

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA LINHA DE FORMAÇÃO EM
AGROECOLOGIA

EVANDRO LUIS BONI

EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE *Crotalaria*
spectabilis* NA PRÉ-EMERGÊNCIA DE *Digitaria insularis

LARANJEIRAS DO SUL

2021

EVANDRO LUIS BONI

EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE *Crotalaria spectabilis* NA PRÉ-EMERGÊNCIA DE *Digitaria insularis*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tormen

LARANJEIRAS DO SUL

2021

Boni, Evandro Luis

EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE
Crotalaria spectabilis NA PRÉ-EMERGÊNCIA DE *Digitaria*
insularis / Evandro Luis Boni. -- 2021.

25 f.

Orientador: Dr Luciano Tormen

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR, 2021.

I. Tormen, Luciano, orient. II. Universidade Federal
da Fronteira Sul. III. Título.

EVANDRO LUIS BONI


EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE *Crotalaria spectabilis* NA PRÉ-EMERGÊNCIA DE *Digitaria insularis*

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia linha de formação em Agroecologia pela Universidade Federal da Fronteira Sul- *Campus Laranjeiras do Sul* (PR).

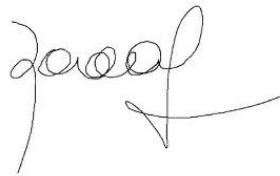
Orientador: Dr. Luciano Tormen.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 19/01/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Henrique von Hertwig Bittencourt - UFFS
Orientador



Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome - UFFS



Prof. Dr. Luciano Tormen – UFFS

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu Orientador Prof.^o Luciano Tormen, pelo incentivo e presteza no auxílio as atividades, principalmente sobre o andamento e normatização deste Trabalho de Conclusão de Curso, onde com toda certeza seus conhecimentos foram compartilhados.

Agradeço aos demais Professores da UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL -UFFS Campus Laranjeiras do Sul, que inapelavelmente foram corresponsáveis pelo nosso crescimento intelectual.

Agradeço também os Professores Henrique Bittencourt e Lisandro Bonome, por disponibilizar seus laboratórios e materiais, os quais sem eles não seria possível a realização deste trabalho.

Agradeço aos colegas de classe pela espontaneidade e alegria na troca de informações e materiais numa rara demonstração de amizade.

Agradeço a minha família por ter me apoiado nas horas difíceis a não desistir de buscar meus sonhos.

Agradeço a Edicleia, que esteve sempre presente ao longo de todo este percurso e que sempre me apoiou de forma compreensiva e motivadora e me fez sentir capaz de superar qualquer adversidade estando a meu lado a 100%.

Agradeço a toda a minha família, em especial os meus pais Luiz e Mariza, por me apoiar e incentivar em toda a minha trajetória acadêmica.

E finalmente, agradeço a DEUS pela oportunidade, privilégio e sustentação. Ele é amigo incondicional meu maior ouvinte. Que me socorreu nas horas que mais precisei obrigado.

Resumo

Neste trabalho foram avaliados possíveis efeitos alelopático de extratos de sementes de *Crotalaria spectabilis* na emergência de sementes de *D. insularis*. Foram obtidos extratos em etanol, água e n-hexano. O extrato etanólico e o aquoso apresentaram elevada concentração de fenóis totais (13,9 e 13,5 mg de AG g⁻¹ respectivamente) em relação ao extrato hexânico (1,1 mg de AG g⁻¹). A análise por HPLC revelou que o extrato etanólico tem na composição ácido gálico, (+) catequina, ácido vanílico, ácido p-cumárico, resveratrol e mirecetina, enquanto que o extrato aquoso apresentou apenas (+) catequina e resveratrol. Já o extrato hexânico apresentou apenas ácido gálico. Nenhum tratamento com extrato das sementes de *Crotalaria spectabilis* ocasionou redução na emergência de *D. insularis*, e nem redução do índice de velocidade de emergência. Porém em relação a matéria fresca e seca, o extrato etanólico mostrou pequenas diferenças em relação a testemunha. De maneira geral os efeitos fitotóxicos dos extratos das sementes de *Crotalaria spectabilis* na emergência *D. insularis* foram pouco significativos não justificando a aplicação pré-emergencial e início da emergência.

Palavras chave: *Bioherbicida*, Fitotoxicidade, alelopatia, controle.

Abstract

In this work, possible allelopathic effects of *Crotalaria spectabilis* seed extracts on the germination of *D. insularis* seeds were evaluated. Were obtained extracts in ethanol, water and n-hexane. Ethanolic and aqueous extracts showing a high concentration of total phenols (13.9 and 13.5 mg of AG g⁻¹ respectively) in relation to hexanic extract (1.1 mg of AG g⁻¹). The analysis by HPLC revealed that the ethanolic extract has gallic acid, (+) catechin, vanillic acid, p-cumaric acid, resveratrol and mirecetin in their composition, while the aqueous extract showed only (+) catechin and resveratrol. The hexanic extract showed only gallic acid. No treatment with *Crotalaria spectabilis* seed extract caused a reduction in the germination of *D. insularis*, nor a reduction in the germination speed index. However, in relation to fresh and dry matter, the ethanol extract showed small differences in relation to the control. In general, the phytotoxic effects of *Crotalaria spectabilis* seed extracts on germination *D. insularis* were insignificant, not justifying the pre-emergence application and the beginning of germination.

Keywords: Bioherbicide, Phytotoxicity, allelopathy, control.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAIS E MÉTODOS	12
2.1 REAGENTES	12
2.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	12
2.3 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS	12
2.4 MOAGEM DAS SEMENTES DE CROTALÁRIA	13
2.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	13
2.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	13
2.7 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC	14
2.8 TESTE DE EMERGÊNCIA DO CAPIM AMARGOSO (<i>D. insularis</i>) NA PRESENÇA DE EXTRATO DE <i>C. spectabilis</i>	15
2.9 MASSA SECA E MASSA FRESCA	16
3.2 TESTE DE EMERGÊNCIA DE <i>D. insularis</i> NA PRESENÇA DE EXTRATOS DE SEMENTE DE <i>C. spectabilis</i>	18
3.3 MASSA SECA E MASSA FRESCA	20
3.4 DETERMINAÇÃO DO IVE	22
4 CONCLUSÕES	24
REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

Dentre os grupos de plantas existentes no meio ambiente, as plantas espontâneas, também conhecidas como plantas invasoras ou daninhas ocorrem naturalmente e têm crescimento espontâneo em áreas de cultivo (ALTIERI et al., 2003). A interferência das plantas espontâneas com outras plantas ocorre principalmente devido a sua alta aptidão de emergência e desenvolvimento precoce e habilidade competitiva por água, luz e nutrientes com a cultura implantada, além da grande produção de sementes com alta capacidade de disseminação e longevidade. Outros fatores que também caracterizam algumas espécies de plantas espontâneas são a sua emergência e desenvolvimento em condições menos favoráveis, como de solos compactados ou ácidos e/ ou com menos umidade relativamente baixas, as altas taxas de crescimento e a elevada tolerância a variações ambientais (LORENZI, 2000). Além de poderem ser hospedeiras de pragas e doenças que são chaves na cultura econômica.

Diversas espécies da família das leguminosas têm sido utilizadas com a finalidade de adubação verde, com destaque para a crotalária (LOPES et al., 2005), sendo a *C. spectabilis* muito utilizada em sistemas consorciados ou rotação de culturas (CINTRA et al., 2006)

As crotalárias, popularmente conhecidas como “guizo-de-cascavel”, “chocalho” e “xique-xique” tem seu legume inflado, quando próximo à deiscência, apresentam as sementes livres em seu interior e, assim, quando agitado produz um som semelhante ao de um chocalho ou ao guizo da cobra cascavel (*Crotalus* sp.) (LORENZI, 2008). A *Crotalaria spectabilis* Roth é uma leguminosa originária da Índia, planta anual, de porte baixo, com crescimento lento e com raiz pivotante, capaz de romper camadas compactadas do solo (MONEGAT, 1991).

Esta leguminosa tropical tem ampla utilização na agricultura como adubo verde, cobertura morta, fixação de nitrogênio e reciclagem de nutrientes, sendo extremamente efetiva no impedimento da multiplicação das populações de nematóides (LORDELLO, 1973; SILVEIRA; RAVA, 2004).

Plantas do gênero crotalária possuem um grande potencial alelopático, uma utilidade pouco conhecida por agricultores (ARAUJO et al. 2010). A alelopatia é a produção de determinados compostos por organismos que, quando liberados no ambiente, têm impacto inibidor ou estimulador sobre outros

organismos (GLIESSMAN, 2000). Os aleloquímicos são compostos que podem interferir no metabolismo das plantas de várias maneiras, como reguladores de crescimento vegetal, inibidores de fotossíntese, desreguladores da respiração e do transporte na membrana celular e inibidores da atividade enzimática e proteica (EINHELLIG, 1986).

A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (defensivos agrícolas). A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário, o qual provem de uma espécie de resposta que a planta apresenta ao ataque externo, e de estresse ambiental a fim de se proteger contra microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas, esses efeitos também podem ser tóxicos as outras plantas que estão no ambiente, competindo com elas (Waller, 1999).

De acordo com Érica de oliveira (2010) a crotalária apresentou efeitos alelopáticos negativos na emergência de leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L). Teixeira et al. (2004) ao extrato aquoso de *C. spectabilis*. Já Mello et al. (2018) indicam que o extrato aquoso de crotalária reduziu o comprimento de plântulas de milho em 20%.

Uma das plantas espontâneas que vem aumentando a incidência, os danos nas culturas e os custos com seu controle é o capim-amargoso (*D. insularis*). Esta planta é uma espécie nativa do continente americano e, como tal, sempre foi tida como uma importante invasora no Brasil (Kissmann e Groth, 1997). Trata-se de uma espécie perene, altamente competitiva, herbácea, ereta, de colmos estriados e com 50 a 100 cm de altura. Forma touceiras a partir de rizomas curtos e se reproduz por semente, que são produzidas em grande quantidade durante praticamente o ano todo, são pilosas com elevado potencial germinativo, podendo ser disseminada a longas distâncias pelo vento (Kissmann e Groth, 1997; Lorenzi, 2000).

O capim amargoso desenvolve-se bem em solos pobres e ácidos, e supera muitas outras espécies (Mondo et al., 2010). A infestação de *D. insularis* tem aumentado nas áreas agrícolas onde não há culturas de cobertura estabelecidas na entressafra, tornando-se uma das principais plantas daninhas

no Brasil em áreas de produção de grãos (Correia et al., 2010; Gazziero et al., 2011).

O ponto chave no incremento da ocorrência de *D. insularis* é que, uma vez que a planta esteja estabelecida com o início da formação dos rizomas e posterior formação de grandes touceiras, ela se torna de difícil controle. Uma vez ocorrido o processo de perenização, esta planta pode florescer e disseminar sementes com baixos níveis de dormência durante o ano todo (GEMELLI et al., 2012).

Na atualidade é necessário fazer busca de meios alternativos de controle do *D. insulares*, uma vez que o mesmo apresenta resistência ao glifosato, sendo que os primeiros relatos de resistência foram observados no Paraguai por Timossi et al. (2006) e Machado et al. (2006), quando constataram que a aplicação de glifosato foi satisfatório, porém não evitou o rebrote da espécie. O primeiro foco de resistência relatado no Brasil foi em 2008, após aplicação de glifosato em uma lavoura de soja no município de Guaíra-Pr (Duke e Powles, 2008).

Portanto, diante das evidências de efeitos alelopático da crotalária encontradas em literatura e da necessidade de alternativas para o controle de *D. insularis*, neste trabalho busca-se avaliar possíveis efeitos de extratos das sementes de *C. spectabilis* para controle pré-emergente do capim amargoso.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados para o estudo foram etanol absoluto 99,99% de pureza, água destilada, Hipoclorito de sódio 10% (m/m), reagente FollinCiocauteau 2 N, metanol grau HPLC 99,8% de pureza, ácido fórmico grau HPLC 98% de pureza, carbonato de sódio p.a 99,5% de pureza, ácido gálico p.a 98% de pureza, n-hexano 99,9% de pureza. Também foram usados padrões de fenóis grau HPLC (+) catequina, (-) epicatequina, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido pcumárico, ácido trans iso-ferrúlico, (-) resveratrol e mirecetina adquiridos de Sigma-Aldrich, ácido gálico e quercitina adquiridos de Chem-Impex.

2.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Os materiais e equipamentos utilizados foram: extrator Soxhlet (Marconi, modelo MA-487/8, Brasil), cromatógrafo em fase líquida com detector por arranjo de diodos UFLC (Shimadzu), evaporador rotativo (Quimis, modelo Q344M1), espectrofotômetro uv-vis (Thermo scientific, modelo evolution 201), estufa (marca Solidsteel e modelo SSDcr), gerbox em poliestireno cristal transparente (dimensões: 11 x 11 x 3,5 cm, volume de 250 mL). Foi utilizado substrato marca maxfértil (85% Casca e Pinus compostada / 10% Vermiculita, 5% Cascas carbonizadas (Arroz e Pinus) aditivado com NPK), estufa incubadora com fotoperíodo e alternância de temperatura (marca Biofoco, modelo BF2 CGFP 295), lupa de bancada, e paquímetro digital (Stainless hardened).

2.3 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

A coleta das sementes de *C. spectabilis* foi realizada manualmente a partir de plantas com vagens secas no mês de abril de 2019 em uma propriedade do município de Laranjeiras do Sul. Após a colheita das sementes, as mesmas foram secas em local sombreado durante 72 horas em temperatura ambiente. As sementes foram armazenadas protegidas da luz em frascos de plásticos hermeticamente fechados até o seu uso.

Já as sementes da *D. insularis* foram obtidas no laboratório de plantas espontâneas do campus da UFFS de Laranjeiras do Sul. Estas foram coletadas

no ano de 2018, secas em sombra por 10 dias e mantidas numa temperatura média de 22 °C até seu uso (Zambão et al., 2020).

2.4 MOAGEM DAS SEMENTES DE CROTALÁRIA

Antes da extração as sementes de crotalária foram moídas em liquidificador doméstico. Após a moagem, a granulometria do material foi padronizada com o uso de uma peneira domestica de aço inox, sendo que a parte mais grossa foi moída novamente a fim de garantir a fragmentação de todas as sementes e a homogeneidade do material.

2.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O extrato da semente da crotalária foi obtido através do extrator Soxhlet utilizando como solvente etanol e n-hexano.

A semente moída foi transferida para cartucho de celulose e disposta no Soxhlet com o solvente e envolto em papel alumínio a fim de proteger da luz. A temperatura do sistema foi ajustada de acordo com a temperatura de ebulição do solvente a fim de manter o gotejamento constante dos solventes sobre a amostra durante a extração (78 °C para extração com etanol e 69 °C para extração com N-hexano). O tempo de extração foi de aproximadamente 8 horas. Após a extração, o solvente foi removido em evaporador rotativo sob vácuo a 60 °C até massa constante.

A extração com água foi realizada em bancada. Foi medida em béquer a amostra moída e adicionado água na proporção de 1:10 (amostra:água em massa/volume). A mistura foi mantida em temperatura ambiente sobhomogeneização com agitador magnético por 4 horas e filtrada com papel filtro sob vácuo. O extrato seco foi obtido eliminando a água em evaporador rotativo sob vácuo para a 60 °C, até massa constante. Os extratos secos foram armazenados a -10 °C até seu uso.

2.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada pelo método *Folin Ciocalteu* (Minussi et al., 2003) com modificações. Uma porção de 30 gramas de cada extrato foi dissolvida em 100 ml etanol, sendo que uma alíquota de 0,50 mL da solução de cada extrato foi transferida para balão de 25 mL. Foi adicionado

nos balões, sobre o extrato diluído, 3,0 mL de água destilada, 4,0 mL de solução de *Folin Ciocalteu* 10% (v/v) e, por 8 minutos, foram adicionados 2,0 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (m/v). O volume foi completado com água destilada, a mistura homogeneizada e protegida da luz. Os frascos foram mantidos em repouso por 2 horas e posteriormente foi realizada a leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 765 nm descontando o valor do branco de cada medida. Uma curva padrão (nas concentrações de 0; 0,2; 0,5; 1,0; 2,5 e 5,0 mg L⁻¹) com ácido gálico (AG) foi preparada e medida a absorvância em 765 nm. A análise de cada amostra e o branco foi realizada em triplicata.

2.7 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC

Os extratos foram dissolvidos em etanol e filtrados em filtro seringa de PTFE com porosidade de 0,22 µm. A análise foi conduzida em cromatógrafo de fase líquida acoplado a um detector por arranjo de diodos.

Foi injetado o volume de 1 µL mantendo a coluna em 40 °C, fase móvel (99,9% água, 0,1% de ácido fórmico, fase móvel A; 99,9% metanol, 0,1% ácido fórmico, fase móvel B) numa vazão de 1,2 mL min⁻¹ e gradiente como mostrado na Tabela 1. Para a identificação e quantificação foi lida curva de calibração com soluções padrão de fenóis. Os resultados foram expressos em micrograma de composto por grama de extrato (µg g⁻¹).

Tabela 1: Programa do gradiente de eluição para fase móvel B.

Etapa	Tempo (min)	Concentração fase móvel B (%)
1	0,01	14
2	16	55
3	16,01	100
4	17	100
5	17,01	14
6	20	14

Fonte: O autor

2.8 TESTE DE EMERGÊNCIA DO CAPIM AMARGOSO (*D. insularis*) NA PRESENÇA DE EXTRATO DE *C. spectabilis*

O delineamento experimental utilizado foi o bifatorial 2x4 (2 extratos e 4 tratamentos, concentração de 0; 0,1 % 0,5% e 1,0%)

Foram usadas gerbox com 4 furos na base, cada furo medindo 3 milímetros, com a finalidade de escoar possível excesso de água. Foi acrescentado o substrato até uma altura de aproximadamente 2 cm, e inseridas 50 sementes por gerbox e cobrindo as mesmas com 0,2 cm de substrato, o qual foi umedecido com 20 mL de água. As gerbox foram tapadas e acondicionadas na câmara de germinação usando temperatura em rampa recomendada pelas Regras de Análise de Sementes (RAS Brasil, 2009) de acordo com a espécie, na qual a temperatura foi ajustada para 30 °C durante o período diurno e 20 °C durante o período noturno.

Para o teste de emergência do capim amargoso na presença de extratos foram usadas gerbox, perfuradas da mesma maneira das utilizadas no teste de viabilidade das sementes. Foram utilizadas 5 gerbox para a testemunha (sem extrato); 5 gerbox para cada um dos tratamentos. Os tratamentos consistiram da aplicação do extrato obtido em meio aquoso e extrato obtido em etanol, ambos na concentração de 0,1, 0,5 e 1% (m/v) diluídos em água destilada.

Em cada uma das gerbox foi adicionado 2 cm de substrato e vinte sementes de capim amargoso e sobre as sementes uma fina camada de substrato (0,2 cm). Ao final do preparo de cada gerbox o substrato foi umedecido com 20 mL de solução de extrato ou água (testemunha).

Para a aplicação de cada extrato foi usado um borrifador, sendo que foram realizadas as aplicações a cada dois dias, totalizando no final dos 14 dias 7 aplicações de 20 ml cada. Depois de umedecido o substrato as gerbox foram tapadas e acondicionadas na câmara de emergência usando a mesma temperatura do teste de viabilidade do capim amargoso descrita anteriormente.

Já para a determinação do IVE foi repetido a semeadura da *D. insularis* as 35 gerbox de todos os tratamentos foram avaliadas diariamente, nessa verificação as plântulas que atingissem um centímetro de parte aérea eram removidas. O IVE foi calculado pelo somatório do número de plântulas normais a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos à formação da plântula,

utilizando como referência a fórmula proposta por Maguire (1962): $IVE = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + \dots + (Gn/Nn)$.

2.9 MASSA SECA E MASSA FRESCA

Ao final do teste de emergência (14 dias após a semeadura) do capim amargoso foi realizada a medida de massa seca e massa fresca.

Para avaliação da massa seca, parte aérea e raízes das plântulas foram transferidas para cadinhos de porcelana já secos e de massa conhecida, a massa do conjunto foi medida e levados para estufa com circulação forçada de ar com temperatura de 60 °C por um período de 48 horas. Após secagem foi realizada a diferença entre a matéria seca e a matéria fresca expressa em porcentagem em relação a massa úmida.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS E ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – HPLC

A partir da determinação de fenóis totais dos extratos de semente de crotalária foram obtidas concentrações de $13,8 \pm 0,6$, $13,5 \pm 0,1$ e $1,1 \pm 0,1$ mg equivalente de AG g^{-1} para os extratos etanólico, aquoso e hexânico respectivamente. Essas concentrações são consideravelmente elevadas, podendo estar relacionadas a presença de dezenas de diferentes compostos químicos com grupo fenol. Como os fenóis são compostos polares e o n-hexano é apolar, os fenóis são pouco extraídos com n-hexano e mais facilmente extraídos com água e etanol, pois estes dois últimos solventes têm polaridade mais próxima a dos fenóis.

A análise dos extratos por HPLC revelou que para cada extrato (etanólico, hexânico e aquoso) a variedade e concentração de compostos é diferente (Tabela 2). Foram utilizados padrões de dez diferentes fenóis para as identificações e quantificação, porém foram identificados apenas seis. Outros compostos também fazem parte da composição desses extratos, entretanto pela não disponibilidade de padrões não foi possível fazer a identificação e quantificação.

O fenol encontrado em maior abundância foi a catequina, no extrato obtido em etanol, mas também identificado em quantidade considerável no extrato aquoso. O resveratrol também foi identificado em ambos os extratos, mas em concentrações menores tanto em água como em etanol.

Os demais fenóis como o ácido vanílico, ácido gálico, mirecetina e ácido p-cumárico foram encontrados apenas no extrato etanólico. Como no extrato hexânico foi extraído apenas um dos fenóis, o ácido gálico, e em concentração relativamente baixa, os testes com extrato etanólico e com extrato aquoso ganharam enfoque nos testes subsequentes por apresentarem concentração e variedade de fenóis, que são os responsáveis pela fitotoxicidade (Borella et. Al., 2011). Os fenóis (-) epicatequina e ácido trans ferúlico, quercetina e ácido caféico não foram identificados em nenhum extrato.

Tabela 2: Concentração de fenóis em extratos de semente de *C. spectabilis* obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência.

Composto	Concentração de fenol ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato hexânico
Ácido gálico	822 \pm 54	-	409 \pm 37
(+) catequina	5076 \pm 191	3541 \pm 211	-
Ácido vanílico	1277 \pm 161	-	-
Ácido p-cumárico	548 \pm 28	-	-
Resveratrol	440 \pm 24	309 \pm 55	-
Mirecetina	617 \pm 12	-	-

Fonte: O autor

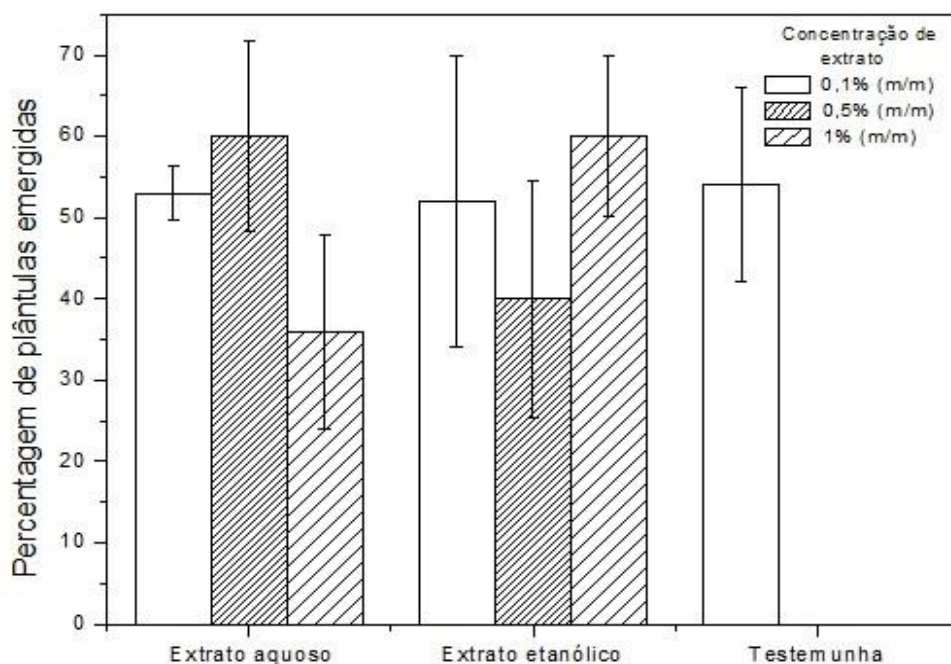
3.2 TESTE DE EMERGÊNCIA DE *D. insularis* NA PRESENÇA DE EXTRATOS DE SEMENTE DE *C. spectabilis*

Para a realização do teste foram utilizados apenas os extratos aquoso e etanólico, pois de acordo com os resultados das análises químicas, o extrato hexânico apresentou menor capacidade de extração de fenóis em relação ao demais, sendo que os fenóis têm ação fitotóxica conhecida, inibindo a emergência de sementes e o crescimento de plantas Borella et al (2011).

O número de plântulas normais na primeira contagem de emergência, realizada no 7º dia após a semeadura *D. insularis* é mostrado na Figura 3 como a média ($n = 5$) \pm o intervalo de confiança para 95% de confiabilidade.

Nesta primeira contagem os diferentes tratamentos apresentaram resultados que são estatisticamente iguais a 95% de confiabilidade, mas foi observada uma tendência do extrato aquoso a 1% e do extrato etanólico a 0,5% apresentar menor percentual de plântulas emergidas. Devido a grande variação de resultados entre as repetições o intervalo de confiança ficou relativamente grande, de maneira que apenas grandes diferenças em relação a testemunha fossem estatisticamente diferentes, o que não ocorreu.

Figura 3: Percentual de plântulas de *D. insularis* normais em cada tratamento na primeira contagem de emergência.



Fonte: o autor

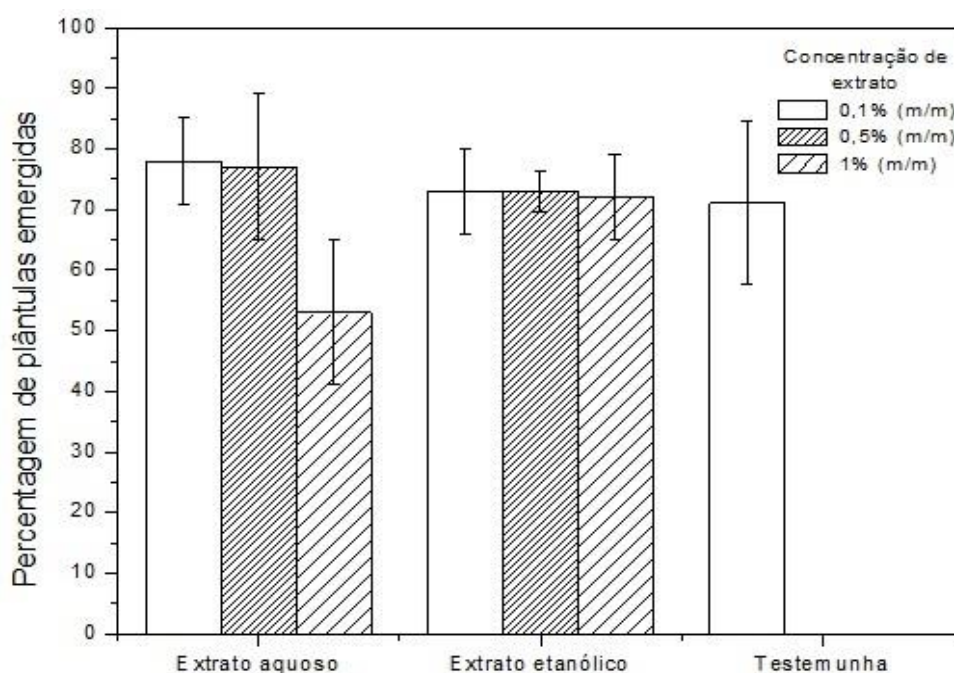
A segunda contagem foi realizada no 14^o dia após a semeadura, sendo que o percentual de plântulas germinadas para cada tratamento é mostrado na Figura 4 como a média ($n = 5$) \pm o intervalo de confiança para 95% de confiabilidade.

Na contagem final de plântulas emergidas assim como na primeira, os dados foram estatisticamente iguais em 95% de confiabilidade, entretanto ficou mais evidente a tendência do extrato aquoso a 1% apresentar a redução de porcentagem de plântulas normais. As demais concentrações do extrato etanólico apresentaram resultados muito próximos da testemunha, não apresentando efeitos na emergência de *D. insularis*.

Por se tratar de uma planta espontânea com potencial de alta redução na produtividade da cultura de interesse econômico, quanto menor a emergência da mesma, melhor a efetividade do extrato. Boehm et al. (2014), observou a redução da emergência de *D. insularis* sob o efeito do extrato de crambe (*Crambe abyssinica Hochst*), porém a mínima concentração utilizada foi de (2%). Concentrações de extrato, menores como as utilizadas neste trabalho,

podem não ser suficientes para causar diferenças significativas entre os tratamentos, com esses resultados concluímos que são necessários mais estudos, usando extrato em maiores concentrações.

Figura 4: Percentual de plântulas de *D. insularis* germinadas em cada tratamento no 14º dia após a semeadura.



Fonte: o autor

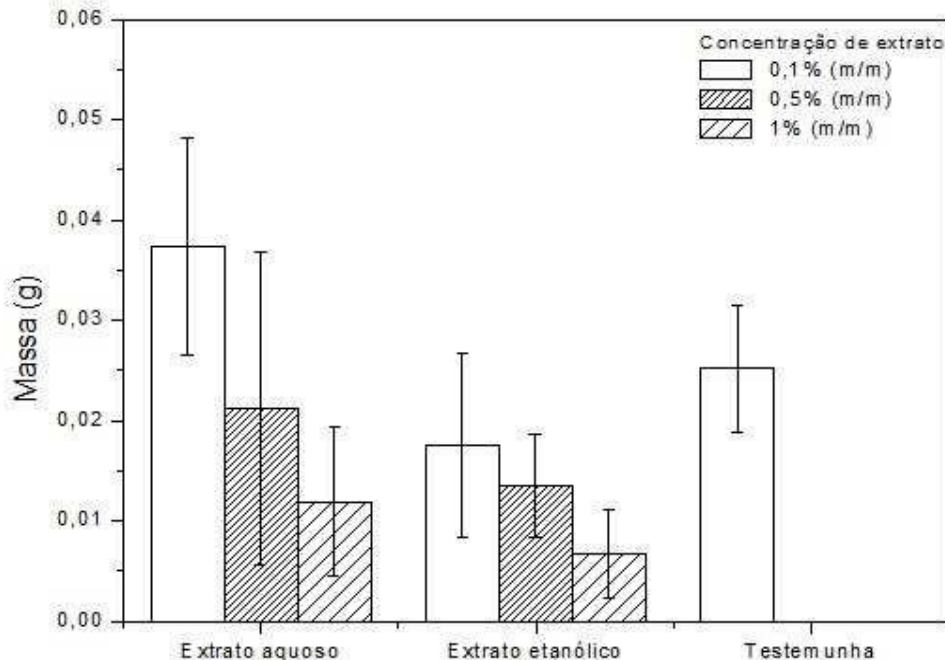
Estudos realizados por Lustosa et al (2007) demonstram que extratos obtidos de diferentes espécies de pimenta causaram redução na emergência da alface, e que quanto maior a concentração do extrato, menor era a emergência. Resultados obtidos por Almeida (2008) evidenciaram que não houve redução de plantas germinadas de *Raphanus sativum* e *Lepidium sativum* quando expostas a extratos de folhas de *Leonurus sibiricus*, resultados semelhantes ao observado no presente trabalho.

3.3 MASSA SECA E MASSA FRESCA

Os resultados de massa fresca (em gramas) são mostrados na Figura 5 como a média ($n = 5$) \pm o intervalo de confiança para 95% de confiabilidade. O extrato etanólico nas concentrações de 0,5 e 1% apresentaram redução na matéria fresca em relação a testemunha e ao extrato aquoso na concentração

de 0,1%. Sendo assim para o extrato etanólico, quanto maior a concentração do extrato, maior é a redução da matéria fresca.

Figura 5: Massa fresca de *D. insularis* no 14º dia após a semeadura.

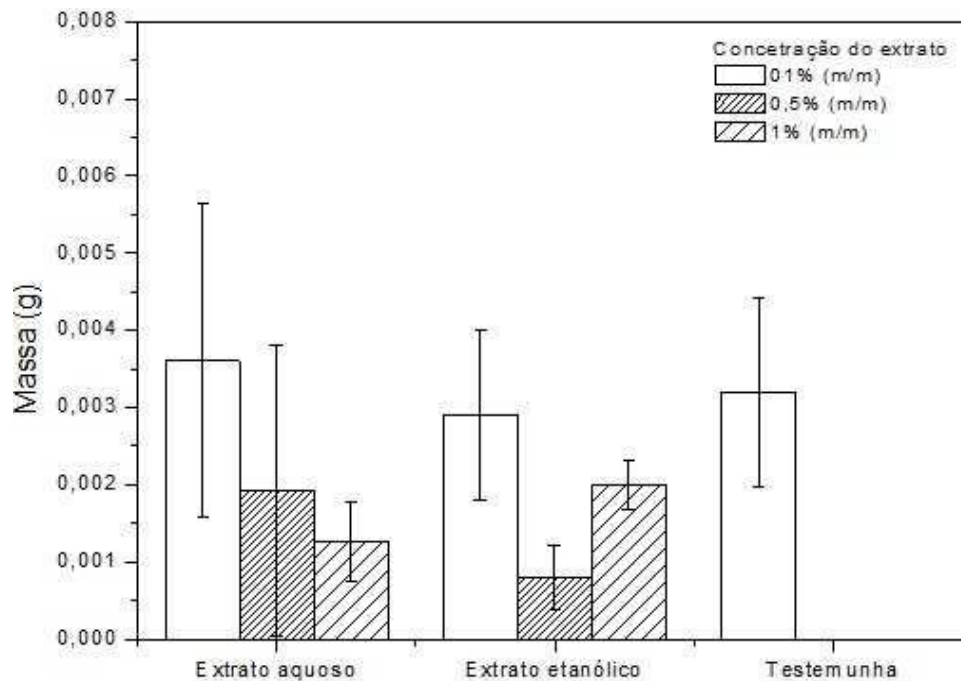


Fonte: o autor

Os resultados de matéria seca (em gramas) são mostrados na Figura 6 como a média ($n = 5$) \pm o intervalo de confiança para 95% de confiabilidade. Os resultados para o tratamento em que foi aplicado extrato etanólico na concentração de 0,5% e aquoso a 1% se mostrou eficiente na redução de massa de matéria seca em relação a testemunha. Resultados esses que corroboram com estudos feitos por Stulp et al. (2011), que demonstram que compostos fenólicos influenciam em processos fisiológicos essenciais as plantas como absorção de nutrientes, reduzindo assim a matéria seca.

O extrato etanólico em concentração de 1,0% que promoveu redução de matéria úmida, não reduziu a matéria seca em relação a testemunha, embora tenha apresentado tendência de redução.

Figura 6: Massa seca de *D. insularis* no 14º dia após a semeadura.



Fonte: o autor

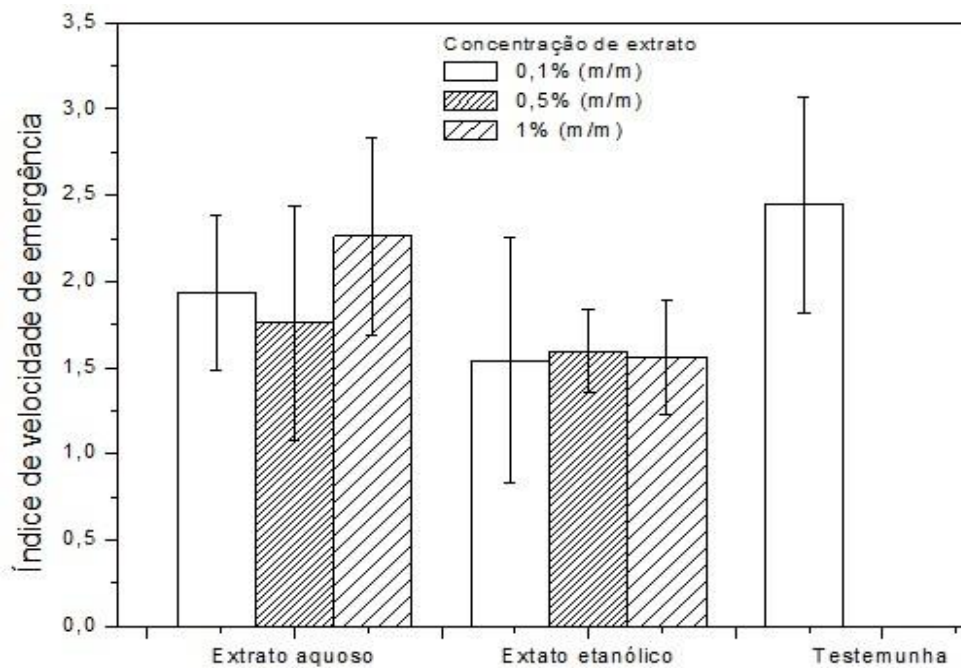
3.4 DETERMINAÇÃO DO IVE

O índice de velocidade de emergência possui correlação direta com alguns fatores nas plantas espontâneas, entre eles a formação do stand de plantas, e sua presença no banco de sementes no solo visando colonização em diferentes espaços no tempo com foco em sobrevivência e propagação. o IVE é correlacionado diretamente com a velocidade de emergência, sendo que quanto maior for o IVE maior é o vigor dessa semente, se tratando do capim amargoso se busca IVE menor pois a mesma é uma planta invasora. Na figura 7 são mostrados os resultados de Índice de velocidade de emergência (IVE) *D. insularis* submetidos a diferentes tratamentos.

No extrato aquoso algumas variações foram observadas, mas não se diferiram estatisticamente em relação a testemunha. Já o extrato etanólico se manteve muito próximo em ambas as concentrações, não diferindo estatisticamente da testemunha, porém com tendência a reduzir o IVE independente da concentração. Segundo Santana et al (2006) mesmo que a porcentagem final de emergência não sendo afetada pela ação fitotóxica dos aleloquímicos, esse parâmetro pode ser alterado tanto pela sincronia como na velocidade da emergência das plantas que sofreram ação dos compostos, ou

seja, a aplicação dos extratos da semente da crotalária não afetaram o vigor das sementes de *D. insularis*.

Figura 7: Índice de velocidade de emergência (IVE) de *D. insularis* submetidos a diferentes tratamentos com extratos de semente de crotalária.



Fonte: o autor

4 CONCLUSÕES

Foi observado que os extratos das sementes de *C. spectabilis* apresentam em sua composição diversos fenóis em concentrações variadas, com exceção do extrato hexânico o qual apresentou apenas um fenol e a menor concentração de fenóis totais, aonde o extrato etanólico é o mais indicado a uso, pois ele apresenta mais número de fenóis e em maior concentração. Nenhum tratamento com extrato das sementes de *C. spectabilis* ocasionou redução na emergência de *D. insularis*, e nem redução do índice de velocidade de emergência. Em relação a matéria fresca, os tratamentos com extrato etanólico a 0,5 e 1,0% geraram resultados inferiores a testemunha, sendo que apenas na concentração de 0,5% de extrato etanólico apresentou redução da matéria seca.

De maneira geral os efeitos fitotóxicos dos extratos das sementes de *C. spectabilis* na emergência *D. insularis* foram pouco significativos não justificando a aplicação pré-emergência e início da emergência. Como perspectiva, foi observada a necessidade de trabalhar com os extratos em maiores concentrações, pois as concentrações usadas ficaram abaixo da dose letal para as sementes de *D. insularis*

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.F.R.; DELACHIAVE, M.E; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; SANTOS, L.C.; MANCINI, E.; FEO, V. **In vitro allelopathic potential of *Leonurus sibiricus* L. leaves.** Journal of Plant Interaction, v.3, n.1, p.39 - 48, 2008.
- ARAÚJO E.O; SANTO C.L.E.; SANTANA, C.N. **Potencial alelopático de extratos vegetais de *Crotalaria juncea* sobre emergência de plantas daninhas.** Revista Brasileira de Agroecologia, v. 5, n. 2, 2010.
- BOEHM, N.R.; SIMONETTI, A.P.M. **Interferência alelopática do extrato de crambe sobre sementes de capim-amargoso.** Cultivando o Saber, v.7. n.1, p.83 - 93, 2014.
- BORELLA, J.; MARTINAZZO, E.G.; AUMONDE, T.Z. **Atividade alelopática de extratos de folhas de *Schinus molle* L. sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete.** Revista Brasileira de Biociências, v.9, n.3, p.398 - 404, 2011.
- Brasil. Ministério da agricultura pecuária e abastecimento. **Regras para análises de sementes.** Secretaria de defesa agropecuária, Brasília DF. Mapa/ ACS 2009, pg 308.
- MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L.; CORDI, L.; ROTILIO, D.; PASTORE, G. M.; DURÁN, N. **Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines.** Food Chemistry, v. 82, n. 3, p. 409-416, 2003.
- CORREIA N.M.; LEITE, G.J.; GARCIA, L.D. **Resposta de diferentes populações de *Digitaria insularis* ao herbicida glyphosate.** Viçosa-MG, v. 28, n. 4 p. 769-776, 2010.
- DIONÍSIO, L.P.G.; BRIGHENTI, A.M.; NICODEMOS, L.C.; KARAM, D. **Análise do crescimento do capim-amargoso sob influência da temperatura: alternância 20°C diurna e 15°C noturna,** Jaguariúna SP, 2012.
- FONTANÉTTI A.; CARVALHO, G.J.; ALMEIDA, K.; DUARTE, W.F. **Adubação verde no controle de plantas invasoras nas culturas de alface-americana e de repolho,** Ciência e Agrotecnologia. v.28, n. 5, p. 967 – 973, 2004.
- HENRIQUE, M.O.; FIGUEREDO, R.A. **Ecologia reprodutiva de crotalária (*Crotalaria spectabilis* Roth, Fabaceae) em área de cultivo agroecológico.** Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v.13, n. 3, p. 385 - 391, 2018.
- LUSTOSA, F.L.F.; OLIVEIRA, S.C.C.; ROMEIRO, L.A. **Efeito alelopático de extrato aquoso de *Piper aduncum* L. e *Piper tectoniifolium* Kunth na emergência e crescimento de *Lactuca sativa* L.** Revista Brasileira de Biociências, v.5, supl. 2, p. 849 -851, 2007.

MELLO, L.F.; VALENTIM, L. M. R; BIDO, G.S. **Potencial alelopático do extrato aquoso da crotalária sobre o milho.** Revista Brasileira de Agroecologia. V. 6, n. 1, p 108 – 116, 2011.

PEREIRA, S.; SIMONETTI, A.P.M.M. **Alelopatia de extrato de crambe sobre a emergência e desenvolvimento inicial da soja.** Cultivando o Saber, Cascavel, v.7, n.1, p.67 - 72, 2014.

SANTANA, D.G.; RANAL, M.A.; MUSTAFA, P.C.V.; SILVA, R. **Germination measurements to evaluate allelopathic interactions.** Allelopathy Journal, v.17, p. 43 - 52, 2006.

STÜLP, J.L.; BATTISTUS, A.G.; BULEGON, L.G.; PALUDO, W.E.; PINTO NETO, A.A.; BORGES, F.G. **Utilização de extrato de leucena (*Leucaena leucocephala*) no desenvolvimento inicial de rabanete (*Raphanus sativus*) visando melhor qualidade das plantas.** Cadernos de Agroecologia. v. 6, n. 2, 2011.

TEIXEIRA, C.M.; ARAUJO, J.B.S.; CARVALHO, G.J. **Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de picão-preto (*Bidens pilosa* L.).** Ciência Agrotecnologia, v. 28, n. 3, p. 691 - 695, 2004.

ZAMBÃO, J.; BITTENCOURT, H.v.H.; BONOME, L.T.S.; TREZZI, M.M.; FERNANDES, A.C.P.P. **Water restriction, salinity and depth influence the germination and emergence of sourgrass.** Planta Daninha. v. 38, 2020.