa, v. 14 n. 3, p. 255-281, 1986. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0305197886901018>>. Acesso em: 23 fev. 2020.

PIGNATI, W. Uso de agrotóxicos no Brasil: Perspectiva da saúde do trabalhador e ambiental. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 16, n. s1, p. 37–37, 2018. Disponível em: <<https://www.rbmt.org.br/details/347/pt-BR>>. Acesso em:

PINHEIRO, R. T. Superação da dormência de sementes e controle químico de cordas-de-viola (*Ipomoea* spp.) em soja resistente ao glifosato. **Dissertação de mestrado** (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de

Santa Maria, Centro de Ciências Rurais. Santa Maria, RS, 73 p., 2010. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5034/PINHEIRO%2C%20RODRIGO%20TRINDADE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 25 jun. 2021.

SILVA, D. R. S. Efeito dos extratos e substâncias isoladas de *Sphagneticola trilobata* (L.) Prusk (Asteraceae) sobre a germinação da corda-de-viola (*Ipomoea triloba* L., Convolvulaceae). 2018. 38 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, 2018. Disponível em: <<https://riut.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/15655>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

RIAL, C.; TOMÉ, S.; VARELA, R. M.; *et al.* Phytochemical Study of Safflower Roots (*Carthamus tinctorius*) on the Induction of Parasitic Plant Germination and Weed Control. **Journal of Chemical Ecology**, v. 46, n. 9, p. 871–880, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32691372/>>. Acesso em: 20 jul. 2021.

RIBEIRO, D.H.B.; VIEIRA, E. Avaliação do potencial de impacto dos agrotóxicos no meio ambiente. **Infobibos**. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/agrotoxicos/index.htm>. Acesso em: 21 fev. 2020.

SCHMIDT, T. J. Toxic activities of sesquiterpene lactones: structural and biochemical aspects. **Current Organic Chemistry**, Dusseldorf, v. 3, n. 6, p. 577-608, 1999. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=entiQVmuJpIC&oi=fnd&pg=PA577&dq=SCHMIDT,+T.+J.+Toxic+activities+of+sesquiterpene+lactones:+structural+and+biochemical+aspects.++Current+Organic+Chemistry,+Dusseldorf,+v.+3,+n.+6,+p.+577-608,+1999&ots=zjpxxxk72Z&sig=-6lt4asyCEctQF5ozKLo7FSC2-Q&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 15 jul. 2020.

SCRIVANTI, L. R.; ANTON, A. M. Germination inhibitory activity of aqueous extracts of native grasses from South America. **Rodriguésia**, v. 72, 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rod/a/Nx4QkgYQfhFnqBXfRGdvdBz/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

SILVA, G. L.; Silva, I. L. G.; GARCIA, L. R. S. Análise da letalidade por intoxicação relacionada aos agrotóxicos no Brasil. **Biosaúde**, 2019, Londrina, v. 20, n. 1, f.10. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/biosaude/article/view/31852>>. Acesso em: 15 mai. 2021.

SILVA, D. R. S. Efeito dos extratos e substâncias isoladas de *Sphagneticola trilobata* (L.) Prusk (Asteraceae) sobre a germinação da corda-de-viola (*Ipomoea triloba* L., Convolvulaceae). 2018. 38 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, 2018. Disponível em: <<https://riut.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/15655>>. Acesso em: 15 jul. 2021.

SILVA, S. C. DA. Influência De Extratos De Plantas Sobre A Germinação De *Ipomoea Triloba* L. 2017. 40 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (graduação) –

Universidade Federal da Fornteira Sul, Cerro largo- RS, 2017. Disponível em: <<https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/1901/1/SILVA.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

SKOVRONSKI, VRANDRIELI JUCIELI. Avaliação da toxicidade da mistura dos agrotóxicos 2,4-D (Ácido Diclorofenoxiacético) e Glifosato em anfíbios. **Trabalho de Conclusão de Curso** (graduação) – Universidade Federal da Fornteira Sul, Erechim- RS, 2019. Disponível em: <<https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/3183>>. Acesso em: 06 Abr. 2020.

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução. **Embrapa Trigo**, 2006. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do58.pdf>. Acesso em: 06 Abr. 2021.

YAMADA, T.; CASTRO, P. R. C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agrônômicas. **International Plant Nutrition Institute**, n. 119, p. 1–32, 2007. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4120101/mod_resource/content/1/EfeitosGli fosatoPlantasImplica%C3%A7%C3%B5es.pdf>. Acesso em: FE1B9/\$FILE/Encarte-119.pdf.