



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**

**CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL**

**CURSO AGRONOMIA**

**LUCAS BOTEGA DIAS**

**ANÁLISE DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS E DO ÓLEO ESSENCIAL DA  
FOLHA DE *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg SOBRE O  
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS**

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2021**

**LUCAS BOTEGA DIAS**

**Análise da bioatividade de extratos e do óleo essencial da folha de  
*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg sobre o desenvolvimento inicial de  
plântulas**

Trabalho e conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção  
de grau de Bacharel em Agronomia da  
Universidade Federal da Fronteira

Orientador: Prof. Dr. Henrique von Hertwig Bittencourt

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2021**

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Dias, Lucas Botega

ANÁLISE DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS E DO ÓLEO  
ESSENCIAL DA FOLHA DE GUABIROBA (Campomanesia  
xanthocarpa O. Berg) SOBRE O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE  
PLÂNTULAS. / Lucas Botega Dias. -- 2021.

53 f.:il.

Orientador: Doutor Henrique Von Hertwig Bittencourt

Co-orientador: Doutor Luciano Tormen

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

1. Bioatividade de C. xanthocarpa. 2. Bioherbicida.  
3. Extratos e óleo essencial de guabiroba. 4.  
Alelopatia. I. Bittencourt, Henrique Von Hertwig,  
orient. II. Tormen, Luciano, co-orient. III.  
Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

LUCAS BOTEGA DIAS

**ANÁLISE DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS E DO ÓLEO ESSENCIAL DA  
FOLHA DE GUABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg) SOBRE O  
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS**

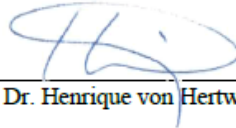
Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia linha de formação em Agroecologia pela Universidade Federal da Fronteira Sul- Campus Laranjeiras do Sul (PR)

Orientador: Prof. Dr. Henrique von Hertwig Bittencourt

Coorientador: Prof. Dr. Luciano Tormen

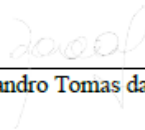
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 13/10/2021.

BANCA EXAMINADORA



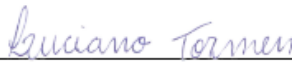
---

Prof. Dr. Henrique von Hertwig Bittencourt



---

Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome



---

Prof. Dr. Luciano Tormen

Dedico este trabalho aos meus pais, meus maiores exemplos, que não pouparam esforços para que eu pudesse me formar. Minha eterna gratidão

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pelo amor, a vida, a saúde e a oportunidade de viver ao lado de pessoas iluminadas.

Aos meus pais Luiz e Aparecida e ao meu irmão Luiz Otávio, que sempre me apoiaram durante esses anos em busca dessa conquista que é nossa. Sou grato por todo o amor, as lições e os conselhos que fizeram eu me tornar quem eu sou. Mesmo longe de casa pude sentir vocês ao meu lado em cada dia dessa caminhada.

Aos orientadores Prof. Dr. Henrique von Hertwig Bittencourt e Prof. Dr. Luciano Tormen pela orientação, pelos aprendizados, pelo exemplo e pelo apoio. Realizar esse trabalho durante a pandemia foi um grande desafio, mas vocês sempre estiveram dispostos para me orientar durante as atividades. Sempre serei grato a vocês. Ao Prof. Dr. Lisandro T. S. Bonome agradeço por participar da banca avaliadora e pelos ensinamentos em sala de aula.

Às amigas da graduação e da vida, Ivan, Tiago, Rafaela, Cassiane, Lucas, Gabriel, Edidouglas e Leonardo, por estarem ao meu lado em todos os momentos dessa jornada, sempre lembrarei de vocês pela coragem e pela evolução que tivemos no curso e na vida. Ninguém chega a lugar nenhum sozinho, e fico feliz de que todos nós tenhamos conseguido chegar ao final, superando juntos as dificuldades que encontramos no caminho.

A minha namorada Juliana Cristina que esteve junto a mim em cada momento, agradeço pelo apoio, o carinho e o amor. Existem pessoas iluminadas que ao entrar em nossas vidas as mudam por completo, e sou grato por ter encontrado uma delas. Você me inspira a ser melhor a cada dia.

Ao Júlio e a Leoni, que me acolheram como um filho e estiveram do meu lado durante esse período, agradeço pelo apoio.

Também à Universidade Federal da Fronteira Sul pela oportunidade de cursar o ensino superior público, de qualidade, com ótimos professores que foram fonte de conhecimento e inspiração durante esses anos.

## RESUMO

Várias são as espécies vegetais que apresentam em seu metabolismo secundário compostos bioativos capazes de interferir no desenvolvimento de outros organismos, esse efeito vem sendo observado nos metabólitos secundários de plantas do gênero *Campomanesia*. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito bioherbicida do óleo essencial e dos extratos aquoso (EAQ), de álcool metílico (EAM), e de acetona (EAC) de *C. xanthocarpa*, nas concentrações de 1 e 5% (m/v), sobre o desenvolvimento inicial de *Triticum aestivum* e *Medicago sativa*. O óleo essencial foi obtido através da hidrodestilação e os extratos em extrator Soxhlet. O óleo essencial e os extratos foram aplicados sobre as plântulas alocadas em placas de petri, que permaneceram 72 horas em câmara de germinação tipo BOD até as avaliações. Após esse período foi avaliado o comprimento da parte aérea, da radícula e o comprimento total das plântulas, além disso, as plântulas foram analisadas em relação a sintomatologia em resposta aos tratamentos. Quanto a composição dos extratos e do óleo, estes tiveram seus fenóis totais quantificados pelo ensaio de Folin-Ciocalteu e a identificação de analitos através de cromatografia líquida. O óleo essencial foi o tratamento que mais causou interferência no desenvolvimento inicial de ambas as espécies, que 5% inibiu totalmente o desenvolvimento da parte aérea de alfafa. Já na radícula a concentração de 5% não diferiu de 1%. Analisando apenas os extratos não houve interferência sobre a parte aérea de nenhuma das duas espécies. Entretanto, o comprimento de radícula foi responsivo, o comprimento total de plântulas de trigo sofreu interferência maior dos extratos de álcool metílico e acetona a 5% em relação ao extrato aquoso. Já para a alfafa, a radícula e comprimento total de plântulas foram mais responsivos ao extrato de álcool metílico a 1%, e o aumento de sua concentração não resultou em um efeito maior. Em relação a sintomatologia, apenas os bioensaios com alfafa apresentaram anormalidades como intumescimento, afinamento de radícula e oxidação de radícula. O extrato aquoso e metanólico apresentaram as maiores quantidades de fenóis por grama.

**PALAVRAS-CHAVES:** Guabiroba. Alelopatia. Bioherbicida.

## ABSTRACT

Many species have in their secondary metabolism some bioactive compounds capable to interfere in other organism's metabolism, these compounds were found in some plants from the *Campomanesia* gender. The research evaluates the bioherbicide effect from the essential oil, aqueous extract (EAQ), methanolic extract (EAM), and acetone extract (EAC) from *C. xanthocarpa*, in two different concentrations, 1, and 5% (m/v), in the growth of two species, *Triticum aestivum* and *Medicago sativa*. The essential oil was obtained in a Clevenger device, while the extracts were obtained in a Soxhlet extractor. The oil and the extracts were applied in the plantlets that were in a petri dish, then stayed there for 72 hours, in a BOD germination chamber. After this time the plantlets were evaluated in their total length, aerial part, and root length. They're also analyzed for symptomatology in response to treatments. The phenols in the extracts and the essential oil were quantified and analyzed in liquid chromatography and the Folin-Ciocalteu test. The essential oil caused the bigger interference in the initial growth in both species, able to inhibit the aerial part in a 5% concentration. In the radicle, the oil caused the same response in 1% and 5%. Looking only at the extracts, They didn't have a difference in the aerial parts in wheat plantlets, however, the radicles and the total length were interfered with by the acetone and methanolic extracts at 5% concentration. The *M. sativa* plantlets also don't suffer interference from the extracts. In the radicles, the methanolic extract at 1% interfered more than the others treatments at this concentration and was similar to all the extracts at 5% concentration, which were all equivalents. Looking for symptoms, only the *M. sativa* plantlets showed abnormalities like swelling, radicle thinning, and radicle oxidation. The methanolic and aqueous extracts had the biggest phenolic concentration per gram.

KEY WORDS: Guabiroba. Allelopathy. Bioherbicide.



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Resposta do comprimento de coleóptilo de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> ) em contato com diferentes extratos da folha de guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ).....	26
Gráfico 2 - Resposta do comprimento de coleóptilo de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> ) as diferentes concentrações dos tratamentos aplicados.....	27
Gráfico 3 - Desenvolvimento da radícula de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> ) em contato com diferentes extratos da folha da guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ) em duas concentrações diferentes.....	28
Gráfico 4 - Interferência dos extratos e do óleo essencial da folha da guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ) sobre o comprimento total de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> ).....	29
Gráfico 5 - Interferência das diferentes concentrações de extratos e do óleo essencial da folha da guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ) sobre o comprimento total de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> ).....	30
Gráfico 6 - Desenvolvimento do epicótilo de alfafa ( <i>Medicago sativa</i> ) em contato com diferentes extratos da folha da guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ) em duas concentrações diferentes.....	31
Gráfico 7 - Desenvolvimento da radícula de alfafa ( <i>Medicago sativa</i> ) exposta a diferentes extratos e ao óleo essencial da folha da guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ) em diferentes concentrações.....	32
Gráfico 8 - Comprimento total de alfafa ( <i>Medicago sativa</i> ) exposta a diferentes extratos e ao óleo essencial de folha de guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ) em diferentes concentrações.....	33
Gráfico 9 - Concentração de fenóis totais presentes em extratos e óleo essencial obtidos a partir da folha de guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ).....	34

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Imagem 1 - Plântula de alfafa tratada com óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa* a 1% apresentando intumescimento do hipocótilo.....37
- Imagem 2 - Comparativo visual entre a testemunha, disposta acima, e o tratamento de óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa* a 1%, disposto abaixo, que causou intumescimento do hipocótilo.....38
- Imagem 3 - Plântulas de alfafa com raízes oxidadas, dispostas acima, e com raízes finas, dispostas abaixo, após tratamento com extrato de acetona de *Campomanesia xanthocarpa* a 5%.....39
- Imagem 4 - Plântulas de alfafa com diferentes sintomas após tratamento com extrato de acetona das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* a 5%. Estão dispostas, da esquerda para a direita, plântula com raiz normal, raiz oxidada e raiz fina.....40
- Imagem 5 - Plântulas de alfafa sem desenvolvimento de parte aérea após tratamento com óleo essencial das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* a 5%. .....41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Programa do gradiente de eluição para fase móvel B.....	25
Tabela 2 - Presença e concentração de compostos fenólicos nos diferentes extratos obtidos a partir da folha da guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> )..	35
Tabela 3 - Porcentagem de plântulas de alfafa anormais em resposta aos tratamentos aplicados no teste de bioatividade.....	36

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	13
2 OBJETIVOS .....	14
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
3.1 A BIOATIVIDADE DE GUABIROBA .....	15
3.2 IMPORTÂNCIA DE NOVAS MOLÉCULAS HERBICIDAS .....	17
3.3 PANORÂMA GERAL SOBRE BIOHERBICIDAS .....	18
4 METODOLOGIA.....	19
4.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	20
4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS .....	20
4.2.1 Ordem de extração .....	21
4.3 TESTES DE BIOATIVIDADE .....	21
4.4 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 BIOENSAIO EM PLÂNTULAS DE TRIGO .....	25
5.2 BIOENSAIO EM PLÂNTULAS DE ALFAFA.....	30
5.3 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS .....	33
5.4 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – HPLC.....	35
5.5 AVALIAÇÃO SINTOMATOLÓGICA DAS PLÂNTULAS DE ALFAFA .....	36
5 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	44

## 1 INTRODUÇÃO

As espécies vegetais produzem uma grande variedade de compostos químicos em seu metabolismo, sendo que esses compostos podem ser divididos em metabólitos primários e secundários. Enquanto o metabolismo primário é comum a todas as espécies vegetais, produzindo substâncias essenciais ao desenvolvimento do vegetal, o metabolismo secundário é menos genérico, e está ligado a resposta da espécie em interações interespecíficas ou estresses abióticos. De maneira geral esses metabólitos são terpenos, fenóis ou compostos nitrogenados (BORGES *et al.*, 2020).

No metabolismo secundário das plantas são produzidos os compostos alelopáticos, substâncias produzidas por algumas espécies vegetais que, quando liberados no ambiente, exercem efeitos positivos ou negativos sobre outras (FERREIRA, 2004 *apud* REIGOSA *et al.*, 2013). Algumas plantas utilizam dessa ferramenta para se propagar e dominar a comunidade vegetal no ambiente em que se encontram (BARBOSA *et al.*, 2008). Ens *et al.* (2008) avaliou o efeito alelopático de compostos hidrofóbicos produzidos pela raiz de *Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*, planta invasora no leste da Austrália, sobre *Acacia longifolia* var. *sophorae*, espécie nativa do país, e encontrou efeito fitotóxico nesses compostos, demonstrando assim que a alelopatia é uma das estratégias utilizadas por essa invasora para dominar o ambiente.

Partindo para as ferramentas de controle disponíveis aos produtores, os herbicidas podem ser considerados substâncias químicas ou agentes biológicos que são capazes de matar ou retardar de crescimento de uma planta alvo, como as plantas espontâneas (ROMAN *et al.*, 2005). O controle de populações de plantas indesejáveis nos dias atuais é feito majoritariamente com o uso de herbicidas sintéticos, devido a facilidade de obtenção (SILVA; SILVA, 2007). Contudo, grande parte das plantas espontâneas tem uma alta produção de sementes e ampla variabilidade genética. Esses fatores combinados a exposição contínua a alguns herbicidas aplicados de maneira inadequada acabam selecionando populações resistentes, o que vem sendo um grande problema para a agricultura e tende a se agravar (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2003).

São vários os trabalhos que hoje buscam avaliar os efeitos alelopáticos e identificar as substâncias produzidas no metabolismo secundário das plantas, buscando encontrar compostos que possam ser utilizados como bioherbicidas e se tornem opções viáveis no manejo de plantas espontâneas, com o intuito de isolar um princípio ativo de ação diferente nas plantas alvo, para que esse possa ser usado no manejo de plantas espontâneas ou para amenizar o problema de resistência de plantas espontâneas a herbicidas (SILVA; RICCI; ARRUDA *et al.*, 2017; CORNES, 2005; ULIANA, 2020; PASTORI *et al.*, 2013).

Como exemplo, estudos realizados com *Callistemon citrinus* encontraram uma molécula com potencial alelopático em suas raízes, a leptospermona. A partir dessa molécula foi produzido um análogo de atividade maior, a mesotriona, que hoje é usada para o controle de plantas espontâneas na cultura do milho e da cana-de-açúcar (CORNES, 2005).

Entre os metabólitos secundários os estudos com óleos essenciais vêm se tornando um tema cada vez mais presente em diversas áreas do conhecimento, incluindo o setor agropecuário. Focando em patógenos, trabalhos constataram o efeito do óleo essencial de açafraão (*Curcuma longa*) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* e *Alternaria solani* (TAKATSUKA *et al.*, 2003; BALBI-PEÑA *et al.*, 2006 *apud* MALDANER *et al.*, 2021). Já visando o controle de espécies vegetais, Maldaner (2021) encontrou bioatividade no óleo essencial de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolia*), arruda (*Ruta graveolens*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de capimannoni (*Eragrostis plana*).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a bioatividade do óleo essencial e de extratos da folha da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) sobre o desenvolvimento inicial de trigo (*Triticum* spp.) e alfafa (*Medicago sativa*).

## 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Obter o óleo essencial e extratos com álcool metílico (EAM), acetona (EAC) e água (EAQ) da folha da guabiroba. Identificar e determinar o teor de fenóis totais pelo método colorimétrico e por cromatografia líquida de alta eficiência.

Avaliar o efeito bioherbicida do óleo essencial e dos extratos da folha da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) nas concentrações de 1 e 5% (m/v), sobre o desenvolvimento inicial do comprimento da parte aérea e radícula de trigo (*Triticum* spp.) e alfafa (*Medicago sativa*).

## 3 REFERENCIAL TEÓRICO

### 3.1 BIOATIVIDADE DA GUABIROBA

A guabiroba pertence à família Myrtaceae, que conta com mais de 4 mil espécies (D'ANGELIS *et al.*, 2014 *apud* OLIVEIRA *et al.*, 2017). É uma espécie nativa, encontrada frequentemente na Floresta Ombrófila Mista e faz parte do bioma da Mata Atlântica. Como é comum para grande parte das espécies nativas, pouco se sabe sobre seus aspectos morfológicos e químicos, e isso não é diferente para a guabiroba (REITZ, 1983 *apud* GOGOSZ *et al.*, 2009).

Muitas plantas nativas tiveram seu uso alimentício e medicinal substituído por espécies introduzidas e produtos sintéticos, contudo, vem surgindo uma nova tendência de resgate e conservação da biodiversidade nativa, muito disso devido aos estudos envolvendo as propriedades farmacológicas e propriedades químicas, para isolar e identificar os compostos produzidos por essas espécies que podem ser úteis ao homem em diferentes situações (LORENZI; MATOS, 2008 *apud* ARRUDA, 2013).

Pesquisas com o gênero *Campomanesia* vêm aparecendo em diferentes áreas do conhecimento, identificando e avaliando os efeitos de seus compostos, como o efeito antiulcerogênico de *C. xanthocarpa* pela presença de flavonoides, taninos e saponinas (MARKMAN; BACCHI; KATO, 2004 *apud* ARRUDA, 2013);

o efeito vasorrelaxante de *C. adamantium* devido a presença de flavonoides (EHRENFRIED, 2009 *apud* VIEIRA *et al.*, 2011); atividade antimicrobiana do extrato obtido com acetato de etila da *C. xanthocarpa* sobre *Salmonella* spp. e também do extrato metanólico sobre *Saccharomyces cerevisiae* e do extrato hexânico sobre *S. aureus* e *Micrococcus luteus* (SILVA, 2011; DESOTI *et al.*, 2011 *apud* ARRUDA, 2013). Mostrando assim a bioatividade dos compostos produzidos no metabolismo secundário, não só da guabiroba, mas de outras espécies do mesmo gênero.

Partindo para a bioatividade em vegetais, Uliana (2020) observou efeito inibitório do óleo essencial das folhas e da semente de *Campomanesia xanthocarpa* sobre o desenvolvimento inicial e em plantas de *Triticum aestivum*, *Medicago sativa*, *Digitaria insularis* e *Eragrostis plana*. O óleo essencial das folhas apresentou maior efeito inibitório no desenvolvimento inicial do que o proveniente da semente, afetando tanto a parte aérea quanto a radícula das espécies estudadas, com exceção de *E. plana*, que teve apenas a radícula afetada pelo óleo das folhas. Para as folhas o efeito inibitório foi maior conforme a concentração do tratamento aumentou, sendo 2% (m/v) a maior concentração.

Outra perspectiva da bioatividade do óleo essencial de *C. xanthocarpa* são seus efeitos sobre *Allium cepa*, pois é um bom bioindicador de genotoxicidade, que é a capacidade de afetar a formação dos cromossomos, e citotoxicidade, alterando a morfologia celular (PASTORI *et al.*, 2013).

Pastori *et al.* (2013) encontraram diminuição da atividade mitótica de *A. cepa* após a aplicação do extrato aquoso e do óleo essencial das folhas de *C. xanthocarpa*. Além da redução do índice mitótico, foram observados também irregularidades celulares como mutação cromossomal, metáfase com desorganização cromossomal, pontes de anáfase e células binucleadas. Enquanto a testemunha não apresentou nenhuma irregularidade, o extrato aquoso a 6 mg mL<sup>-1</sup> e 30 mg mL<sup>-1</sup> apresentaram 24,4 e 22,2% respectivamente. Já o óleo essencial apresentou 26,7% de anomalias, valores próximos ao tratamento com glifosato, que apresentou 27,5% de irregularidades celulares em comparação com a testemunha.

Foram identificados no óleo essencial das folhas de guabiroba diversos compostos, através da cromatografia a gás, a maioria deles sesquiterpenos,



como cariofileno (8,87%), viridiflorol (6,4%), espatulenol (5,16%),  $\delta$ -cadineno (4,92%) e  $\alpha$ -cadinol (4,25%) (PASTORI *et al.*, 2013).

Além destes, na composição farmacognóstica do óleo essencial de folhas frescas de *C. xanthocarpa* foram encontrados monoterpenos como linanol (29,2%), terpineol (6,6%) e limoneno (4,8%); sesquiterpenos como globulol (20,17%), espatulenol (6,5) (MARKMAN, 2002).

### 3.2 IMPORTÂNCIA DE NOVAS MOLÉCULAS HERBICIDAS

As plantas espontâneas têm grande relevância na agricultura, a importância dessas plantas está ligada a aspectos econômicos, pelo prejuízo causado em cultivos de interesse econômico pois competem por água, nutrientes e luz com a cultura, ou ainda por influenciar negativamente o desenvolvimento de outras espécies pela liberação de compostos alelopáticos (CARVALHO, 2013).

A interferência das plantas espontâneas em espécies cultivadas é um dos principais pontos a ser observado durante o desenvolvimento da cultura, pois traz aumento dos custos, e quando mal controladas a presença dessas plantas pode diminuir a qualidade do produto colhido ou ainda dificultar a colheita mecanizada. Outro ponto importante é o fato de que algumas espécies espontâneas podem hospedar pragas e doenças em comum com a cultura da área. Tudo isso torna o controle das espécies invasoras essencial, visto que as perdas devido a interferência sobre as culturas podem ser altas de acordo com a espécie, o período de convivência, a população de planta espontânea, entre outros fatores (ADEGAS *et al.*, 2017).

Em relação aos custos, o controle de espécies invasoras já representa uma parcela importante na produção agrícola, porém, quando se trata de controle de biótipos resistentes esses custos são ainda maiores, portanto, é necessário realizar o manejo de resistência com herbicidas de mecanismo de ação diferente, evidenciando a importância do desenvolvimento de novas moléculas herbicidas para o uso nesse manejo. Para o controle de plantas espontâneas não resistentes na cultura da soja RR por exemplo, o valor fica cerca de R\$ 120,00 por hectare, porém caso haja na área biótipos resistentes de buva ou capim-amargoso os valores sobem para R\$ 170,50 e R\$ 318,35, respectivamente, pois

é necessário usar mecanismos de ação alternativos ou até mesmo mais de um herbicida para o controle (ADEGAS *et al.*, 2017).

Alguns fatores relacionados as plantas invasoras auxiliam a seleção de biótipos resistentes, como a variabilidade genética, ciclo de vida curto, o grande número de sementes que elas produzem e o fato de se reproduzirem mais de uma vez ao ano. Porém não são só fatores relacionados a espécie, o manejo adotado para o controle destas também auxilia na seleção. O uso repetitivo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação gera uma grande pressão de seleção à resistência aos herbicidas (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2003).

Existem ainda fatores relacionados ao próprio mecanismo de ação que acaba influenciando no surgimento de biótipos resistentes, por exemplo, o glifosato, herbicida não-seletivo, sistêmico, que inibe a enzima enol-piruvil-shikimato-fosfato sintetase. Esse mecanismo de ação foi introduzido no mercado em 1974, e somente 22 anos depois houve o relato do primeiro biótipo resistente, enquanto que os inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), lançado em 1982, precisou de apenas dois anos para que surgisse o primeiro biótipo resistente (KRUSE *et al.*, 2000; KISSMANN, 1996).

Portanto, o uso repetitivo do mesmo herbicida ou mesmo mecanismo de ação gera uma pressão de seleção grande para biótipos resistentes, que precisam ser controlados de alguma forma. Entre as ferramentas disponíveis hoje estão alguns manejos culturais como a rotação de culturas, adensamento e a cobertura do solo com palhada. Partindo para o controle químico, é possível optar por aplicações sequenciais de um mesmo herbicida ou pela mistura de dois que tenham mecanismo de ação diferentes. Ainda no manejo químico é possível optar pelo controle com o uso de herbicidas alternativos, de mecanismo de ação diferentes que ainda não apresentaram resistência (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 1994).

### 3.3 PANORAMA GERAL SOBRE BIOHERBICIDAS

A pesquisa em busca de bioherbicidas apresenta um grande leque de possibilidades, visto que são várias as espécies que demonstram atividade alelopática. Alves *et al.* (2011) avaliou o efeito do extrato aquoso de quatro

espécies de plantas medicinais, e encontrou efeito inibitório nos extratos de *Gomphrena globosa*, *Tabemaemontana catharinensis* e *Tithonia diversifolia* sobre *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. Enquanto as duas primeiras apresentaram efeito inibitório sobre a germinação e sobre o desenvolvimento de plântulas, *T. diversifolia* apenas atrasou a germinação.

As espécies que têm potencial para uso bioherbicida não se restringem a plantas medicinais, como por exemplo *Pinus taeda*. O extrato aquoso de suas acículas apresentou efeito sobre a germinação, comprimento de radícula e epicótilo de *Avena strigosa* (SARTOR *et al.*, 2009). Até mesmo o nim (*Azadirachta indica*), muito conhecido por seu uso contra pragas agrícolas, já demonstrou o potencial bioherbicida de seu extrato aquoso sobre plântulas de *Bidens pilosa* L., *Cenchrus echinatus*, *Desmanthus virgatus* e *Senna obtusifolia* (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

A mesotriona é usada para controle de plantas espontâneas no milho e na cana-de-açúcar, se trata de uma análoga a leptospermona, molécula encontrada em estudos envolvendo alelopatia, obtidos de *Callistemon citrinus* (CORNES, 2005). Contudo, existem outras substâncias que já estão em etapas mais avançadas de pesquisa, como o sorgoleona, complexo de substâncias produzida pelas raízes de sorgo, sendo o principal composto o 2-hidroxi-5-metoxi-3-[(Z,Z)-8',11',14'-pentadecatrieno]-p-benzoquinona. Ele atua de forma semelhante a alguns herbicidas inibidores do fotossistema II, provavelmente sendo um análogo a plastoquinona, afetando a ligação da plastoquinona as proteínas do fotossistema II (SANTOS *et al.*, 2012). Testes envolvendo a aplicação de sorgoleona em *Solanum* sp. via foliar causaram clorose seguida de necrose, semelhante a sintomatologia observada em outros herbicidas inibidores do fotossistema II (CZARNOTA *et al.*, 2001 *apud*. DIAS *et al.*, 2007).

#### 4 METODOLOGIA

O experimento teve início com a coleta de folhas de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) de única planta no município Laranjeiras do Sul, em 21 de janeiro de 2021. As folhas saudáveis foram selecionadas e higienizadas com água destilada.

Para a obtenção do óleo essencial as folhas in natura foram trituradas em processador doméstico. Já para a obtenção dos extratos as folhas de guabiroba foram congeladas em frascos de vidro e liofilizadas sob proteção da luz até que o material ficasse totalmente seco. Após a liofilização o material foi moído em moinho de facas tipo Willey e armazenado em um recipiente de vidro âmbar.

#### 4.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As folhas trituradas foram transferidas para um balão volumétrico de 2 L, adicionando o material vegetal até a metade do balão e então o cobrindo com água destilada. O balão foi posicionado sobre uma manta aquecedora e acoplado ao clewenger.

A hidrodestilação foi mantida durante 3 horas, então o balão volumétrico foi removido, limpo e o material vegetal foi substituído por novas folhas frescas trituradas.

Devido ao baixo rendimento de óleo essencial das folhas de guabiroba o processo foi repetido várias vezes até que a quantia extraída se aproximasse de 1 mL. Ao fim das extrações o óleo foi coletado com uma pipeta de Pasteur e transferido para vial junto com sulfato de sódio anidro, a mistura foi homogeneizada, centrifugada e o óleo isento de água foi transferido para outro vial no qual ficou armazenada sob refrigeração ao abrigo da luz até seu uso.

#### 4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O material vegetal seco e moído foi transferido para cartuchos de celulose, os cartuchos foram posicionados dentro de cada unidade do extrator Soxhlet. O processo de extração durou seis horas e meia para cada solvente e foram usadas 5 unidades do extrator, as quais foram mantidas cobertas com papel alumínio visando proteger as substâncias fotossensíveis.

### **4.2.1 Ordem de extração**

A extração foi realizada de maneira sequencial usando sempre o mesmo material vegetal moído e seco. Os solventes utilizados para as extrações, bem como a ordem de utilização foi definida de acordo com suas habilidades em extrair compostos com diferentes estruturas. Foram consideradas propriedades como momento dipolar (medida da polaridade) e capacidade em fazer ligações de hidrogênio, ambas diretamente relacionadas com a solubilidade de compostos. A ordem dos solventes utilizados para as extrações foi: 1) Hexano (momento dipolar 0 D). 2) Acetona (momento dipolar de 2,91 D); 3) o álcool metílico (momento dipolar de 1,69 D); 4) água (momento dipolar de 1,85 D). Contudo, devido a dificuldades técnicas para o isolamento do extrato obtido com hexano, o mesmo não foi utilizado como tratamento.

O solvente de cada extrato foi removido em evaporador rotativo a 60 °C sob vácuo até a visível eliminação do solvente. A fim de garantir a completa eliminação do solvente, o extrato ainda foi mantido sob liofilização até massa constante. Após o processo de liofilização os extratos secos foram armazenados ao abrigo da luz e sob refrigeração.

A extração com água não foi conduzida em extrator Soxhlet devido a elevada temperatura de ebulição desse solvente. Após a extração com álcool metílico, o material vegetal foi removido dos cartuchos de celulose e transferido para um béquer de vidro, onde o material vegetal foi mantido sob agitação durante 5 horas, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente ( $\approx 25$  °C). Após a homogeneização a mistura foi filtrada com papel filtro sob vácuo, o líquido coletado foi transferido para frasco de vidro, congelado e liofilizado até a obtenção de um pó uniforme, o qual foi armazenado ao abrigo da luz e sob refrigeração.

## **4.3 TESTES DE BIOATIVIDADE**

### **4.3.1 Formação de plântulas**

Para a avaliação da fitotoxicidade do óleo e dos extratos de guabiroba no desenvolvimento inicial foram escolhidas plântulas de duas espécies, sendo elas o trigo (*Triticum aestivum*) e a alfafa (*Medicago sativa*). As sementes foram submetidas a teste de germinação, apresentando 92 e 82% de germinação, respectivamente.

A etapa de formação de plântulas foi conduzida com o objetivo de obter 720 plântulas de cada espécie nos seus estágios iniciais, logo após a germinação. O cálculo para a quantidade de sementes necessárias se baseou na porcentagem de germinação mais 20%, para garantir que as plântulas germinadas pudessem passar por uma seleção de homogeneidade. A partir da demanda de sementes foi medida a quantidade de semente por grama de cada espécie e feito o cálculo de quantas gramas seriam necessárias.

As sementes foram organizadas em bandejas de plástico, com papel mata borrão sobre e sob as sementes. Foi adicionada água em uma quantidade de 2,5 vezes a massa dos papéis, ao final a bandeja foi coberta com filme plástico. Essas bandejas foram levadas para uma câmara de germinação do tipo BOD, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 20 °C, onde permaneceram por 48 horas, para que houvesse o rompimento a protusão radicular. Ao fim dessa etapa as plântulas estavam prontas para serem transferidas para as placas de petri, onde foram expostas aos tratamentos.

#### **4.3.2 Montagem do bioensaio**

O delineamento experimental empregado nos bioensaios com trigo e alfafa foi inteiramente casualizado, sendo constituído por experimentos bifatoriais AxB + 1, onde o fator A foi o tipo de extrato e o fator B a concentração + testemunha em quatro repetições.

Os tratamentos do experimento foram testemunha (T1) + quatro tratamentos em duas concentrações diferentes, sendo eles o extrato obtido com acetona (EAC) (T2); óleo essencial (T3); extrato aquoso (EAQ) (T4); extrato obtido com álcool metílico (EAM) (T5), todos a 1 e 5% (m/v). Além disso, em todos os tratamentos foi adicionado 4% (m/v) de surfactante não iônico Tween 20, indispensável para emulsificar os extratos e o óleo essencial, uma vez que o

extrato obtido em álcool metílico, acetona e o óleo essencial apresentam baixa solubilidade em água. Além disso, também foi adicionado aos tratamentos água destilada e a mistura foi homogeneizada em vórtex.

Foi preparado 10 mL de emulsão para cada tratamento, sendo 1,125 mL em cada placa de petri, visto que esse valor é 2,5 vezes a massa do papel mata borrão que foi recortado com 12 cm de diâmetro, o mesmo tamanho da placa de petri. A quantidade de cada emulsão foi mensurada em balança analítica, considerando a densidade igual a 1 g mL<sup>-1</sup>.

As plântulas germinadas em BOD foram selecionadas de forma homogênea e alocadas nas placas de petri, sendo quatro repetições, com 20 plântulas por placa para cada repetição. Foram utilizadas 72 placas de petri para os bioensaios com as duas espécies, totalizando 1440 plântulas. Logo após as plântulas serem alojadas nas placas, a mesma foi revestida de filme plástico e encaminhada para a BOD, por onde permaneceu por 72 horas.

### **4.3.3 Avaliação de fitotoxicidade**

Foi realizada avaliação individualizada das plântulas 72 horas após a incubação, sendo mensurado o comprimento de radícula, da parte aérea e comprimento total com o auxílio de um paquímetro digital. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ( $p < 0,05$ ) bifatorial do tipo  $A \times B + 1$ , com posterior teste-F e comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0,05$ ) para as variáveis influenciadas pelos tratamentos.

Outra avaliação foi realizada pela sintomatologia das plântulas, observando visualmente características anormais em seu desenvolvimento, como clorose, intumescimento, oxidação, entre outros.

## **4.4 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS**

### **4.4.1 Determinação de fenóis totais**

A quantificação dos compostos fenólicos se deu pelo método Folin-Ciocalteu (Minussi et al., 2003), com algumas modificações. Foram dissolvidos em etanol uma porção de cada extrato, e 0,5 mL de cada solução transferida para balão de 25 mL. Nesse balão, para cada extrato, também foi adicionado 3 mL de água destilada, 4 mL de solução Folin-Ciocalteu (10% v/v) e, entre 30 segundos e 8 minutos, também foram adicionados 2 mL de solução contendo carbonato de sódio (7,5% m/v).

O balão foi então completado com água, homogeneizado e armazenado por duas horas, protegido da luz. Após esse período foi realizada a leitura em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 765 nm, descontando o valor do branco de cada medida. Antes da leitura dos extratos foi preparada uma curva padrão com ácido gálico (AG), em 6 concentrações diferentes (0; 0,2; 0,5; 1,0; 2,5 e 5,0 mg L<sup>-1</sup>), e suas absorvâncias foram medidas em 765 nm. Por fim, o branco e as soluções de cada extrato foram analisados no espectrofotômetro, análise essa feita em triplicata.

#### **4.4.2 Determinação de fenóis por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**

Foram preparadas soluções a partir dos extratos das folhas da guabiroba. Essas soluções foram filtradas em filtro seringa de PTFE com porosidade de 0,22 µm. A análise foi realizada em cromatógrafo em fase líquida (HPLC Shimadzu), coluna (C18-NST) com 25 cm de comprimento, 4,5 mm de diâmetro, poros com 5 µm e detector por arranjo de diodos.

Utilizando o amostrador automático foram injetados 5 µL de solução de extrato. A coluna foi mantida em 40 °C, com a fase móvel (99,9% água, 0,1% de ácido fórmico, fase móvel A; 99,9% álcool metílico, 0,1% ácido fórmico, fase móvel B) numa vazão de 1,2 mL min<sup>-1</sup> e gradiente como indicado na Tabela 1.

A identificação e quantificação foi realizada com soluções padrões dos seguintes compostos: (+) catequina, (-) epicatequina, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido trans iso-ferrúlico, (-) resveratrol e mirecetina adquiridos de Sigma-Aldrich, ácido gálico e quercitina adquiridos de Chem-Impex



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

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

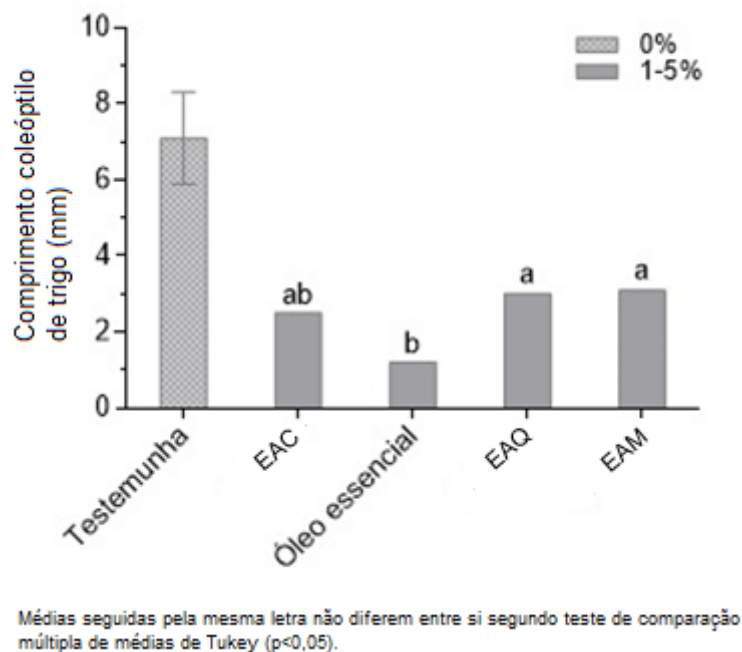
Fonte: elaborado pelo autor (2021).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **5.1 BIOENSAIO EM PLÂNTULAS DE TRIGO**

Para o trigo ambas as concentrações de óleo essencial causaram maior inibição no desenvolvimento do coleóptilo do que os extratos obtidos em água e em álcool metílico ( $p < 0.05$ ) (Gráfico 1). O extrato obtido com acetona apresentou efeitos intermediários, com resposta semelhante aos demais extratos e ao óleo essencial.

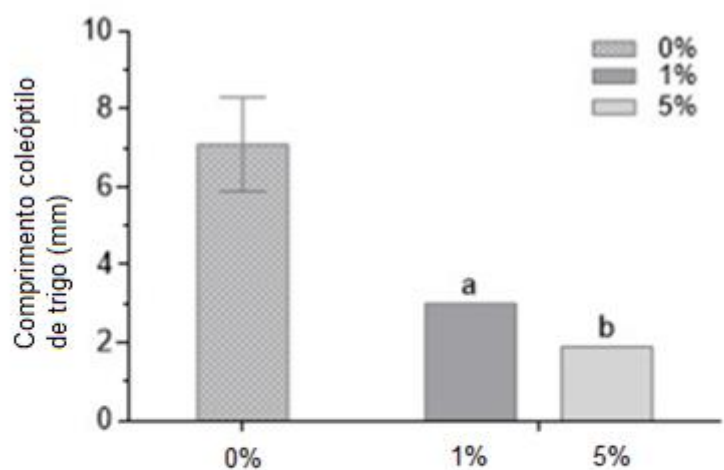
Gráfico 1 - Resposta do comprimento de coleóptilo de trigo (*Triticum aestivum*) em contato com diferentes extratos e óleo essencial da folha de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*).



Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato obtido com acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato obtido com álcool metílico.

Ao analisar o efeito da concentração, todos os extratos e o óleo essencial a 5% apresentaram maior influência sobre o desenvolvimento da parte aérea do trigo ( $p < 0,05$ ) em comparação aos tratamentos de 1% e testemunha (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Resposta do comprimento de coleóptilo de trigo (*Triticum aestivum*) as diferentes concentrações de extratos e óleo essencial dos tratamentos aplicados.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si segundo teste de comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0,05$ ).

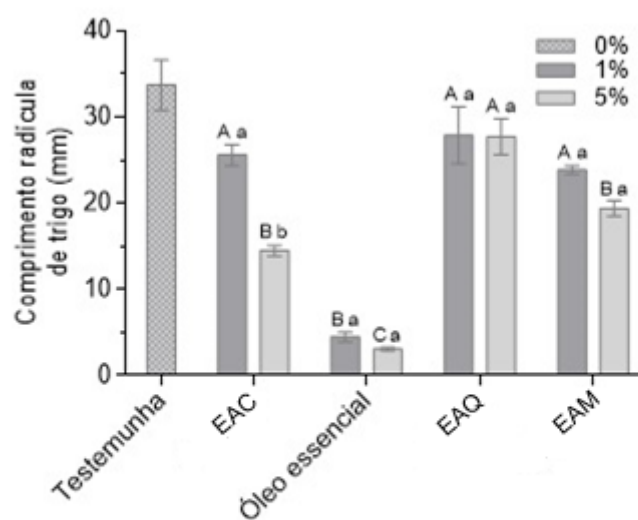
Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato a base de álcool metílico.

Já para o desenvolvimento da radícula do trigo (Gráfico 3) houve interação entre os tratamentos e as concentrações, onde o tratamento com óleo essencial foi o que mais inibiu o desenvolvimento da radícula, não diferindo em relação as duas concentrações avaliadas ( $p < 0,05$ ).

Os demais tratamentos não se diferiram na concentração de 1% para o comprimento de radícula, pois o trigo apresentou resposta semelhante entre os extratos nessa concentração. Além disso, tanto os tratamentos com EAQ quanto EAM não apresentaram diferença quando a concentração do extrato foi maior, sendo o EAC foi o único tratamento que apresentou maior inibição do desenvolvimento radicular quando houve o incremento na concentração, onde a

5%, o tamanho das radículas foi reduzido em cerca de 56% em comparação com o tratamento de menor concentração ( $p < 0.05$ ).

Gráfico 3 - Desenvolvimento da radícula de trigo (*Triticum aestivum*) em contato com diferentes extratos e óleo essencial da folha da guabiropa (*Campomanesia xanthocarpa*) em duas concentrações diferentes.

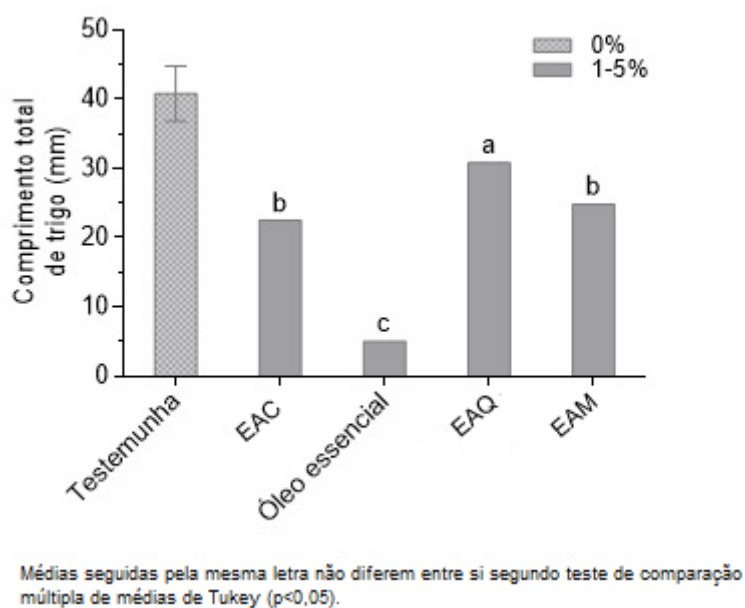


Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre os tratamentos de mesma concentração e seguidas da mesma letra minúscula entre concentrações de um mesmo tratamento não diferem entre si segundo teste de comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato a base de álcool metílico.

Para o comprimento total de trigo, o tratamento com óleo essencial foi o que causou menor desenvolvimento das plântulas ( $p < 0.05$ ), seguido pelos tratamentos com EAC e EAM, ambos semelhantes (Gráfico 4). O tratamento com EAQ foi o que apresentou o maior comprimento de plântula de trigo entre os extratos.

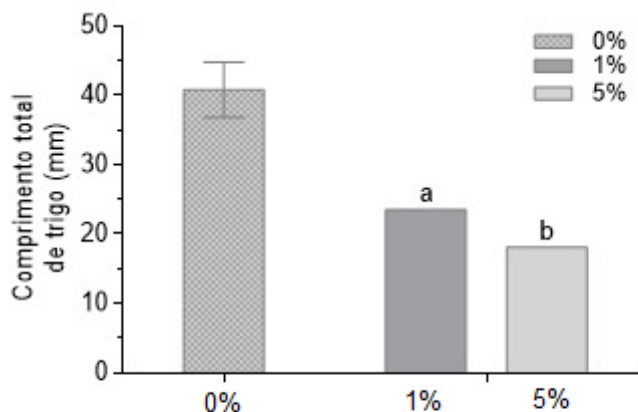
Gráfico 4 - Efeito dos extratos e do óleo essencial da folha da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) sobre o comprimento total de trigo (*Triticum aestivum*).



Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato a base de álcool metílico.

Assim como o desenvolvimento de hipocótilo, os tratamentos a 5% resultaram em plântulas menores (Gráfico 5). Sendo assim, o aumento da concentração dos tratamentos resultou em uma interferência maior sobre as plântulas de trigo ( $p < 0.05$ ).

Gráfico 5 - Efeito das concentrações de extratos e do óleo essencial da folha da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) sobre o comprimento total de trigo (*Triticum aestivum*).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si segundo teste de comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0,05$ ).

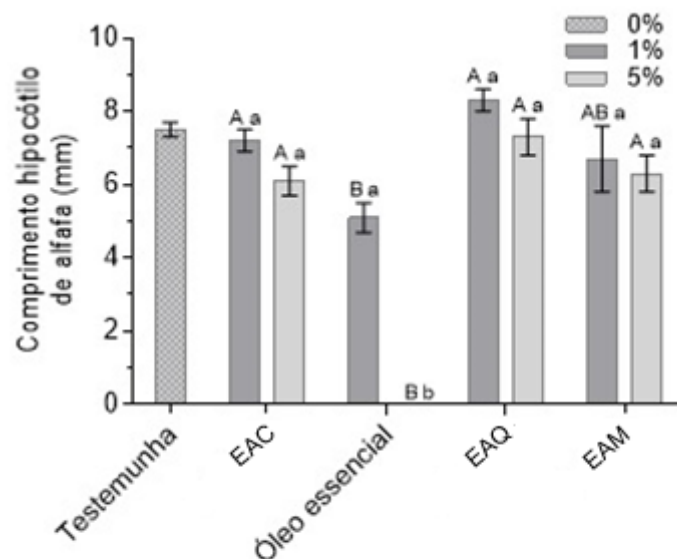
Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato a base de álcool metílico.

## 5.2 BIOENSAIO EM PLÂNTULAS DE ALFAFA

Para o comprimento da parte aérea de alfafa (Gráfico 6) o óleo essencial a 5% foi o tratamento que mais inibiu ( $p < 0,05$ ) o desenvolvimento da parte aérea. O efeito do óleo essencial foi maior no tratamento de 5%. Esse resultado é diferente do observado nos demais tratamentos, onde o aumento da concentração não resultou em menor desenvolvimento da parte aérea.

Para os tratamentos com 1%, o óleo essencial apresentou superioridade em relação aos tratamentos com EAC e EAQ, mas não diferiu do tratamento com EAM, que foi semelhante a todos eles ( $p < 0,05$ ).

Gráfico 6 - Desenvolvimento do epicótilo de alfafa (*Medicago sativa*) em contato com diferentes extratos e óleo essencial da folha da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) em duas concentrações diferentes.



Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre os tratamentos de mesma concentração e seguidas da mesma letra minúscula entre concentrações de um mesmo tratamento não diferem entre si segundo teste de comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato a base de álcool metílico.

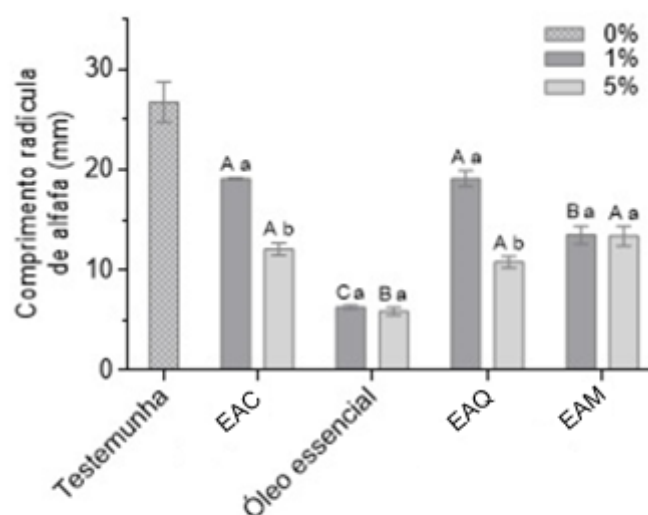
Uliana (2020) analisando a bioatividade do óleo essencial de *C. xanthocarpa* sobre plântulas de trigo e alfafa constatou que o efeito inibitório do óleo sobre as espécies foi maior com o aumento da concentração. Essa relação entre inibição do desenvolvimento de plântulas e a concentração do óleo essencial também foi observada no presente trabalho.

Para o desenvolvimento radicular, o óleo essencial também foi o tratamento que mais apresentou efeito inibitório em ambas as concentrações ( $p < 0.05$ ). Contudo, diferentemente da resposta na parte aérea, os tratamentos com 1 e 5% de óleo essencial apresentaram resultados semelhantes, ou seja, embora haja o incremento na concentração o desenvolvimento radicular não foi alterado.

Analisando o Gráfico 7, o tratamento com EAM a 1% apresentou maior interferência sobre as plântulas em relação aos demais ( $p < 0.05$ ) e, assim como o tratamento com óleo essencial, o aumento da concentração não resultou em

maior resposta. Fato esse que não ocorreu para os tratamentos com EAC e EAQ, que foram mais eficientes na concentração de 5%. Sendo assim, o tratamento com extrato obtido com álcool metílico foi o que apresentou segunda maior interferência sobre as plântulas a 1% e foi equivalente aos tratamentos com extratos obtidos com acetona a 5%.

Gráfico 7 - Desenvolvimento da radícula de alfafa (*Medicago sativa*) exposta a diferentes extratos e ao óleo essencial da folha da guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) em diferentes concentrações.



Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre os tratamentos de mesma concentração e seguidas da mesma letra minúscula entre concentrações de um mesmo tratamento não diferem entre si segundo teste de comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM= Extrato a base de álcool metílico.

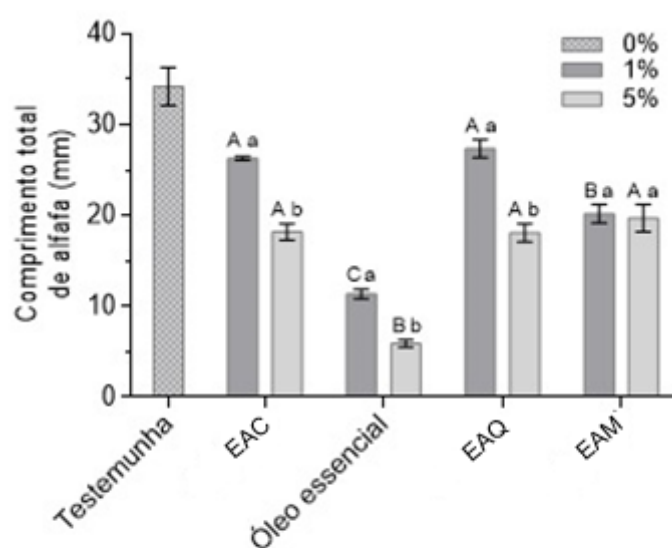
Para o comprimento total (Gráfico 8) o tratamento com óleo essencial a 5% foi o que mais interferiu no desenvolvimento, seguido também pelo óleo a 1% como segundo que mais interferiu ( $p < 0.05$ ). Para os tratamentos a 5%, o com óleo essencial foi o único que apresentou diferença na inibição do desenvolvimento inicial da alfafa.

Os tratamentos com EAC e EAQ também apresentaram maior resposta no comprimento total quando esses tiveram sua concentração incrementada a 5%



(Gráfico 8). Outro detalhe é que, assim como para a radícula, com exceção do óleo essencial, todos os tratamentos a 5% foram semelhantes, e o tratamento com EAM a 1% foi equivalente a todos eles na inibição do desenvolvimento da alfafa ( $p < 0.05$ ), mesmo com menor concentração.

Gráfico 8 - Comprimento total de alfafa (*Medicago sativa*) exposta a diferentes extratos e ao óleo essencial de folha de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) em diferentes concentrações.



Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre os tratamentos de mesma concentração e seguidas da mesma letra minúscula entre concentrações de um mesmo tratamento não diferem entre si segundo teste de comparação múltipla de médias de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: EAC = Extrato a base de acetona; EAQ = Extrato aquoso; EAM = Extrato a base de álcool metílico.

### 5.3 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

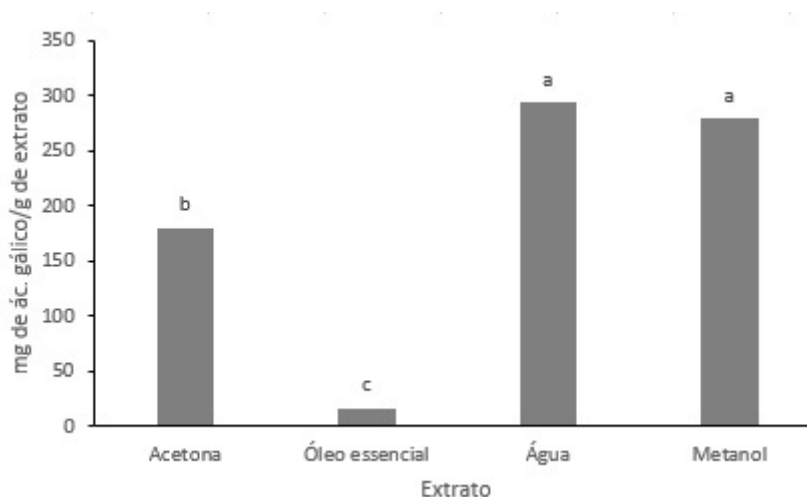
A concentração de fenóis totais nos tratamentos não acompanhou a resposta dos tratamentos sobre as plântulas, de modo que o óleo essencial, tratamento que obteve os melhores resultados na inibição do desenvolvimento inicial, apresentou menor concentração de fenóis como mostra o Gráfico 9. A baixa concentração de fenóis no óleo essencial já era esperada, visto que os fenóis não são voláteis na temperatura utilizada e, portanto, não puderam ser

isolados por hidrodestilação, que é uma metodologia que permite isolar apenas compostos de maior volatilidade na temperatura utilizada.

Esse resultado sugere que no caso da guabiroba, os principais metabólitos presentes nos extratos avaliados e que podem estar envolvidos na supressão do desenvolvimento inicial de trigo e alfafa são substâncias que pertencem a outras classes químicas.

Os EAQ e EAM apresentaram as maiores concentrações de fenóis ( $p < 0.05$ ), comprovando a hipótese citada anteriormente, pois embora tenham quantidades semelhantes de fenóis, o extrato de álcool metílico a 1% teve efeito superior ao extrato aquoso de mesma concentração, e resposta semelhante ao mesmo extrato a 5% para o comprimento de radícula e comprimento total de alfafa. Dessa forma, é possível afirmar que o efeito bioherbicida demonstrado pelos tratamentos não é resultante apenas da ação de compostos fenólicos.

Gráfico 9 – Concentração de fenóis totais presentes em extratos e óleo essencial obtidos a partir da folha de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*).



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Alves (2017) observou atividade fitotóxica de fenóis naturais e seus derivados sobre plântulas de alface e sorgo, assim como outros herbicidas já comercializados que são obtidos a partir de fenóis. Por mais que alguns compostos fenólicos já tenham demonstrado efeito fitotóxico na literatura, neste

trabalho o efeito inibitório dos tratamentos sobre as plântulas não se atribui exclusivamente a eles.

#### 5.4 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – HPLC

A identificação de quantificação de fenóis foi realizada para todos os extratos e óleo essencial. Entretanto, no óleo essencial a concentração de fenóis é inferior ao limite de detecção do método, ou seja, não foi identificado nenhum dos fenóis utilizados como padrão ou esses, se presentes, estavam em quantidade menor que o limite de detecção (LOD). Nos extratos obtidos com água, álcool metílico e acetona foram detectados compostos fenólicos (Quadro 1). Como os fenóis são compostos de polaridade intermediária era esperado que os solventes utilizados na extração exaustiva extraíssem esses compostos. O extrato obtido com álcool metílico apresentou maior concentração de fenóis, o que se deve ao fato dos fenóis, assim como o álcool metílico, apresentarem um grupo OH, tendo uma polaridade muito próxima, além de ambos estabelecerem ligações de hidrogênio mutuamente, o que favorece a solubilidade desses compostos nesse solvente.

O extrato aquoso apresentou apenas um fenol em grande concentração, a catequina, e justamente esse composto não fora encontrado em nenhum outro extrato em quantidade detectável.

Tabela 2 – Presença e concentração de compostos fenólicos nos diferentes extratos obtidos a partir da folha da guabiroba (*Campomanesa xanthocarpa*).

<b>Concentração de fenóis (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>					
<b>Padrão</b>	<b>OE</b>	<b>EA</b>	<b>EM</b>	<b>EAq</b>	<b>LOD</b>
Ácido gálico	-	245 $\pm$ 9	1159 $\pm$ 21	233 $\pm$ 5	16
(+) catequina	-	-	-	2105 $\pm$ 76	41
(-) epicatequina	-	211 $\pm$ 6	1000 $\pm$ 20	297 $\pm$ 21	52
Ácido cafeico	-	-	-	-	21
Ácido vanílico	-	-	-	-	16
Ácido p cumárico	-	31 $\pm$ 3	20 $\pm$ 1	-	14
Trans isso- ferrúlico	-	-	-	-	6
(-) resveratrol	-	29 $\pm$ 1	17 $\pm$ 1	-	11
Quercitina	-	128 $\pm$ 7	152 $\pm$ 11	-	12
Mirecetina	-	286 $\pm$ 4	459 $\pm$ 23	70 $\pm$ 3	4

Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: OE = Óleo essencial; EA = Extrato aquoso; EM = Extrato metanólico; EAq = Extrato Aquoso; LOD = Limite de detecção

## 5.5 AVALIAÇÃO SINTOMATOLÓGICA DAS PLÂNTULAS DE ALFAFA

A avaliação sintomatológica se deu por observação visual, comparando as anormalidades com a testemunha para verificar quais tratamentos apresentaram efeitos visíveis nas plântulas. Apenas a alfafa apresentou características de anormalidade, sendo eles o intumescimento de hipocótilo, raiz fina e raiz oxidada. Esses sintomas apareceram para os tratamentos com óleo essencial a 1% e acetona a 5%, como mostra a Tabela 2. Uma pequena quantidade de plântulas com raiz oxidada foi observada no extrato aquoso, tanto a 1% quanto a 5%.

Tabela 3 – Porcentagem de plântulas de alfafa anormais em resposta aos tratamentos aplicados no teste de bioatividade.

**Ocorrência de anomalias em plântulas de alfafa**

<b>EXTRATO</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (%)</b>	<b>INT (%)</b>	<b>R.F(%)</b>	<b>R.O(%)</b>
Testemunha	0	0	0	0
Acetona	1	0	0	0
Acetona	5	0	25 ± 11	31 ± 3
Óleo Essencial	1	50 ± 10	0	0
Óleo Essencial	5	0	0	0
Aquoso	1	0	0	1 ± 1
Aquoso	5	0	0	1 ± 1
Metanólico	1	0	0	0
Metanólico	5	0	0	0

Fonte: elaborado pelo autor (2021). Nota: INT= Hipocótilo intumescido; R.F= Raiz fina; R.O= Raiz oxidada.

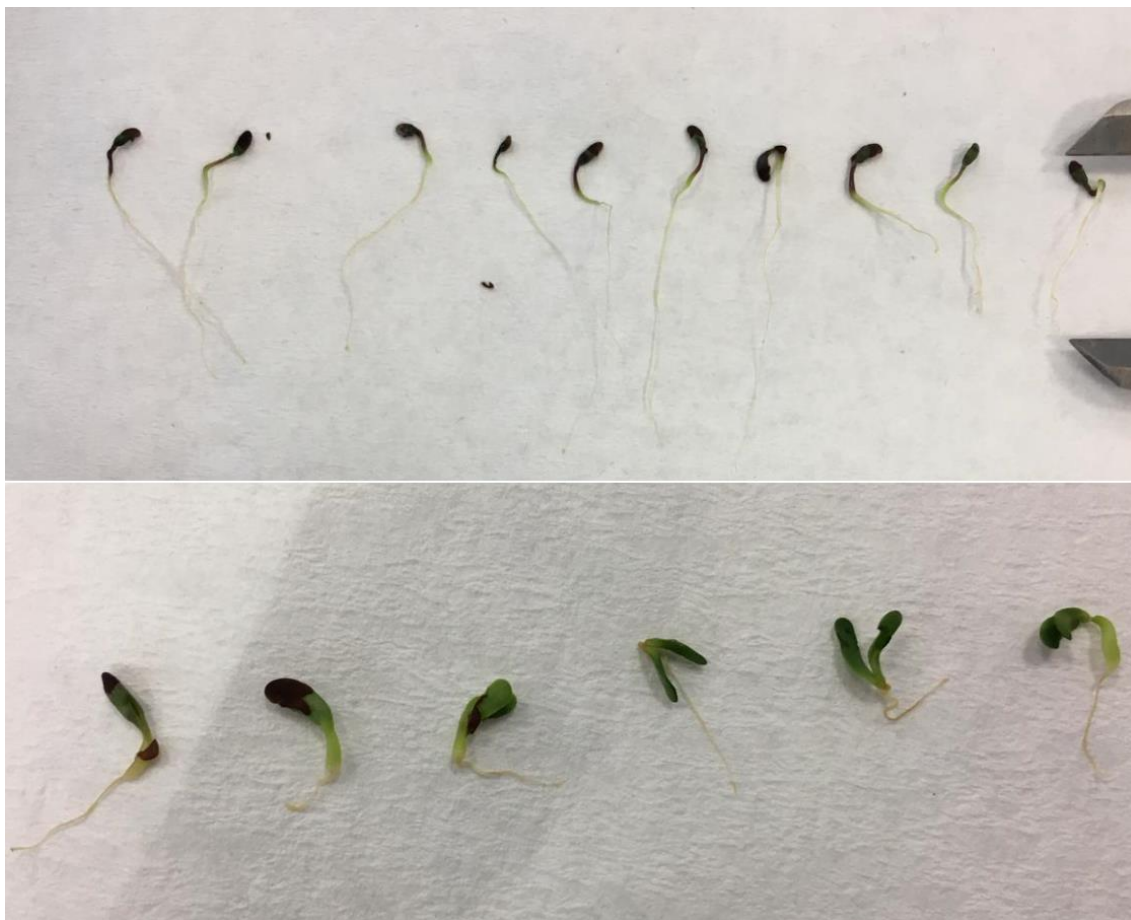
O óleo essencial a 1% causou intumescimento do hipocótilo de 50% das plântulas de alfafa expostas a esse tratamento, como mostra a Imagem 1, sintoma esse que fica mais expressivo ao ser comparado a testemunha, na Imagem 2. O óleo essencial a 5% causou inibição do desenvolvimento da parte aérea como mostra a Imagem 5. Alguns herbicidas do grupo das dinitroanilinas, que são inibidores da formação de microtúbulos apresentam sintomas como o intumescimento do hipocótilo e o sistema radicular pouco desenvolvido. Outro grupo herbicida, das cloroacetamidas, que são inibidores da divisão celular podem apresentar, entre outros sintomas, esse mesmo intumescimento, reduzindo a elongação celular (ROMAN *et al.*, 2005).

Imagem 1 – Plântula de alfafa tratada com óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa* a 1% apresentando intumescimento do hipocótilo.



Fonte: fotografia registrada pelo autor (2021).

Imagem 2 - Comparativo visual entre a testemunha (imagem superior), com o tratamento de óleo essencial de *Campomanesia xanthocarpa* a 1% (imagem inferior), que causou intumescimento do hipocótilo.



Fonte: fotografia registrada pelo autor (2021).

Já o tratamento com extrato de acetona de folhas de *C. xanthocarpa* interferiu nas plântulas de alfafa de outra forma, fazendo que algumas delas apresentassem raízes finas e oxidadas como mostra a Imagem 3 e 4. Embora a raiz da alfafa seja naturalmente fina, as plântulas que apresentaram afinamento de raiz demonstraram uma fragilidade maior e menor diâmetro na ponta da raiz, além de um aspecto seco nessa região.

Imagem 3 - Plântulas de alfafa com raízes oxidadas (imagem superior), e com raízes finas (imagem inferior), após tratamento com extrato de acetona de *Campomanesia xanthocarpa* a 5%.



Fonte: fotografia registrada pelo autor (2021).



Imagem 4 - Plântulas de alfafa com diferentes sintomas após tratamento com extrato de acetona das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* a 5%. Estão dispostas, da esquerda para a direita, plântula com raiz normal, raiz oxidada e raiz fina.



Fonte: fotografia registrada pelo autor (2021).

Imagem 5 - Plântulas de alfafa sem desenvolvimento de parte aérea após tratamento com óleo essencial das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* a 5%.



Fonte: fotografia registrada pelo autor (2021).

## 6 CONCLUSÃO

O óleo essencial das folhas de *C. xanthocarpa* apresentou maior interferência sobre as plântulas de ambas as espécies quando em comparação com os extratos, tanto na radícula como na parte aérea, contudo, as respostas foram diferentes para o desenvolvimento de cada estrutura morfológica. Enquanto o incremento da concentração não alterou a resposta da radícula, a parte aérea de ambas as espécies foi responsiva a esse aumento, chegando a inibir o desenvolvimento da parte aérea da alfafa.

Os extratos não apresentaram efeito sobre o desenvolvimento da parte aérea, apenas da radícula, sendo que a resposta de cada espécie foi diferente para os extratos que compuseram os tratamentos. Para o trigo, o extrato a base de acetona e o extrato a base de álcool metílico a 5% apresentaram maior interferência sobre a radícula, sendo superiores aos demais tratamentos a 1%, enquanto que para a alfafa o extrato metanólico a 1% foi superior aos demais

tratamentos de mesma concentração e o incremento para 5% não aumentou a interferência sobre a radícula.

Os extratos a base de água e álcool metílico apresentaram maiores concentrações de fenóis, contudo, os dados mostram que o efeito causado nas plântulas não se atribui apenas aos fenóis. Dessa forma, embora os objetivos do trabalho tenham sido alcançados, a forma como os extratos e principalmente o óleo essencial interferiram nas plântulas ainda não foi esclarecida. Deste modo, é necessário que novos trabalhos sejam realizados visando identificar as substâncias presentes nas folhas de *C. xanthocarpa* que tenham potencial bioherbicida.

## REFERÊNCIAS

ADEGAS, F.S; VARGAS, L; GAZZIERO, D. L. P; KARAM, D. Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. **Embrapa**, Londrina, 2017.

ALBUQUERQUE, M B; NETO, S. G; ALMEIDA, D. J; MALTA, A. O. EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE NIM INDIANO (*Azadirachta indica*) SOBRE O CRESCIMENTO INICIAL DE PLANTAS DANINHAS. **Gaia Scientia**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2015.

ALVES, L. L; OLIVEIRA, P. V. A; FRANÇAS, S. C; ALVES, P. L. C; PEREIRA P. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 328-336, 2011.

ALVES, T. D. A. **Prospecção da toxicidade de fenóis naturais e de seus respectivos derivados ácidos fenoxicéticos em bioensaios vegetais**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2017.

ARRUDA, M. F. C. **Estudos morfoanatômico, fitoquímico e de atividades biológicas de *Campomanesia guazumifolia* (CAMBESS.) O. Berg, Myrtaceae**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

BARBOSA, E. G; PIVELLO, V. R; MEIRELLES, S. T. Allelopathic Evidence in *Brachiaria decumbens* and its Potential to Invade the Brazilian Cerrados. **Brazilian Archives of Biology and Technology** , vol. 51, n. 4, p. 825-831, 2008.

BORGES, L. P; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

CARVALHO, L. B. de. Plantas Daninhas. **Edição do autor**, Lajes, 2013. 1 ed.

CHRISTOFFOLETI, P. J; LÓPEZ-OVEJERO, R. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta daninha**, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 507-515, 2003.

CHRISTOFFOLETI, P. J; FILHO, R. V; SILVA, C. B. da. RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS. **Planta Daninha**, v. 12, n. 1, 1994.

CORNES, D. Callisto: a very successful maize herbicide inspired by allelochemistry. In: Fourth world congresso on allelopathy, 2005.

ENS, E. J; BREMMER, J. B; FRENCH, K; KORTH, J. Identification of volatile compounds released by roots of na invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*), and their inhibition of native seedling growth. **Biological Invasions**, v. 11, p. 275-287, 2008

GOGOSZ, A. M; COSMO, N. L; BONA, C; SOUZA, L. A. de. Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 613-623, 2010.

KRUSE, N. D; TREZZI, M. M; VIDAL, R. A. HERBICIDAS INIBIDORES DA EPSPS: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.1, n.2, 2000.

MALDANER, J; STEFFEN, G. P. K; STEFFEN, R. B; MORAIS, R. M. de; SALDANHA, C. W; MISSIO, E. L; MORO, T. S; SILVA, R. F. da. **Óleos essenciais**: potencial bioherbicida para o controle do capimannoni. Porto Alegre: DDPA, n. 5, p. 33, 2021. (Boletim Técnico: pesquisa e desenvolvimento).

MARKMAN, B. E. O. **Caracterização farmacognóstica de *Campomanesia xanthocarpa* Berg Myrtaceae**. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

PASTORI, T; FLORES, F. C; BOLIGON, A. A; ATHAYDE, M. L; SILVA, C. de B. da; CANTO-DOROW, T. S. do; TEDESCO, S. B. Genotoxic effects of *Campomanesia xanthocarpa* extracts on *Allium cepa* vegetal system. **Pharmaceutical Biology**. 51:10, p. 1249-1255, 2013.

REIGOSA, M; GOMES, A. S; FERREIRA, A. G; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, vol. 27, n. 4, p. 629-646, 2013.

ROMAN, E. S; VARGAS, L; RIZZARDI, M. A; HALL, L; BECKIE, H. Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação. **Editora Berthier**, 2005.

SARTOR, L. R; ADAMI, P. F; CHINI, N; MARTIN, T. N; MARCHESI, J. A; SOARES, A. B. Alelopátia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1653-1659, 2009.

SILVA, A. B. da; SILVA, J. F. da. Tópico em manejo de plantas daninhas. **Ed. UFV**, 2007.

SILVA, C. P. da; RICCI, T. G; ARRUDA, A. L. de; PAGLIOSA, F. M; MACEDO, M. L. R. Extratos Vegetais de Espécies de Plantas do Cerrado Sul-Matogrossense com Potencial de Bioherbicida e Bioinseticida. **UNICIÊNCIAS**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 2017.

ULIANA, C. **Bioatividade do óleo essencial das folhas e do óleo da semente de *Campomanesia xanthocarpa* Berg em plantas**. 2020. Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2020.

VIEIRA, M. C. *et al.* Nitrogênio e fósforo no desenvolvimento inicial de guavira [*Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg] cultivada em vasos. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 13, p. 542-549, 2011.

## ANEXO A – ANÁLISE DE VARIÂNCIA E TESTE DE HIPÓTESE

### 1 – Análise de variância para Alfafa.

#### 1) ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS COM DISTRIBUIÇÃO NORMAL (COMPRIMENTO DE RAD, PARTE AÉREA e TOTAL)

##### ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====> RAD (AxB + 1)

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	8	1410.35389	176.29424	51.82725	.0 **
Fatorial	7	696.56375	99.50911	29.25384	.0 **
Contraste	1	713.79014	713.79014	209.84113	.0 **
Resíduo	27	91.8425	3.40157		
Total	35	1502.1964			
Média - Experimento			14.08056		
Média - Fatorial			12.50625		
Média - Testemunha			26.675		

##### ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====> RAD (AxB)

FV	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	1	125.61125	125.61125	36.92739
AMBIENTES	3	460.28625	153.42875	45.10522
TRATxAMB	3	110.66625	36.88875	10.84461
RESÍDUO	27	91.8425	3.40157	
TOTAL	31	738.0787		
MÉDIA		12.50625		
CV(%)		14.7473117267783		

##### PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Componente quadrático genotípico	7.6381
Componente quadrático GxA	8.37179
Variância residual	3.40157
Coefficiente de determinação genotípico(média) - %	97.292
Correlação intraclasses	69.1877
Coefficiente de variação genético (%)	22.0986
Razão CVg/CVe	1.4985

##### Teste de Hipótese

FV	TESTE	GL NUM	GL DEN	F	PROBABILIDADE(%)
----	-------	--------	--------	---	------------------

Tratamento	QMG/QMR	1	27	36.92739	.0 **
Ambiente	QMA/QMR	3.	27.	45.10522	.0 **
Trat x Amb	QMGA/QMR	3	27	10.84461	.00007 **

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====> EPIC (AxB + 1)

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	8	193.21889	24.15236	27.82352	.0 **
Fatorial	7	183.685	26.24071	30.2293	.0 **
Contraste	1	9.53389	9.53389	10.98304	.26221 **
Resíduo	27	23.4375	.86806		
Total	35	216.6564			

Média - Experimento	6.06944
Média - Fatorial	5.8875
Média - Testemunha	7.525

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====> EPIC (AxB)

FV	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	1	28.88	28.88	33.26976
AMBIENTES	3	126.3175	42.10583	48.50592
TRATxAMB	3	28.4875	9.49583	10.9392
RESÍDUO	27	23.4375	.86806	
TOTAL	31	206.495		
MÉDIA		5.8875		
CV(%)		15.8249679936291		

PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Componente quadrático genotípico	1.75075
Componente quadrático GxA	2.15694
Variância residual	.86806
Coefficiente de determinação genotípico(média) - %	96.9943
Correlação intraclasses	66.853
Coefficiente de variação genético (%)	22.474
Razão CVg/CVe	1.4202



## Teste de Hipótese

FV	TESTE	GL NUM	GL DEN	F	PROBABILIDADE(%)
Tratamento	QMG/QMR	1	27	33.26976	.0 **
Ambiente	QMA/QMR	3	27	48.50592	.0 **
Trat x Amb	QMGA/QMR	3	27	10.9392	.00007 **

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====&gt; TOT (AxB + 1)

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	8	2312.89722	289.11215	58.73058	.0 **
Fatorial	7	1421.77375	203.11054	41.26011	.0 **
Contraste	1	891.12347	891.12347	181.02386	.0 **
Resíduo	27	132.9125	4.92269		
Total	35	2445.8097			

Média - Experimento	20.15278
Média - Fatorial	18.39375
Média - Testemunha	34.225

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====&gt; TOT (AxB)

FV	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	1	273.78	273.78	55.61599
AMBIENTES	3	1056.31125	352.10375	71.52677
TRATxAMB	3	91.6825	30.56083	6.20816
RESÍDUO	27	132.9125	4.92269	
TOTAL	31	1501.1187		
MÉDIA		18.39375		
CV(%)		12.0623173969626		

## PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Componente quadrático genotípico	16.80358
Componente quadrático GxA	6.40954
Variância residual	4.92269
Coefficiente de determinação genotípico(média) - %	98.202
Correlação intraclasses	77.3422

Coefficiente de variação genético (%) 22.2859  
 Razão CVg/CVe 1.8476

---

Teste de Hipótese

---

FV	TESTE	GL NUM	GL DEN	F	PROBABILIDADE(%)
Tratamento	QMG/QMR	1	27	55.61599	.0 **
Ambiente	QMA/QMR	3.	27.	71.52677	.0 **
Trat x Amb	QMGA/QMR	3	27	6.20816	.00239 **

---

## 2 – Análise de variância para trigo.

1) ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS COM DISTRIBUIÇÃO NORMAL  
(COMPRIMENTO DE RAD, PARTE AÉREA e TOTAL)

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====&gt; RAD (AxB + 1)

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	8	3652.14056	456.51757	39.11487	.0 **
Fatorial	7	2815.05375	402.15054	34.45665	.0 **
Contraste	1	837.08681	837.08681	71.72241	.0 **
Resíduo	27	315.1225	11.6712		
Total	35	3967.2631			

Média - Experimento	20.03611
Média - Fatorial	18.33125
Média - Testemunha	33.675

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====&gt; RAD (AxB)

FV	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	1	147.92	147.92	12.67393
AMBIENTES	3	2523.93625	841.31208	72.08443
TRATxAMB	3	143.1975	47.7325	4.08977
RESÍDUO	27	315.1225	11.6712	
TOTAL	31	3031.7088		

MÉDIA	18.33125
CV(%)	18.6365596725711

## PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Componente quadrático genotípico	8.51555
Componente quadrático GxA	9.01532
Variância residual	11.6712
Coefficiente de determinação genotípico(média) - %	92.1098
Correlação intraclassa	42.1838
Coefficiente de variação genético (%)	15.9189
Razão CVg/CVe	.8542

## Teste de Hipótese

FV	TESTE	GL NUM	GL DEN	F	PROBABILIDADE(%)
----	-------	--------	--------	---	------------------

Tratamento	QMG/QMR	1	27	12.67393	.13958 **
Ambiente	QMA/QMR	3.	27.	72.08443	.0 **
Trat x Amb	QMG/QMR	3	27	4.08977	.01623 *

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====> HIP (AxB + 1)

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	8	111.58	13.9475	12.84388	.0 **
Fatorial	7	34.7	4.95714	4.5649	.18021 **
Contraste	1	76.88	76.88	70.79673	.0 **
Resíduo	27	29.32	1.08593		
Total	35	140.9			
Média - Experimento			2.96667		
Média - Fatorial			2.45		
Média - Testemunha			7.1		

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====> HIP (AxB)

FV	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	1	8.405	8.405	7.73994
AMBIENTES	3	18.7025	6.23417	5.74088
TRATxAMB	3	7.5925	2.53083	2.33058
RESÍDUO	27	29.32	1.08593	
TOTAL	31	47.08		
MÉDIA		2.45		
CV(%)		42.5337835381165		

PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Componente quadrático genotípico	.45744
Componente quadrático GxA	.36123
Variância residual	1.08593
Coefficiente de determinação genotípico(média) - %	87.08
Correlação intraclasse	29.6392
Coefficiente de variação genético (%)	27.6059
Razão CVg/CVe	.649

## Teste de Hipótese

FV	TESTE	GL NUM	GL DEN	F	PROBABILIDADE(%)
Tratamento	QMG/QMR	1	27	7.73994	.97289 **
Ambiente	QMA/QMR	3.	27.	5.74088	.35751 **
Trat x Amb	QMGA/QMR	3	27	2.33058	.09666 ns

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====&gt; TOT (AxB + 1)

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
Tratamentos	8	4756.61389	594.57674	32.47312	.0 **
Fatorial	7	3335.72469	476.5321	26.02605	.0 **
Contraste	1	1420.8892	1420.8892	77.6026	.0 **
Resíduo	27	494.365	18.30981		
Total	35	5250.9789			

Média - Experimento	23.00556
Média - Fatorial	20.78438
Média - Testemunha	40.775

## ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL =====&gt; TOT (AxB)

FV	GL	SQ	QM	F
TRATAMENTOS	1	228.44531	228.44531	12.47666
AMBIENTES	3	2954.54844	984.84948	53.78806
TRATxAMB	3	152.73094	50.91031	2.78049
RESÍDUO	27	494.365	18.30981	
TOTAL	31	3639.6822		
MÉDIA		20.784375		
CV(%)		20.5875660936018		

## PARÂMETROS GENÉTICOS E AMBIENTAIS

Componente quadrático genotípico	13.13347
Componente quadrático GxA	8.15012
Variância residual	18.30981
Coefficiente de determinação genotípico(média) - %	91.985

Correlação intraclasses	41.7688
Coefficiente de variação genético (%)	17.4362
Razão CVg/CVe	.8469

---

Teste de Hipótese

FV	TESTE	GL NUM	GL DEN	F	PROBABILIDADE(%)
Tratamento	QMG/QMR	1	27	12.47666	.14999 **
Ambiente	QMA/QMR	3	27	53.78806	.0 **
Trat x Amb	QMGA/QMR	3	27	2.78049	.06022 ns

---