



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARLI DE MORAES GOMES

**EXTRATO AQUOSO DE CROTALARIA SOBRE A
GERMINAÇÃO E O CRESCIMENTO INICIAL DE
MANJERICÃO**

Londrina
2017

MARLI DE MORAES GOMES

**EXTRATO AQUOSO DE CROTALARIA SOBRE A
GERMINAÇÃO E O CRESCIMENTO INICIAL DE
MANJERICÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Pinto de Souza

Coorientadora: Prof. Dra. Dana Katia Meschede

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Gomes, Marli de Moraes .

Extrato aquoso de crotalária sobre a germinação e o crescimento inicial de manjeriço / Marli de Moraes Gomes. - Londrina, 2017.
59 f.

Orientador: José Roberto Pinto de Souza.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.

Inclui bibliografia.

1. alelopatia, Crotalaria juncea L., planta de cobertura, manjeriço. - Tese. I. Pinto de Souza, José Roberto . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

MARLI DE MORAES GOMES

**EXTRATO AQUOSO DE CROTALARIA SOBRE A GERMINAÇÃO E O
CRESCIMENTO INICIAL DE MANJERICÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. José Roberto P. de Souza
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Lúcia Sadayo Assari Takahashi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Eli Carlos de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 21 de fevereiro de 2017.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido força, discernimento e coragem para sempre lutar pelos meus sonhos e chegar até aqui.

À Universidade Estadual de Londrina/Programa de Pós Graduação em Agronomia, pela oportunidade concedida.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. José Roberto Pinto de Souza pela orientação.

Aos professores Dra. Dana Katia Meschede pela coorientação, e Dr. Eli Carlos de Oliveira pelos ensinamentos e apoio para finalização do trabalho.

Aos pesquisadores Dr. Francisco Carlos Krzyzanowski e Dra Estela de Oliveira Nunes, e funcionários João Alves e Elpídio da Embrapa Soja, por todo ensinamento e contribuição.

A minha família, em especial à minha irmã Marisa de Moraes Gomes, por sempre se fazer presente, por me apoiar e acreditar em mim.

À Vitor Rampazzo Favoretto, por todo amor, carinho e calma, principalmente nos momentos mais difíceis.

A todos os meus amigos, que de forma direta ou indireta estiveram presentes no decorrer do curso.

À Jessica Pavão do Prado, Maria Aparecida da Cruz, Aline Paladini, Douglas Junior Bertoncetti e Allan Dominguez, por toda ajuda e pela amizade.

Aos colegas Leonel e Giseli pela disposição e por toda contribuição.

A todos os colegas, professores e funcionários da UEL.

Muito obrigada!

GOMES, Marli de Moraes. **Extrato aquoso de crotalária sobre a germinação e o crescimento inicial de manjeriço**. 2017. 59p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O sistema de plantio direto de hortaliças sobre cobertura morta é uma prática conservacionista que vem se difundindo no Brasil. O sucesso da sua implantação depende da escolha da espécie vegetal, pois algumas delas podem liberar, no processo de decomposição, substâncias alelopáticas capazes de interferir no desenvolvimento de outras espécies. A crotalária é uma leguminosa utilizada para adubação verde e cobertura morta do solo, apresenta em sua composição substâncias químicas capazes de interferir no desenvolvimento de outras plantas e organismos. O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de extratos aquosos de crotalária, preparados por infusão e maceração, sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas de manjeriço, bem como, identificar e quantificar os compostos fenólicos. Os extratos aquosos concentrados foram preparados por infusão e maceração através da mistura de 100 g de material vegetal seco e moído com 1000 mL de água destilada, e a partir deste feitas as diluições em água destilada, nas concentrações de 25, 50, 75 e 100% e um controle. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2x5 (dois métodos de preparo e cinco concentrações) com quatro repetições. Os testes foram realizados em laboratório e casa de vegetação. Foram avaliados o pH, o potencial osmótico, identificados e quantificados os compostos fenólicos dos extratos. O ensaio conduzido em laboratório em delineamento inteiramente casualizado, utilizou-se 50 sementes de manjeriço para cada repetição que foram acondicionadas em caixas plásticas com duas folhas de papel filtro umedecidas com as concentrações dos extratos. O experimento da casa de vegetação foi elaborado pelo delineamento em blocos casualizados, 20 sementes de manjeriço foram semeadas por caixa de polietileno com a mistura de solo e areia (2:1 v/v), e umedecido com os extratos com 200 mL por caixa. Os parâmetros analisados foram: percentual de sementes germinadas e emergidas, índice de velocidade de germinação e emergência, percentual de plântulas anormais, comprimento da parte aérea e da radícula, massa seca total de plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Os resultados obtidos indicaram que os extratos aquosos de crotalária inibiram a germinação e crescimento inicial de manjeriço nas concentrações de 75 e 100%. A ação de inibição foi mais significativa para o método de extração por infusão. Foram identificados e quantificados os seguintes compostos fenólicos: ácido gálico (20,63 µg g), ácido ferúlico (10,74 µg g) e ácido cinâmico (1,36 µg g).

Palavras-chave: *Crotalaria juncea* L. Alelopatia, Planta de cobertura. *Ocimum basilicum* L.

GOMES, Marli de Moraes. **Aqueous extract of sunn hemp on germination and initial growth of basil.** 2017. 59p. Dissertation (Master's Degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

The direct planting system of vegetables on mulch is a conservative practice that has been diffused in Brazil. The success of its implementation depends on the choice of plant species, because some of them could release, in the process of decomposition, allelopathic substances capable of interfere in the development of other species. The sunn hemp is a leguminous used to green fertilization and mulch on the soil, presents in its composition chemical substances able to interfere in the development of other plants and organisms. This study had as a goal evaluate the allelopathic potential of aqueous extracts of sunn hemp, prepared by infusion and maceration, under the germination and the initial growth of basil plantlets, as well as, identify and quantify the phenolic compounds. The concentrated aqueous express were prepared by infusion and maceration through the mixture of 100g of dry and grinded plant material with 100mL of distilled water, and from those the dilutions in distilled water were made, in the concentrations of 25, 50, 75 and 100% and a control. The treatments were arranged in a factorial scheme 2x5 (two preparation methods and five concentrations) with four repetitions. The tests were performed in the laboratory and green house. Were evaluated the pH, the osmotic potential, identified and quantified the phenolic compounds of the extracts. The trial conducted at the laboratory in a completely randomized design, 50 seeds of basil were used for each repetition which were placed in plastic boxes with two paper leafs dampened with the concentrations of the extracts. The trial in the green house was elaborated by the completely randomized blocks design, 20 seeds of basil were seeded by each polyethylene box with the mixture of sand and soil (2:1 v/v), and dampened with the extracts with 200mL per box. The analyzed parameters were: percentage of germinated and emerged seeds, germination and emergence velocity indexes, percentage of abnormal plantlets, length of aerial part and root, total dry mass of plantlets. The data were submitted to an analysis of variance and the means compared by Tukey test (5%). The obtained results indicated that the sunn hemp aqueous extracts inhibited the germination and initial growth of basil in the 100 and 75% concentrations. The action of inhibition was more significant to the infusion extraction method. Were identified and quantified the following phenolic compounds: galic acid (20,63 µg g), ferulic acid (10,74 µg g) and cinnamic acid (1,36 µg g).

Keywords: Sunn hemp. Allelopathy, Cover crop. *Ocimum basilicum* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Precipitação e temperatura média registradas no município de Londrina-PR, durante o período de agosto a dezembro de 2015. Londrina, 2016.	27
Figura 2- Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de <i>Crotalaria juncea</i> L. em HPLC. Londrina, 2016.	44
Figura 3- Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de <i>Crotalaria juncea</i> L. em HPLC com tempo de retenção para o ácido gálico e seu padrão. Londrina, 2016.	45
Figura 4- Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de <i>Crotalaria juncea</i> L. em HPLC com tempo de retenção para o ácido ferúlico e seu padrão. Londrina, 2016.	45
Figura 5- Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de <i>Crotalaria juncea</i> L. em HPLC com tempo de retenção para o ácido cinâmico e seu padrão. Londrina, 2016.	46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Caracterização química do solo da área de plantio. Londrina, 2016.27
- Tabela 2** - Caracterização química do substrato (solo+areia) utilizado no teste de emergência em casa de vegetação. Londrina, 2016.31
- Tabela 3** - Análise de variância das variáveis: percentual de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), percentual de plântulas anormais (%PA), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois métodos de extração (infusão e maceração) e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.33
- Tabela 4** - Percentual de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), percentual de plântulas anormais (%PA), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois métodos de extração, infusão (I) e maceração (M), e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.38
- Tabela 5** - Análise de variância das variáveis: percentual de emergência (PE), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois tipos de extração (maceração e infusão) e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.39
- Tabela 6** - Percentual de emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois métodos de extração, infusão (I) e maceração (M), e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	PLANTIO DIRETO DE HORTALIÇAS	12
2.1.1	Crotalaria Juncea L.....	13
2.2	EFEITOS DA COBERTURA DE PALHA	14
2.2.1	Alelopatia	16
2.3	CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE TESTE	21
2.3.1	Manjeriço (Ocimum basilicum L.).....	21
3	ARTIGO	23
3.1	RESUMO	23
3.2	ABSTRACT	24
3.3	INTRODUÇÃO	25
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.4.1	Preparo dos Extratos	28
3.4.2	Parâmetros Físico-Químicos dos Extratos.....	29
3.4.3	Bioensaio em Laboratório	29
3.4.4	Bioensaio em Casa de Vegetação.....	30
3.4.5	Identificação e Quantificação por HPLC	31
3.4.6	Análises Estatísticas	32
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.5.1	Bioensaio em Laboratório	32
3.5.2	Bioensaio em Casa de Vegetação.....	39
3.5.3	Identificação e Quantificação por HPLC	44
3.6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

O cenário agrícola brasileiro tem priorizado a inserção de práticas que favoreçam a produção de alimentos naturais e orgânicos, aliadas à conservação dos recursos ambientais.

O sistema de plantio direto de hortaliças é uma prática conservacionista que pode favorecer a produção de plantas condimentares, aromáticas e medicinais com menor emprego de agroquímicos. Entre elas, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) pode ser beneficiado por esse sistema, por ser importante condimento alimentar aromático consumido principalmente *in natura*, e pelo grande interesse econômico que tem despertado, devido suas propriedades medicinais, é explorado como matéria prima para extração do óleo essencial, rico em linalol, utilizado na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos.

A crotalária (*Crotalaria juncea* L.) destaca-se entre as leguminosas utilizadas no sistema de plantio direto de hortaliças, tanto antecedendo o plantio como adubação verde, quanto como cobertura do solo. Apresenta potencial para controlar plantas invasoras e fitonematóides através de compostos alelopáticos do seu metabolismo secundário, além da capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e elevada produção de biomassa.

O conhecimento das interações entre espécies vegetais é de fundamental importância para a distribuição numa comunidade, e está diretamente ligado ao sucesso de implantação do sistema de plantio direto, uma vez que, algumas plantas, no processo de decomposição podem liberar substâncias químicas, como compostos fenólicos, flavonoides e taninos, provenientes do metabolismo secundário, com potencial para inibir ou prejudicar o desenvolvimento de outras espécies ou organismos. A este fenômeno dá-se o nome de alelopatia.

A utilização do potencial alelopático das culturas é importante no sistema de plantio direto, já que além de barreira física, a palha da cultura antecessora pode liberar aleloquímicos e controlar algumas espécies de plantas invasoras. E também, interferir na emergência e desenvolvimento de espécies cultivadas.

Normalmente, no processo de investigação das características alelopáticas de uma espécie são realizados testes laboratoriais com aplicação de

extratos vegetais, e sua ação sobre a germinação de sementes de espécies bioindicadoras sensíveis ou da cultura de interesse.

O conhecimento da alelopatia de plantas de cobertura utilizadas no sistema de plantio direto sobre hortaliças é incipiente, principalmente relacionado às espécies com potencial medicinal, como o manjeriço. É importante realizar pesquisas nesse sentido, para o conhecimento da relação entre as espécies, e para o planejamento de implantação das técnicas de plantio direto e adubação verde nos sistemas de produção.

O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de concentrações de extratos aquosos de *Crotalaria juncea* L., preparados por infusão e maceração, sobre a germinação e o crescimento inicial de manjeriço, bem como, identificar e quantificar os compostos fenólicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTIO DIRETO DE HORTALIÇAS

No cultivo convencional de hortaliças é comum o revolvimento do solo, que pode com o tempo, reduzir a quantidade e a qualidade da matéria orgânica (SOUZA et al., 2014; RAMOS et al., 2015). O plantio direto já consagrado na produção de grãos, utilizado em mais de 30 milhões de hectares no Brasil, é uma importante ferramenta para a obtenção de sistemas produtivos sustentáveis também na olericultura (SOUZA; REZENDE, 2011). Assim, o cultivo de hortaliças em sistema plantio direto tem-se difundido no mundo, com forte tendência ao crescimento em sua adoção (SOUZA et al., 2014).

O plantio direto de hortaliças é definido como um sistema de manejo sustentável do solo e da água, que compreende diversos processos, fundamentado em três requisitos básicos: o revolvimento mínimo do solo, restrito à cova ou sulco de plantio, a diversificação de espécies pela rotação de culturas e a manutenção de resíduos vegetais com o uso de culturas específicas para a formação de palhada na superfície do solo (MADEIRA, 2013).

O sistema plantio direto de hortaliças (SPDH) pressupõe a cobertura permanente do solo utilizando-se cultivos comerciais ou mesmo culturas de cobertura, e proporciona benefícios como: favorece o desenvolvimento da população de artrópodes e microfauna benéficos, estocagem de carbono, reduz a infestação de plantas daninhas, reduz resistência à penetração e oscilação da temperatura do solo, economia de água por manter a umidade, melhora as características nutricionais do solo (FONTES, 2005). Além das vantagens proporcionadas ao solo e a própria planta, o menor contato das folhas ou frutos com o solo, proporcionado pela palhada, confere melhor aspecto comercial e maior conservação pós-colheita às hortaliças, valorizando o produto (MADEIRA, 2013).

Para a adoção do SPDH, deve-se considerar que as hortaliças, em geral, não proporcionam resíduos de palhada em quantidade adequada à manutenção do sistema, devendo-se incluir plantas de cobertura anteriormente ao cultivo das hortaliças (MADEIRA, 2013).

Em princípio, qualquer planta pode ser utilizada como cobertura, porém o sucesso de implantação do SPDH depende da escolha da espécie vegetal,

sendo que, são preferíveis espécies com crescimento rápido, grande produção de massa seca, período de permanência dos restos vegetais sobre a superfície do solo do início ao fim do ciclo da cultura de interesse, efeitos alelopáticos sobre infestantes e com potencial para as condições locais (NUNES et al., 2006). O grupo de espécies vegetais utilizadas como cobertura do solo no SPDH é representado pelas famílias das gramíneas como milho, aveia e milheto, e leguminosas como as crotalárias, mucunas e tremoço (HAGEMANN et al., 2010).

Espécies da família das leguminosas são preferencialmente utilizadas, devido à capacidade de se associarem às bactérias fixadoras de nitrogênio e possibilitam aporte desse elemento aos sistemas de produção (PADOVAN et al., 2002). Além disso, a palhada de leguminosas, fragmentada e depositada na superfície do solo, caracteriza-se por uma rápida decomposição, provocada pela baixa relação C/N, e consequente liberação de nutrientes, favorecendo o desempenho agrônomo das culturas, principalmente as hortaliças que normalmente apresentam ciclo de cultivo menor em relação às grandes culturas (AITA; GIACOMINI, 2003).

2.1.1 *Crotalaria juncea* L.

A crotalária (*Crotalaria juncea* L.) pertence à família das Fabaceas, é uma leguminosa anual de climas tropicais e subtropicais, originária da Índia e Paquistão, com ampla adaptação às regiões tropicais do mundo. Desenvolve-se em solos de baixa fertilidade e matéria orgânica (AGUIAR et al., 2014). Tem hábito de crescimento arbustivo, ereto, atingindo 2 a 3 metros de altura. Pode ser cultivada solteira, consorciada ou intercalada (CALEGARI, 2002).

A densidade de semeadura depende do uso e do manejo da espécie, onde as maiores devem ser utilizadas para cobertura. Recomenda-se de 15 a 25 plantas por metro, com espaçamento de 25 a 50 cm. Tem uma velocidade de crescimento inicial rápida, por isso é considerada ideal para cultivos em áreas onde se tem um período curto de descanso, com menos de 100 dias (FREITAS et al., 2003; FORMENTINI et al., 2008).

O ciclo, do plantio até a colheita das vagens, pode chegar a 180 dias, porém para fins de adubação verde e cobertura, recomenda-se o corte quando ela apresenta máxima produção, ao redor de 100 dias. Sua produtividade fica entre

40 a 60 t ha⁻¹ de massa verde e 6 a 8 t ha⁻¹ de massa seca, e capacidade de fixar, em associação com bactérias do gênero *Rhizobium*, entre 180 e 300 kg ha⁻¹ de N (FORMENTINI et al., 2008).

A crotalaria é utilizada como adubo verde, como alternativa à diminuição ou mesmo à eliminação da necessidade de adubos nitrogenados químicos, possibilitando aumentos no rendimento das culturas em sucessão, rotação ou intercalares (AGUIAR et al., 2014).

É comumente empregada como cultura de cobertura no plantio direto, devido ao benefício que causa ao solo na sua habilidade em promover a fixação de nitrogênio em simbiose com bactérias, contribuindo com o fornecimento para as culturas subsequentes, produzir biomassa rapidamente, aumentar a matéria orgânica do solo, sequestrar carbono (WANG et al., 2003), além de apresentar efeito alelopático e/ou supressor de espécies invasoras como a tiririca (*Cyperus rotundus* L.) (CARVALHO et al., 2004; AGUIAR et al., 2014) e fitonematóides formadores de galhas (*Meloidogyne* sp.) e cistos (*Heterodera glycini*) (MARSHALL et al., 2002; AGUIAR et al., 2014).

Análises fitoquímicas do extrato da planta indicam a presença de carboidratos, esteróides, triterpenos, ácidos fenólicos, flavonóides, alcalóides, aminoácidos, saponinas, glicosídeos e taninos (MALASHETTY, 2004).

Utilizada como cobertura viva, contribui para o incremento da fertilidade e redução da erosão do solo, tendo como consequência a reciclagem de nutrientes e conservação de água no solo (USDA, 2005). Proporciona eficiente cobertura do solo pela grande produção de biomassa vegetal (FORMENTINI et al., 2008).

No Brasil foi introduzida no início do século XX para promover a melhoria do solo. É cultivada em toda região tropical, vegeta em solos pobres, inclusive nos arenosos de várias fertilidades e bem drenados, é exigente em calor, luz e umidade, suportando geadas leves (CALEGARI et al., 1993).

2.2 EFEITOS DA COBERTURA DE PALHA

Além dos efeitos atribuídos ao solo, a cobertura de palha pode interferir no desenvolvimento de várias espécies vegetais, como plantas invasoras e até mesmo as cultivadas. Os efeitos da cobertura de palha podem ser analisados

sob três aspectos distintos, físico, químico e biológico, embora haja interações entre eles (PITELLI; PITELLI, 2004).

O efeito físico da cobertura pode interferir na germinação e na taxa de sobrevivência das plântulas de algumas espécies. No processo germinativo, pode ocorrer a inibição de sementes fotoblásticas positivas, as quais requerem determinado comprimento de onda para germinar, assim como, sementes que necessitam de grande amplitude térmica para iniciar o processo germinativo (MONQUERO et al., 2009). O efeito físico da cobertura pode prejudicar o desenvolvimento e a sobrevivência das plântulas com pequenas quantidades de reservas nas sementes, além de induzir ao estiolamento e, assim ficarem mais suscetíveis aos danos mecânicos (CORREIA; DURIGAN, 2004).

Quanto aos efeitos biológicos, a deposição de resíduos sobre o solo e o conseqüente aumento do teor de matéria orgânica, cria condições para desenvolvimento de micro-organismos que exercem funções na deterioração e perda da viabilidade de sementes e plântulas (PITELLI; DURIGAN, 2001). A cobertura cria também um abrigo seguro para alguns inimigos naturais, predadores de sementes e plântulas, como os insetos.

Em relação aos efeitos químicos, a cobertura pode ter influência alelopática, e liberar no ambiente, durante o processo de decomposição, substâncias que irão interagir com outros organismos ou plantas, inibindo ou estimulando o seu crescimento e desenvolvimento (RICE, 1984). Essa influência pode ocorrer entre microrganismos, entre microrganismos e plantas, entre plantas cultivadas, entre plantas daninhas, e entre plantas daninhas e plantas cultivadas (MONQUERO et al., 2009).

Segundo Medeiros (1990) o uso de cobertura morta e dos restos vegetais, visando ao controle de plantas daninhas, é um dos exemplos mais antigos do aproveitamento econômico da alelopatia. Ainda de acordo com o autor, inicialmente pela falta de conhecimento na área, a inibição alelopática exercida pelos restos de culturas foi atribuída à ação de impedimento físico da camada vegetal ou, até mesmo, ao impedimento da passagem de luz, que é importante para a germinação das sementes de certas espécies.

Pesquisas recentes têm sugerido a exploração da alelopatia de plantas de cobertura como uma alternativa no manejo de plantas infestantes no

sistema de plantio direto, no entanto, algumas espécies podem interferir também, na germinação e no estabelecimento de plantas cultivadas.

2.2.1 Alelopatia

As plantas possuem a capacidade de produzir substâncias químicas que contribuem para sua sobrevivência e atuam no desenvolvimento de mecanismos de defesa. Essas substâncias são metabólitos secundários chamados de aleloquímicos, e a este fenômeno dá-se o nome de alelopatia.

O termo "alelopatia" foi criado em 1937, pelo pesquisador alemão Hans Molisch, com a reunião das palavras gregas "*allélon*" e "*pathos*", que significam respectivamente, mútuos e prejuízo. Segundo Molisch, "alelopatia é um fenômeno natural, químico-ecológico em que as plantas têm a capacidade de produzir substâncias químicas que, liberadas no ambiente, influenciam de forma favorável ou desfavorável o desenvolvimento de outras plantas" (RICE, 1984; SOARES et al., 2002).

A Sociedade Internacional de Alelopatia define este fenômeno como sendo qualquer processo envolvendo metabólitos secundários que influencia no crescimento e no desenvolvimento de sistemas biológicos, seja benéfico ou prejudicial (SAXENA et al., 1996).

Dentro de uma comunidade vegetal, existem diversos tipos de mecanismos de interferências, havendo a necessidade de se diferenciar competição de alelopatia. Competição consiste na interferência provocada por organismos que retiram do ambiente elementos vitais, como água, luz, nutrientes, gás carbônico e espaço, baixando seus níveis e prejudicando o desenvolvimento de outros. A alelopatia compreende a interferência provocada pela introdução de substâncias químicas, produzidas por certos organismos no ambiente, afetando outros indivíduos da comunidade (SZCZEPANSKI, 1977). De forma resumida, a alelopatia é manifestada pela adição de uma substância química ao meio, enquanto a competição significa a redução de um fator ambiental.

Essas substâncias químicas são provenientes do metabolismo secundário, que no processo de evolução das plantas representa vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja

inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento das plantas (WU et al., 1999).

Reconhecidamente, os metabólitos secundários estão distintos em três categorias de produtos químicos: terpenos, que representam 55% com cerca de 25.000 compostos; alcaloides com 27%, e aproximadamente 12.000 produtos; compostos fenólicos com 18% e próximo de 8.000 compostos (ZWENGER; BASU, 2008). Sendo que, os compostos fenólicos compreendem ao maior grupo de metabólitos que foram identificados como alelopáticos, considerados potentes inibidores da germinação de sementes, crescimento da parte aérea e alongamento das raízes (CARMO et al., 2007; RICE, 1984). Estes apresentam estruturas com anel aromático e grupos hidroxila, tendo em sua maioria, origem a partir da fenilalanina. Estas substâncias atuam na defesa contra herbívoros e patógenos, na atração de polinizadores, na proteção contra a radiação ultravioleta e no estabelecimento de simbiose (INDERJIT; DUKE 2003).

Grande parte dos aleloquímicos presentes nas plantas de cobertura de solo é solúvel em água, e pode ser liberado através dos processos de decomposição das folhas ou de outras partes, que caem no solo e sofrem ação do clima e dos micro-organismos, através da liberação de substâncias voláteis, exsudação direta de produtos nas raízes, lixiviação de compostos orgânicos e inorgânicos por ação da chuva ou orvalho (ALMEIDA, 1991).

Os efeitos dos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos das plantas, entretanto, os mecanismos de ação desses compostos ainda não estão completamente esclarecidos. As pesquisas neste sentido permitem concluir que os aleloquímicos interferem nos processos metabólicos primários e sistema de crescimento da planta (DURIGAN; ALMEIDA, 1993).

De maneira geral, ao serem liberados no ambiente, os compostos alelopáticos podem interferir nos processos vitais das plantas, tais como a germinação das sementes e o crescimento das plântulas, a assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteína, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular (DURIGAN; ALMEIDA, 1993; EINHELLIG, 1995). O efeito morfológico dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os efeitos de aleloquímicos sobre a germinação e/ou

desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de efeitos ocorridos inicialmente em níveis molecular e celular (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Em função dessas alterações, a alelopatia é reconhecida como um processo ecofisiológico importante nos ecossistemas, influenciando na sucessão vegetal primária e secundária, na estrutura, composição e na dinâmica de comunidades vegetais nativas ou cultivadas (RIZVI et al. 1992; SCRIVANTI et al. 2003).

O modo de ação dos compostos alelopáticos pode ser direto ou indireto. Como ações indiretas incluem-se alterações nas propriedades do solo, em suas condições nutricionais e em populações e/ou atividade dos microrganismos, já o modo direto ocorre quando o aleloquímico se liga às membranas da planta receptora ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Segundo Malheiros e Peres (2001), a atividade alelopática raramente é resultado de uma única substância, sendo mais comum o efeito sinérgico, ou seja, um conjunto de substâncias apresentando atividade. Assim, torna-se difícil o entendimento dos processos envolvidos pelo fato de um mesmo composto influenciar várias funções biológicas e a mesma função ser influenciada por mais de um composto.

O estudo da identificação de espécies com potencial alelopático pode ser realizado através de bioensaios que consistem de testes de germinação e crescimento de plântulas envolvendo extratos aquosos e espécies bioindicadoras sensíveis. Nesses trabalhos utilizam-se solventes orgânicos ou inorgânicos a frio ou a quente para a elaboração dos extratos (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Nesse contexto, a alface (*Lactuca sativa* L.) é a espécie que vem sendo amplamente utilizada em ensaios para a identificação e determinação de efeitos alelopáticos, por apresentar sensibilidade aos metabólitos secundários, sendo considerada uma planta bioindicadora em experimentos envolvendo alelopatia (FERREIRA; AQUILA, 2000; CIPRIANI et al., 2014).

Em geral, os trabalhos que envolvem essa técnica utilizam extratos de alta polaridade, como os aquosos, hidroalcoólicos e metanólicos, e referem-se às pesquisas em fase inicial de estudo. Supõe-se com este procedimento, que compostos químicos de alta polaridade possuem também, alta atividade alelopática. Segundo Souza Filho et al. (2010), os compostos fenólicos alta atividade alelopática são de alta polaridade, e alguns solúveis em água.

O emprego de extrato aquoso em testes alelopáticos tem como objetivo simular o que ocorre na natureza (MEDEIROS, 1989), onde a maior parte dos aleloquímicos é liberada na forma de solutos aquosos, por isso deve-se evitar a extração com solventes orgânicos (clorofórmio, éter, álcool etc.), pois poder-se-iam liberar compostos que em condições naturais não atuariam (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MIRÓ et al., 1998).

Os bioensaios devem ser realizados também no campo ou em casa de vegetação, onde a ação de micro-organismos pode interferir nos efeitos dos compostos do metabolismo secundário, o que não ocorre em condições controladas de laboratório, principalmente na ausência de solo. Deve-se ainda levar em conta que a concentração de aleloquímicos extraídos da cobertura morta por lixiviação é menor que as concentrações normalmente utilizadas em extratos alelopáticos e, portanto, seu efeito é menor (CARVALHO et al., 2014).

Contudo, há uma ampla variedade de procedimentos empregados nesses estudos, o que indica falta de padronização (SIMÕES et al., 2013; REIGOSA et al., 2013). A principal consequência dessas variações é a dificuldade de realizar comparações entre trabalhos com o mesmo enfoque, e é fundamental o controle das condições ambientais em bioensaios alelopáticos, para que resultados de inibição ou promoção do desenvolvimento da semente e crescimento de plântulas não sejam confundidos com outros fatores de interferência, como a falta ou excesso de água, níveis de temperatura, luz, qualidade fisiológica da semente, dentre outros (SOUZA FILHO et al., 2010).

Paralelamente aos métodos de avaliação, com a evolução das pesquisas foram agregados procedimentos experimentais que permitem a identificação de compostos químicos envolvidos na atividade alelopática das plantas. O uso da cromatografia líquida (HPLC) é umas das técnicas consagradas, pois possibilita a identificação e quantificação em diferentes frações de plantas doadoras, bem como a caracterização de propriedades alelopáticas (SOUZA FILHO et al., 2010).

A ciência da alelopatia encontra-se ainda em fase juvenil, porém, é reconhecida como uma importante ferramenta para identificar plantas que apresentam compostos bioativos, a partir dos quais podem ser produzidos produtos naturais, específicos e menos prejudiciais ao ambiente (MACIAS et al., 1998), e aplicados no manejo de sistemas naturais e cultivados, especialmente no controle de

plantas daninhas, nematoides e insetos (MAIRESSE, 2005; NORSWORTHY; MEEHAN, 2005). Neste contexto, se encaixam as plantas de cobertura empregadas no sistema de plantio direto, as quais de diversas formas influenciam no estabelecimento das lavouras. O ideal é obter efeitos positivos na cultura, condições nem sempre obtidas no campo (NEVES, 2005).

Na literatura há diversos trabalhos nos quais se relatam efeitos negativos de substâncias alelopáticas, tanto sobre plantas infestantes, como em culturas comerciais. Ducca e Zonetti (2008), utilizando extrato aquoso de aveia-preta encontraram efeito alelopático prejudicou o desenvolvimento de plântulas de soja. Ferreira e Aquila (2000) utilizaram o extrato da palhada de poáceas e verificaram atrasos na germinação e problemas no desenvolvimento do sistema radicular das plântulas de soja, e citam os compostos fenólicos como o fator. Os mesmos autores citam ainda que a aveia-preta afetou o crescimento das culturas de milho, feijão e soja. Reduções na produção de feijoeiro em sucessão ao plantio de mucuna-preta foram observadas por Abboud e Duque (1986), e atribuem esse efeito às substâncias alelopáticas produzidas por essa espécie.

Apesar de os compostos alelopáticos, na maioria das vezes, agirem como inibidores da germinação e do crescimento, em alguns trabalhos demonstra-se que atuam como promotores de crescimento quando presentes em menores concentrações como, no estudo feito por Ghayal et al. (2007), com extratos de folhas de *Cassia uniflora* L., que estimularam a germinação e o crescimento inicial de sementes de mostarda e rabanete nas concentrações de 2,5% e 5%, e inibiram, nas de 15% e 20%.

Em um trabalho realizado por Teixeira et al. (2004), avaliando o efeito alelopático de plantas de cobertura sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de picão-preto, concluíram que a aplicação do extrato aquoso de *Crotalaria juncea* reduziu a germinação em 35,5%.

O estado atual do conhecimento sobre a ocorrência de alelopatia em plantas de cobertura no sistema de plantio direto sugere que são amplas as possibilidades de se explorar esse fenômeno nos diferentes sistemas agrícolas, visando ao controle de plantas infestantes (AMABILE; CARVALHO, 2006). Para isso, estudos devem ser realizados também com o objetivo de avaliar os efeitos que exsudatos causam às culturas que serão implantadas sobre suas palhadas. Para as hortaliças, como o manjeriço, as informações são escassas.

2.3 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE TESTE

2.3.1 Manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta medicinal e aromática, originária da Índia. Também chamada de alfavaca, alfavaca-cheirosa ou manjeriço comum. É a espécie da família Lamiaceae mais intensamente cultivada no Brasil (BLANK et al., 2004), tanto em hortas domésticas para uso condimentar e medicinal, podendo ser consumido tanto *in natura*, quanto para o processamento industrial.

A cor de suas folhas varia de tons de verde ou roxo, podendo ser lisas ou onduladas, possuem comprimento médio de 6,5 cm e largura de 2,8 cm, largura média de copa de 45,70 cm, seu caule é ereto e ramificado com diâmetro médio de 1,32 cm, e atingem 50 a 100 cm de altura (SIMON, 1995). O ciclo médio para o florescimento é de 80 dias, o peso médio das sementes é de 1,90 g por planta e peso médio de 1.000 sementes é de aproximadamente 0,90g (BLANK, 2004). As inflorescências são do tipo espiga e compostas por flores brancas, lilases ou avermelhadas. Sua polinização é cruzada e os frutos são do tipo aquênio, de coloração preto-azulada (MIELE et al., 2001).

Existe mais de 60 cultivares diferentes de manjeriço, com variações na cor, tamanho e forma das folhas, porte da planta e concentração de aroma (ÖZCAN; CHALCHAT, 2002; SILVA et al., 2005).

Multiplica-se facilmente por estacas de ponteiro, postas a enraizar na primavera ou por sementes (MAROTTI; PICCAGLIA; GIOVANELLI, 1996). Quanto ao clima, a cultura do manjeriço se adapta a condições subtropicais ou temperadas, quente e úmido, podendo ser cultivado o ano todo. A planta tolera baixas temperaturas, porém seu desenvolvimento nessas condições é mais lento. É sensível a geadas e não tolera o estresse hídrico, deve ser cultivado sob sol pleno, em solo fértil, drenável, com matéria orgânica e irrigado regularmente (FAVORITO, 2011; SIMON, 1995).

Caracteriza-se por apresentar ciclo anual ou perene, dependendo do clima, das cultivares ou condições agronômicas. Assim como a quantidade de cortes possíveis depende da região de plantio. No nordeste do Brasil, há condições climáticas as quais permitem que seja cultivada como planta perene, podendo-se

realizar vários cortes por ano (BLANK et al., 2004). Na Europa, em regiões frias, se comporta como cultura anual, diferente do caráter perene dos centros de origem (SANTOS et al., 2005).

No Brasil, a produção de manjeriço é praticada principalmente por pequenos produtores e é voltada para comercialização de folhas verdes aromáticas (BLANK et al. 2004). Porém, existem em algumas regiões do Nordeste, cultivos em maior escala voltados para produção de óleo essencial.

As folhas do manjeriço apresentam sabor e aroma doce e picante característico, que são utilizadas secas ou frescas na preparação de diversos pratos quentes ou frios, e estão intimamente relacionadas à gastronomia italiana, onde são matéria prima principal para o preparo de molhos (CERONI, 1989).

Os cinco compostos presentes no óleo essencial do manjeriço são: 1,8-cineol (7,47%), geraniol (12,55%), acetato de nerila (3,58%), á-trans bergamopteno (1,17%) e principalmente linalol (69,54%), que pode ser extraído de folhas e ápices que possuam inflorescências (SANTOS; RAO, 2000; CARNESECCHI, 2001; PEANNA, 2002).

O óleo essencial, rico em linalol, vem ganhando espaço também na agricultura devido a sua importância na indústria de perfumaria e na aromatização de alimentos e bebidas (MAROTTI et al., 1996). Este apresenta propriedades inseticidas e repelentes (UMERIE et al., 1998), e têm sido demonstradas atividades antimicrobianas (FERNANDES et al., 2004).

3 ARTIGO

EXTRATO AQUOSO DE CROTALARIA SOBRE A GERMINAÇÃO E O CRESCIMENTO INICIAL DE MANJERICÃO

3.1 RESUMO

A *Crotalaria juncea* L. é uma leguminosa utilizada para cobertura morta do solo no sistema de plantio direto de hortaliças. Apresenta ampla habilidade em fixar nitrogênio atmosférico em simbiose com bactérias e potencial alelopático para controlar plantas invasoras e fitonematóides. É importante o conhecimento do seu potencial alelopático sobre espécies cultivadas. O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de diferentes concentrações de extratos aquosos de *Crotalaria juncea* L., preparados por infusão e maceração, sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas de manjeriço, bem como, identificar e quantificar os possíveis compostos fenólicos. Os extratos aquosos concentrados foram preparados por infusão e maceração através da mistura de 100 g de material vegetal seco e moído com 1000 mL de água destilada, e a partir deste foram feitas as diluições em água destilada, nas concentrações de 25, 50, 75 e 100% e um controle (água destilada). Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2x5 (dois métodos de preparo e cinco concentrações) com quatro repetições. Os testes foram realizados em laboratório e casa de vegetação utilizando-se como espécie receptora o manjeriço. Foram avaliados o pH, o potencial osmótico, identificados e quantificados os compostos fenólicos dos extratos. O ensaio conduzido em laboratório foi desenvolvido pelo delineamento experimental inteiramente casualizado. Utilizou-se 50 sementes de manjeriço para cada repetição que foram acondicionadas em caixas plásticas com duas folhas de papel filtro umedecidas com as concentrações dos extratos. O experimento da casa de vegetação foi elaborado pelo delineamento experimental em blocos casualizados, 20 sementes de manjeriço foram semeadas por caixa de polietileno com a mistura de solo e areia (2:1 v/v), e umedecido com os extratos de diferentes concentrações na quantidade equivalente a 200 mL por caixa. Os parâmetros analisados nos bioensaios foram: percentual de sementes germinadas e emergidas, índice de velocidade de germinação e emergência, percentual de plântulas anormais, comprimento da parte aérea e da radícula, massa seca total de plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Os resultados obtidos nos bioensaios indicaram que os extratos aquosos de crotalária inibiram a germinação e crescimento inicial de manjeriço nas concentrações de 75 e 100%. A ação de inibição foi mais significativa para o método de extração por infusão do que por maceração. Foram identificados e quantificados os seguintes compostos fenólicos: ácido gálico (20,63 µg g), ácido ferúlico (10,74 µg g) e ácido cinâmico (1,36 µg g).

Palavras-chave: Crotalária, Alelopatia, Planta de cobertura, *Ocimum basilicum* L.

AQUEOUS EXTRACT OF SUNN HEMP ON GERMINATION AND INITIAL GROWTH OF BASIL

3.2 ABSTRACT

The sunn hemp is a leguminous plant used as a dead coverture of the soil in the direct planting system of vegetables. It presents a wide ability to fixate atmospheric nitrogen in symbiosis with bacteria and allelopathic potential to control weed plants and plant nematodes. It is important the knowledge of its allelopathic potential on cultivated species. This study had as a goal evaluate the allelopathic potential of aqueous extracts of sunn hemp, prepared by infusion and maceration, under the germination and the initial growth of basil plantlets, as well as, identify and quantify the phenolic compounds. The concentrated aqueous express were prepared by infusion and maceration through the mixture of 100g of dry and grinded plant material with 100mL of distilled water, and from those the dilutions in distilled water were made, in the concentrations of 25, 50, 75 and 100% and a control. The treatments were arranged in a factorial scheme 2x5 (two preparation methods and five concentrations) with four repetitions. The tests were performed in the laboratory and green house. Were evaluated the pH, the osmotic potential, identified and quantified the phenolic compounds of the extracts. The trial conducted at the laboratory in a completely randomized design, 50 seeds of basil were used for each repetition which were placed in plastic boxes with two paper leafs dampened with the concentrations of the extracts. The trial in the green house was elaborated by the completely randomized blocks design, 20 seeds of basil were seeded by each polyethylene box with the mixture of sand and soil (2:1 v/v), and dampened with the extracts with 200mL per box. The analyzed parameters were: percentage of germinated and emerged seeds, germination and emergence velocity indexes, percentage of abnormal plantlets, length of aerial part and root, total dry mass of plantlets. The data were submitted to an analysis of variance and the means compared by Tukey test (5%). The obtained results indicated that the sunn hemp aqueous extracts inhibited the germination and initial growth of basil in the 100 and 75% concentrations. The action of inhibition was more significant to the infusion extraction method. Were identified and quantified the following phenolic compounds: galic acid (20,63 µg g), ferulic acid (10,74 µg g) and cinnamic acid (1,36 µg g).

Keywords: *Crotalaria juncea* L., Allelopathy, Cover crop, *Ocimum basilicum* L.

3.3 INTRODUÇÃO

A *Crotalária juncea* L. destaca-se entre as espécies leguminosas utilizadas como adubo verde ou cobertura morta do solo. Apresenta ampla adaptação às regiões tropicais, capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e potencial de produção de biomassa (USDA, 2005). Além disso, é considerada uma espécie alvo de pesquisas por possuir em sua composição, princípios químicos expressivos no controle de plantas invasoras e fitonematóides (CARVALHO et al., 2004; MARSHALL et al., 2002).

A produção de hortaliças como plantas condimentares, aromáticas, e medicinais pode ser beneficiada com a utilização de plantas de cobertura, uma vez que, o Ministério da Agricultura recomenda o cultivo orgânico para essas espécies, considerando a tendência mundial de busca por produtos naturais e a manutenção de suas características químicas (CARVALHO; CAMPOS, 2012).

Entre elas, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) destaca-se por ser largamente cultivado em diversos países, devido à sua importância econômica como condimento (CAROVIC-STANKO et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2002) e para a extração de óleo essencial, a partir de folhas e ápices com inflorescências para obtenção do linalol, utilizado na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos (MARTINS et al., 2010; BOZIN et al., 2006; FAVORITO et al., 2011).

O plantio direto é visto como uma prática conservacionista capaz de favorecer a produção de hortaliças com menor emprego de agroquímicos. No entanto, o sucesso de sua implantação depende da escolha da espécie vegetal, pois, no processo de decomposição, algumas delas podem, por meio da liberação de substâncias alelopáticas, prejudicar o desenvolvimento e até mesmo inibir microrganismos e a germinação de outras espécies, entre elas, plantas cultivadas (FERREIRA et al., 2008; DE CONTI; FRANCO, 2011; GOMES et al., 2013).

As substâncias alelopáticas são oriundas do metabolismo secundário das plantas e, entre os compostos, os fenólicos compreendem o maior grupo identificado, como os flavonóides e os taninos (CARMO et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Estudos sobre efeitos alelopáticos de resíduos vegetais são realizados, geralmente, por meio de bioensaios laboratoriais que utilizam extratos aquosos e espécies bioindicadoras sensíveis, e os processos utilizados são a

extração a frio, através de maceração e a quente, através de infusão (FERREIRA; AQUILA, 2000; FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2003).

Em consequência de seus efeitos alelopáticos, o extrato aquoso de *Crotalaria juncea* L. reduziu a germinação da *Lactuca sativa* L. e de *Bidens pilosa* L. em 89,6% e 35,5% respectivamente (TEIXEIRA et al., 2004). Os extratos dos adubos verdes, entre eles, a crotalária, na concentração de 10% reduziram o percentual de germinação de *Lactuca sativa* L. em 40% (ERASMO, 2004). A aplicação do extrato aquoso de crotalária e sua incorporação no solo inibiu a infecção de fitonematoides em mudas de tomate e reduziu em 51% das populações de *M. javanica* e *M. incognita* em áreas de cultivo de alface e repolho (GARRIDO et al., 2008; MORAES et al., 2006).

Apesar de muitos estudos relacionados à crotalária, o conhecimento dos seus efeitos alelopáticos sobre hortaliças e seus compostos fenólicos ainda é incipiente no Brasil, principalmente relacionado às espécies com potencial medicinal, como o manjeriço. É importante a realização de pesquisas nesse sentido, tanto para o conhecimento da relação entre as espécies, quanto para o planejamento de implantação das técnicas de plantio direto e adubação verde nos sistemas de produção.

O trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de concentrações de extratos aquosos de *Crotalaria juncea* L., preparados por infusão e maceração, sobre a germinação e o crescimento inicial de manjeriço, bem como, identificar e quantificar os compostos fenólicos.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram instalados ensaios em laboratório e casa de vegetação para avaliação do potencial alelopático de extratos aquosos de plantas de *Crotalaria juncea* L. Para obtenção do material vegetal, realizou-se em setembro de 2015 o plantio da crotalária em área experimental da Universidade Estadual de Londrina, no município de Londrina-PR, localizado 23°23' S, 51°11' O e altitude média de 566 m. Os valores médios de precipitação e temperatura ocorridos durante a condução do ensaio estão apresentados na Figura 1.

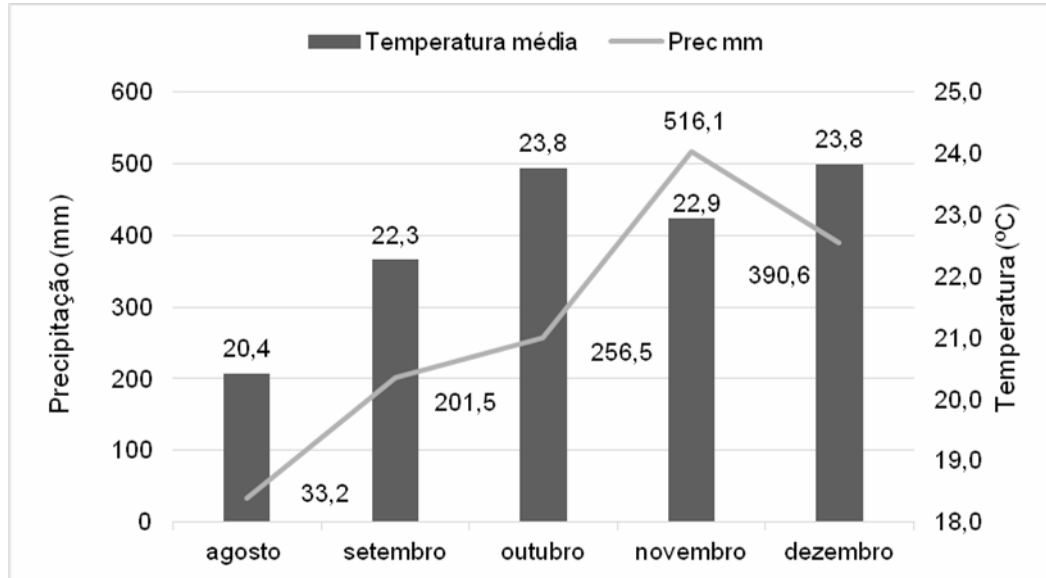


Figura 1 - Precipitação e temperatura média registradas no município de Londrina-PR, durante o período de agosto a dezembro de 2015. Londrina, 2016.
Fonte: IAPAR, 2016, <http://www.iapar.br>

O solo da área experimental classificado como Latossolo Vermelho Distroférico (EMBRAPA, 2013). Previamente ao plantio, coletaram-se amostras de solo (0-20 cm de profundidade) para a caracterização química (Tabela 1). Com base nas características do solo e rusticidade da espécie em estudo não se realizou a sua correção. Preparou-se o solo em condições adequadas de umidade, com uma aração e uma gradagem.

Tabela 1 - Caracterização química do solo da área de plantio. Londrina, 2016.

pH CaCl ₂	P disponível (mg.dm ⁻³)	Ca ⁺²	Mg ⁺² (cmol _c .dm ⁻³)	K ⁺	CTC efetiva	V (%)	Matéria Orgânica (g.dm ⁻³)
5,31	22,86	5,8	2,5	0,38	8,68	60,11	2,41

Sementes comerciais de crotalária (Piraf[®]) com 94% de germinação, semeadas manualmente em linhas e espaçadas a 0,50 m. Após a emergência foi realizado o raleio com o objetivo de manter 25 plantas por metro linear.

As plantas de crotalária com altura de 2 metros foram coletadas no período de florescimento, que correspondeu a 90 dias após a semeadura. O material composto por caule, folhas e flores foi retirado com auxílio de uma tesoura de poda,

cortados rente ao solo e colocado em sacos de papel e levado para secar em estufa com circulação de ar a temperatura de 40°C, até obter-se massa seca estável. Em seguida, o material seco foi triturado em moinho tipo Willey (peneira de 20 mesh), acondicionado em sacos plásticos e armazenado em geladeira, até a sua utilização.

Como espécies testes foram utilizadas inicialmente, sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) variedade Mimosa Salad Bowl em bioensaios laboratoriais como bioindicadora sensível, apenas para conhecimentos preliminares da atividade dos extratos. E sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), variedade Alfavaca Basilicão (ISLA Sementes®). As sementes das duas espécies foram adquiridas no comércio local, sem tratamento químico e com percentual germinativo de 95 e 93%, e pureza 90 e 95%, respectivamente.

Constatada a sensibilidade das sementes de alface com a aplicação dos extratos aquosos de plantas de crotalária, foram realizados os bioensaios de laboratório e de casa de vegetação com as sementes de manjeriço.

3.4.1 Preparo dos Extratos

A partir do material vegetal seco e moído foi preparado o extrato aquoso por dois métodos de extração: maceração e infusão.

Para obtenção do extrato por maceração, em um recipiente de vidro, adicionou-se 100 g de crotalária e 1000 mL de água destilada (25 °C). Para a infusão, em um recipiente de vidro, adicionou-se 100 g de crotalária e 1000 mL de água destilada previamente aquecida até o início de fervura (100 °C).

Os recipientes foram agitados manualmente por um minuto, e mantidos em repouso por 24 horas à temperatura ambiente e no escuro. Após, passadas em filtro de pano de algodão para obter-se o extrato de maior concentração (100%) ou solução padrão e armazenados em recipientes de vidro cobertos com plástico preto e mantidos em geladeira (10 °C) até a sua utilização.

Os tratamentos utilizados constaram de diluições das soluções padrão com a adição de água destilada para obter as concentrações de 25, 50 e 75%, e o tratamento controle com água destilada (0%).

3.4.2 Parâmetros Físico-químicos dos Extratos

Os extratos foram avaliados quanto ao pH, e o potencial osmótico determinado pelo método de Chardakov (BORELLA et al., 2009) em triplicata. Apresentaram valores de pH entre 6,05 e 6,30, e 6,20 para o controle, potencial osmótico variou entre -0,0278 a -0,0330 Mpa. Os valores de pH e potencial osmótico dos extratos aquosos de crotalária estão na faixa que permite a germinação e/ou o crescimento inicial do manjeriço.

3.4.3 Bioensaio em Laboratório

Germinação: quatro repetições de 50 sementes de manjeriço foram colocadas para germinar em caixas plásticas (11x11x3,5cm) forradas com duas folhas de papel filtro umedecidas com apenas água destilada (testemunha) e com as concentrações dos extratos na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. Em seguida, acondicionadas em câmara de germinação à temperatura alternada de 20 e 30°C com fotoperíodo de 12 horas.

Realizou-se diariamente a avaliação durante 14 dias, segundo os critérios descritos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Considerou-se germinadas as sementes que apresentaram protrusão radicular com cerca de 2 mm, classificando-as em plântulas normais ou anormais.

Consideraram-se plântulas anormais aquelas que não apresentaram algumas das estruturas, como raiz ou parte aérea, ou que apresentaram deformidades em alguma das estruturas, como raiz escurecida.

Juntamente com a germinação, foi determinado o índice de velocidade de germinação. Utilizou-se a metodologia de Maguire (1962) com contagens diárias durante 14 dias.

Comprimento de radícula e da parte aérea: quatro repetições de 50 sementes de manjeriço foram colocadas para germinar em caixas plásticas (11x11x3,5cm) forradas com duas folhas de papel filtro umedecidas com apenas água destilada (testemunha) e com as concentrações dos extratos na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. Em seguida, acondicionadas em câmara de germinação à temperatura alternada de 20 e 30°C com fotoperíodo de 12 horas. Ao

final deste período, foi avaliado aleatoriamente com o auxílio de régua milimetrada o comprimento do hipocótilo e da raiz de 20 plântulas por repetição. Os resultados expressos em centímetros (cm).

Massa seca total de plântulas: determinada a partir da massa seca de 20 plântulas utilizadas para o comprimento. Colocadas em sacos de papel, e mantidas em estufa com temperatura de 50°C, até a obtenção de massa constante (48 h). Estas foram pesadas em balança analítica de precisão de 0,0001 g (Shimadzu AY 220) e os resultados expressos em gramas (g).

Os bioensaios foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

3.4.4 Bioensaio em Casa de Vegetação

Emergência: semeou-se manualmente 20 sementes de manjeriço em caixas de polietileno (40x25x10cm) contendo uma mistura de solo e areia (proporção 2:1 v/v) e com as características químicas descritas na Tabela 2.

Para a determinação do volume de extrato a ser aplicado, foram testados diferentes volumes de água sobre amostras de caixas preenchidas com substrato, e selecionado aquele que umedecesse o solo sem perda. O volume determinado foi de 200 mL por caixa.

O substrato foi umedecido com 200 mL água e após 30 minutos receberam 200 mL dos extratos de crotalária e o controle com água destilada. Os tratamentos foram dispostos em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições.

As caixas foram mantidas em casa de vegetação sob temperatura controlada, máxima de 30°C (dia) e mínima de 25°C (noite). As irrigações foram realizadas em dias intercalados, ao final da tarde, a fim de evitar o excesso de umidade e a lixiviação dos extratos.

O percentual total de emergência foi calculado ao final de 14 dias de decorrência do teste (BRASIL, 2009).

Tabela 2 - Caracterização química do substrato (solo+areia) utilizado no teste de emergência em casa de vegetação. Londrina, 2016.

pH	P disponível	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	CTC efetiva	V	Matéria Orgânica
CaCl ₂	(mg.dm ⁻³)		(cmol _c .dm ⁻³)			(%)	(g.dm ⁻³)
6,6	32,76	7,14	1,25	0,45	10,75	82	2,50

Juntamente a avaliação da emergência foi determinado o índice de velocidade de emergência, quantificado diariamente, durante 15 dias, o número de plântulas de manjeriço emergidas.

Comprimento de radícula e parte aérea: coletou-se aleatoriamente 10 plântulas de cada repetição (40 plântulas por tratamento) após 15 dias da instalação do bioensaio. As plântulas foram lavadas e secadas em papel toalha. As medidas do comprimento da raiz e da parte aérea foram obtidas com utilização de régua milimetrada, e os resultados expressos em centímetros (cm).

Massa seca total de plântulas: a partir da massa seca de 10 plântulas determinou-se a massa seca total utilizando a mesma metodologia do bioensaio de germinação.

3.4.5 Identificação e Quantificação por HPLC

Para identificação e quantificação dos compostos secundários uma amostra de 100 mL (10% p.v) do extrato foi congelada e liofilizada (72 horas) em liofilizador modelo Christ, Alpha 2-4 LD plus. Posteriormente, 7 g da amostra foi solubilizada em 7 mL de metanol (MeOH) 22,5%. Após dois ciclos de 5 minutos de sonicação, o extrato foi agitado por 25 segundos e filtrado em filtros de membrana PVDF com poros de 0,45 µm e 0,20 µm. Uma alíquota de 2 mL do extrato filtrado foi transferida para vials de cromatografia, em duas repetições. Os extratos metanólicos das amostras foram analisados através de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) em coluna C18 de fase reversa (250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, partículas de 5 micra).

Alíquotas de 20 µL foram injetadas automaticamente no equipamento Prominence da Shimadzu, com controlador CBM-20A; detector SPD-20A; desgaseificador DGU 20A5; bomba LC-20AT; amostrador automático SIL-20A

e forno CTO 20^a. A fase móvel foi composta de dois solventes: (A)-2% de ácido acético (HOAc) e (B): uma mistura de metanol (MeOH), ácido acético e água MilliQ[®] (H₂O) (MeOH:HOAc:H₂O; 18:1:1). O fluxo do solvente foi de 1 mL/min e o registro na região do ultravioleta (UV) no comprimento de onda 260 nanômetros.

As concentrações dos compostos da amostra foram identificadas por meio da comparação de espectro e tempo de retenção dos padrões.

3.4.6 Análises Estatísticas

Os tratamentos foram arranjados no esquema fatorial 2x5x4 (métodos de extração x concentrações dos extratos em quatro repetições) para os bioensaios laboratoriais e em casa de vegetação e realizadas análises de variância. Nas análises foram observados os quadrados médios do resíduo e verificado os pressupostos para anova, a normalidade da distribuição de resíduos (SHAPIRO; WILK, 1965), a aditividade do modelo estatístico (TUKEY, 1949) e a homogeneidade de variâncias dos tratamentos por meio do teste de Bartlett (BANZATTO; KRONKA, 2006).

Embora os dados de concentração dos extratos serem quantitativos, foram analisados por meio do teste de comparações múltiplas de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). A escolha do teste de comparação múltipla se deu devido à falta de ajustamento de um modelo estatístico e baixa explicação do modelo para os valores observados representado através do índice de determinação (R^2). Todas as análises foram realizadas em scripts geradas no software R DEVELOPMENT CORE TEAM (2014).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Bioensaio em Laboratório

A germinação e o crescimento inicial do manjeriço apresentaram sensibilidade significativa à aplicação dos extratos aquosos de crotalária (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise de variância das variáveis: percentual de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), percentual de plântulas anormais (%PA), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjerição submetidas a dois métodos de extração (infusão e maceração) e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.

FV	GL	G	IVG	PA	CPA	CR	MST
	-	%	-	%	cm	cm	g
Extração (Ext.)	1	25,6 ^{ns}	0,436 ^{ns}	2265,0 ^{**}	0,183 ^{**}	0,013 ^{ns}	0,006 ^{ns}
Concentração (Conc.)	4	19393,6 ^{**}	184,08 ^{**}	8310,5 ^{**}	9,452 ^{**}	6,89 ^{**}	0,0041 ^{**}
Ext.*Conc.	4	9,60 ^{ns}	0,167 ^{ns}	738,5 ^{**}	0,086 ^{**}	0,086 ^{**}	0,0007 ^{**}
CV (%)		7,92	7,13	8,13	9,50	13,32	5,83

efeito altamente significativo ($p \leq 0,01$); ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$); CV % = coeficiente de variação.

Para a germinação observa-se que houve influência das concentrações aplicadas e não entre os diferentes métodos de preparo dos extratos (Tabela 4).

A germinação foi afetada negativamente pelas concentrações de 50, 75 e 100%. Os tratamentos com maior concentração dos extratos (75 e 100%) inibiram a germinação e aumentaram a formação de plântulas anormais.

De acordo com Ferreira e Aquila (2000), as alterações no padrão de germinação podem resultar de diversos efeitos, como alterações na permeabilidade das membranas, a transcrição do DNA e tradução do RNA, o funcionamento dos mensageiros secundários, a respiração, por sequestro de oxigênio, estruturas citológicas e ultraestruturas, hormônios, tanto alterando suas concentrações quanto o balanço entre eles, atividade enzimática e de receptores, relações hídricas ou ainda, pela combinação destes fatores.

O efeito do extrato é observado quando se aumenta a concentração, como o que ocorreu com o aumento das concentrações a partir de 50%, as aplicações dos extratos aquosos inibiram a germinação de plântulas normais nos dois métodos testados. Segundo HARPER; BALKE (1981), o grau de inibição proporcionado por um aleloquímico é dependente da sua concentração.

A redução da germinação também foi verificada por Teixeira et al. (2004) ao avaliarem o potencial alelopático de plantas de cobertura das espécies mucuna, crotalária e guandu, em que o percentual de germinação de sementes de alface reduziu 17,4% com a aplicação de extrato aquoso da parte aérea de *Crotalaria spectabilis* L. na concentração de 12%.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi afetado com o aumento das concentrações dos extratos (Tabela 4). A velocidade de germinação sofreu atraso significativo nas concentrações de 50% dos extratos, e nas concentrações de 75 e 100% não ocorreu.

Os resultados obtidos no IVG foram semelhantes aos da germinação, o que indica que a aplicação de maiores concentrações dos extratos provoca a diminuição do vigor das sementes, pois segundo Ferreira e Borghetti (2004), quanto maior o IVG maior o vigor.

Em estudos alelopáticos, muitas vezes, o que se observa são efeitos significativos da aplicação de extratos sobre a velocidade de germinação e nenhuma diferença na germinabilidade em relação ao controle (FERREIRA; ÁQUILA, 2000; CARMO et al., 2007; SARTOR et al., 2009); entretanto, verificou-se que a aplicação dos extratos reduziu significativamente tanto a velocidade, quanto a germinação das sementes de manjerição.

As alterações no processo de germinação da semente estão interligadas ao fluxo de água para o interior das células, que podem carregar consigo algumas substâncias alelopáticas, e impedir ou retardar a divisão ou crescimento das células, resultando em um atraso na germinação (GONZALEZ et al., 2002). Para a cultura, a velocidade de germinação é um fator que afeta na formação do estande e atraso na colheita.

Povh et al. (2007) obtiveram resultados semelhantes com extratos aquosos de folhas de *Machaerium acutifolium* Vog. (Fabaceae) sobre alface, em que observaram a redução da porcentagem e velocidade de germinação com o aumento da concentração e inibida sob concentrações de 100%.

De acordo com Politycka e Gmerek (2008), a modificação no processo de germinação que ocorre na presença de extratos vegetais normalmente é devido à presença de compostos fenólicos, que causam inibição da síntese de ácido giberélico e ou atividade da enzima α -amilase, por interferirem no sistema enzimático hidrolítico e de mobilização de reservas da semente.

No decorrer das avaliações, observou-se plântulas com características de anormalidade da parte aérea, e principalmente do sistema radicular. As raízes primárias apresentaram atrofiadas e defeituosas, oxidadas e escurecidas, e em alguns casos, praticamente ausentes. Segundo Ferreira e Aquila

(2000), a avaliação da anormalidade das plântulas é instrumento valioso em experimentos de alelopatia e a necrose da raiz considerada sintoma comum.

Para a variável plântulas anormais (PA) houve interação entre os métodos de extração e as cinco concentrações dos extratos (Tabela 4). O método por infusão apresentou maior percentual de PA em relação à maceração. O aumento foi crescente a partir da concentração de 50% e chegou a 91% de PA com a aplicação do extrato concentrado (100%). No método de extração por maceração, a presença de PA também foi detectada nas maiores concentrações (75 e 100%), entretanto, de forma menos acentuada, com no máximo 47% de PA na maior concentração.

As mesmas características de anormalidade foram observadas por Carvalho et al. (2014) ao avaliarem o efeito alelopático do extrato aquoso de crotalária, feijão-de-porco, guandu anão, aveia preta, sorgo e milho na germinação e crescimento inicial de sementes de alface, observaram aumento do percentual de plântulas anormais com o acréscimo das concentrações dos extratos.

Anormalidades em plântulas de alface foram também observadas por Nery (2008) ao estudar o efeito alelopático do extrato de nabo forrageiro, onde 87% das plantas analisadas apresentaram hipocótilo de tamanho reduzido e raízes oxidadas e escurecidas.

O comprimento da parte aérea (CPA) das plântulas de manjeriço foi influenciado pelas diferentes concentrações e métodos de preparo dos extratos (Tabela 4). Comparados ao controle, o método de extração por maceração apresentou aumento do comprimento do hipocótilo de 0,4 cm nas concentrações de 25 e 50%, com médias acima das detectadas para o método de infusão, que apresentou aumento de 0,2 cm na concentração de 25%. Em ambos os métodos não houve plântulas normais para avaliação do CPAG nas maiores concentrações (75 e 100%).

Segundo Gatti et al. (2004), os efeitos dos compostos alelopáticos se relacionam aos processos fisiológicos da planta receptora, e de maneira geral, agem como inibidores da germinação e do crescimento, entretanto a maior parte que são inibitórios em alguma concentração, podem também ser estimulantes quando presentes em menores concentrações. Ou seja, a ação das substâncias aleloquímicas não é muito específica, podendo a mesma substância desempenhar

várias funções, dependendo de sua concentração e composição química presente no tipo de extrato utilizado (CATTELAN et al., 2007).

O crescimento inicial das plântulas, que é caracterizado por alto metabolismo e sensibilidade ao estresse ambiental, é mais sensível que a germinação, pois para cada semente o fenômeno é discreto, germinando ou não (FERREIRA; AQUILA, 2000). Segundo Hong et al. (2004), o crescimento maior das plântulas em menores concentrações de extratos pode ser um mecanismo de proteção.

Geralmente, os compostos com atividade alelopática atuam como inibidores de crescimento (EINHELLIG, 1999; FERREIRA; ÁQUILA, 2000), porém, alguns trabalhos demonstram que extratos vegetais podem conter substâncias estimulantes de germinação e de crescimento de plântulas (RICE, 1984; LIN et al., 2004). Os estudos de Ghayal et al. (2007) com extratos de folhas de *Cassia uniflora* L. observaram estímulo na germinação e no crescimento inicial de plântulas de mostarda e rabanete nas concentrações de 2,5% e 5% e inibição nas concentrações de 15% e 20%.

Segundo Pires e Oliveira (2001), o grau de inibição proporcionado por um aleloquímico é dependente do limite de resposta da espécie receptora, o qual não é constante e está relacionado à sua sensibilidade, e a concentração, ao passo que, em baixas concentrações, os aleloquímicos podem não ser inibitórios ou até mesmo apresentar efeitos estimulatórios.

Diferente do hipocótilo, o comprimento radicular apresentou redução com a aplicação dos extratos (Tabela 4). Houve efeito significativo dos métodos de extração e das concentrações testadas. Os menores comprimentos de raiz (CR) foram observados na concentração de 25% do extrato por infusão e 50% no método por maceração. Nas concentrações de 75 e 100% não foram detectadas a presença de plântulas normais.

As substâncias presentes nos extratos promoveram a redução e/ou inibição do crescimento inicial das plântulas e alterações no aspecto morfológico, porém, o crescimento inicial da parte aérea na presença dos extratos aquosos apresentou menor sensibilidade quando comparado ao crescimento inicial do sistema radicular.

Essa resposta diferente da parte aérea sobre a parte radicular com a aplicação dos extratos é ocasionada pelas estruturas particulares de cada órgão (DE

CONTI; FRANCO, 2011), sendo que o sistema radicular é o mais sensível à ação de aleloquímicos, porque o seu alongamento depende das divisões celulares que, se inibidas, comprometem o seu desenvolvimento normal (HOFFMANN et al., 2007).

Segundo Chon et al. (2000), em geral, as raízes são mais sensíveis às substâncias presentes nos extratos. Isso se deve ao fato de estarem em contato direto e prolongado com o extrato, em relação às demais estruturas. E neste estágio de desenvolvimento, os efeitos deletérios sobre o metabolismo são mais drásticos, uma vez que ele é o alvo primário dos metabólitos secundários, aliado ao alto metabolismo radicular e sensibilidade ao estresse ambiental (CRUZ-ORTEGA et al., 1998; CHUNG et al., 2001), podendo ser também, um reflexo da fisiologia distinta entre as estruturas (AQUILA; UNGARETTI; MICHELIN, 1999).

Alterações na fase da germinação podem originar plântulas com dificuldade de crescimento normal (CENTENARO et al., 2009), o que ocorreu durante o processo de formação e emissão da radícula das plântulas de manjerição.

No processo de germinação, o efeito alelopático é menos expressivo em relação ao crescimento inicial de plântulas, por depender apenas das reservas da própria semente (BORELLA; PASTORINI, 2009; MURAKAMI et al., 2009). Entretanto, no presente estudo foi verificada a sensibilidade da espécie testada, tanto na germinação, quanto no crescimento inicial.

Houve diferença entre as concentrações dos extratos aplicadas sobre o peso de massa seca total (MST) de plântulas na germinação (Tabela 4). Os tratamentos com 25 e 50% de diluição apresentaram maior massa seca de plântulas em relação ao tratamento controle.

Tabela 4 - Percentual de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), percentual de plântulas anormais (%PA), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois métodos de extração, infusão (I) e maceração (M), e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.

Concentração %	G %		IVG -		PA %		CPA --cm--		CR -cm-		MST --g--	
	I	M	I	M	I	M	I	M	I	M	I	M
0	93 a	93 a	9,05 a	9,05 a	0 Ad	0 Ac	1,80 Ab	1,80 Ab	2,10 Aa	2,10 Aa	0,0149 Ab	0,0149 Ab
25	92 a	94 a	8,75 a	9,34 a	0 Ad	0 Ac	2,04 Ba	2,25 Aa	1,07 Bc	1,45 Ab	0,0173 Aa	0,0167 Aa
50	80 b	84 b	7,84 b	8,30 b	8 Ac	2 Bc	1,73 Bb	2,20 Aa	1,49 Ab	1,30 Bb	0,0163 Aa	0,0173 Aa
75	0 c	0 c	0 c	0 c	62 Ab	37 Bb	0 Ac	0 Ac	0 Ad	0 Ac	0 Ac	0 Ac
100	0 c	0 c	0 c	0 c	91 Aa	47 Ba	0 Ac	0 Ac	0 Ad	0 Ac	0 Ac	0 Ac
CV (%)	7,92		7,13		8,13		9,50		13,32		5,83	

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha, para cada método de extração, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.5.2 Bioensaio em Casa de Vegetação

A aplicação dos extratos aquosos de crotalária sobre substrato em casa de vegetação provocou alterações significativas na emergência de plântulas de manjeriço (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise de variância das variáveis: percentual de emergência (PE), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois tipos de extração (maceração e infusão) e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.

FV	GL	E	IVE	CPA	CR	MST
	-	%	-	cm	cm	g
Extração (Ext.)	1	211,6**	0,327**	0,092 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,184 ^{ns}
Concentração (Conc.)	4	321,34**	2,836**	12,39**	5,41**	0,029*
Ext.*Conc.	4	39,16**	0,074**	0,29 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,012**
CV (%)		4,15	5,68	8,08	10,16	16,6

**efeito altamente significativo ($p \leq 0,01$); *efeito significativo ($p \leq 0,05$); ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$); FV = fonte de variação; GL= grau de liberdade, CV % = coeficiente de variação.

O método de preparo por infusão reduziu o percentual médio de plântulas emergidas nas concentrações de 75 e 100%, com redução de 16 e 18%, respectivamente (Tabela 6). Comparados ao tratamento controle, tanto o método por infusão quanto por maceração, redução do percentual de emergência foi maior nas concentrações de 75 e 100%. Não se observou a presença de plântulas anormais na avaliação da emergência.

Houve diferença significativa no índice de velocidade de emergência (IVE) com a aplicação dos extratos nas diferentes diluições (Tabela 6). A velocidade de emergência foi mais lenta na infusão do que na maceração. Na infusão o IVE diferenciou-se significativamente do tratamento controle, com redução da velocidade a partir da concentração de 50%, mais expressivamente em 75 e 100%. Na maceração o atraso na emergência ocorreu nos tratamentos mais concentrados do extrato (75 e 100%).

As concentrações dos extratos reduziram o comprimento de parte aérea (CPA) das plântulas de manjeriço (Tabela 6). Entretanto, não houve diferença entre os métodos de preparo estudados. A ação dos efeitos inibitórios

ocorreu com a aplicação dos extratos utilizados em maiores concentrações, com redução de 1,59 e 3,15 cm para os tratamentos 75 e 100%, respectivamente, comparados ao controle.

Não foi verificado aumento do hipocótilo como no teste de germinação em laboratório, no entanto, os tratamentos com as concentrações de 25 e 50% apresentaram médias semelhantes e não diferenciaram significativamente do tratamento controle.

O aumento das concentrações reduziu o comprimento radicular (CR) na emergência de manjeriço (Tabela 6). Não houve influência do tipo de método utilizado, apenas das concentrações de diluição.

Observa-se que os comprimentos das raízes das plântulas apresentaram redução em todos os tratamentos com o aumento das concentrações, e queda acentuada nos tratamentos com 75 e 100% do extrato.

Assim como ocorreu no bioensaio em laboratório, houve maior efeito dos extratos estudados na redução do sistema radicular do que da parte aérea das plântulas de manjeriço, fato também verificado visualmente. De acordo com Carvalho et al. (2014), isso provavelmente se deve à utilização pelas plântulas da reserva nutricional das sementes, havendo a translocação desses componentes nutritivos para o hipocótilo.

A massa seca total (MST) das plântulas foi afetada pela aplicação do extrato (Tabela 6). Houve diferença significativa entre os métodos de preparo e as concentrações avaliadas. Na comparação entre os métodos, a infusão diferenciou-se com redução do peso na maior concentração (100%), em relação à maceração, em que a redução foi significativa na concentração de 75%.

Entre as concentrações testadas, observou-se que as diferenças se tornaram mais acentuadas com o aumento da concentração, com queda do peso de MST nos tratamentos 75 e 100%, em ambos os métodos.

A aplicação dos extratos nas sementes de manjeriço apresentou comportamento distinto com efeitos prejudiciais acentuados nos bioensaios laboratoriais. Isso ocorre, pois, segundo Ferreira e Áquila (2000), os efeitos dos aleloquímicos sobre o crescimento da plântula, são, em geral, muito mais drásticos através do contato direto das sementes com o substrato papel de filtro em relação ao solo. Para o autor, o contato facilita a absorção e a atividade dos compostos devido

ao alto metabolismo e estresse em que a plântula se encontra durante sua fase inicial de desenvolvimento, afetando diretamente a divisão celular.

Segundo Inderjit e Dakshini (1999), ao utilizar o solo como substrato, as forças de adsorção das micelas exercem papel importante, como sequestro dos possíveis aleloquímicos. Em solos arenosos, por exemplo, há menor absorção que em solos argilosos e, neste caso, os aleloquímicos liberados são mais efetivos por ficarem livres na fase aquosa do solo (DAKSHINI et al., 1999).

De acordo com Pires e Oliveira (2011), ao serem liberados no solo, ocorre transformação dos aleloquímicos por ação microbiana, podendo tornar esses compostos inertes ou mais eficazes como fitotoxinas. Além da ação dos microrganismos, os aleloquímicos sofrem influência da temperatura, da textura e composição do solo.

Segundo Swain (1977), o estudo da alelopatia em ambientes naturais encontra dificuldades para explicação dos resultados, pois, para que o efeito alelopático ocorra as substâncias têm de estar acumuladas no solo numa quantidade suficiente e ter estabilidade por tempo necessário para exercer sua ação. De acordo com Weidenhamer et al. (1989), outro fator que pode influenciar a atividade de um composto químico é a densidade de plantas presente na área, pois, os efeitos são atenuados devido a divisão dos compostos fitotóxicos que ocorre entre as plantas na comunidade vegetal.

Além da interferência do meio ambiente, a resposta ao aleloquímico é dependente também da espécie testada. Em experimentos *in vitro* é visível que os extratos promovam redução e/ou inibição no crescimento de outra planta, mas demonstrar que esses compostos estejam presentes no solo em quantidades suficientes para inibir o crescimento de outras plantas envolve tanto efeitos intrínsecos como extrínsecos da planta-alvo (SILVA et al., 2006; BARBOSA et al., 2008; PEREIRA et al., 2008).

Por se tratar do substrato solo, este apresenta em sua composição condições favoráveis ao desenvolvimento das plântulas, como nutrientes, (FERREIRA; BORGUETI, 2004). Além disso, o menor efeito inibitório observado pode estar relacionado à presença de microrganismos, uma vez que o solo não foi esterilizado.

Nos bioensaios realizados em laboratório e casa de vegetação para avaliação do efeito dos extratos, observou-se que as maiores concentrações (75 e

100%) apresentaram efeito alelopático que reduziu a germinação e o crescimento inicial de plântulas de manjeriço.

Entre os métodos de extração, a infusão demonstrou efeitos inibitórios sobre a germinação e o crescimento inicial, indicando que a maior temperatura utilizada neste procedimento tenha favorecido a diluição dos compostos na água, pois segundo Watanabe et al. (2006), as temperaturas elevadas frequentemente favorecem a solubilidade dos compostos no solvente.

Fatores como a polaridade dos solventes, assim como temperatura e agitação, utilizados no preparo dos extratos, podem influenciar na extração das substâncias bioativas dos vegetais (ANDREO; JORGE, 2006), de forma que extratos preparados a partir de diferentes formas ou solventes, mesmo sendo da mesma espécie vegetal, podem apresentar atividade alelopática diferente.

Além disso, o potencial diferenciado entre as formas de extração na redução da germinação e crescimento inicial pode estar relacionado ao fato de que os compostos vegetais são instáveis e não se distribuem de forma homogênea (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Tabela 6 - Percentual de emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR), e massa seca total de plântulas (MST) de manjeriço submetidas a dois métodos de extração, infusão (I) e maceração (M), e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) de extratos de crotalária. Londrina, 2016.

Concentração %	E %		IVE -		CPA --cm--		CR -cm-		MST --g--	
	I	M	I	M	I	M	I	M	I	M
0	95 Aa	95 Aa	2,92 Aa	2,92 Aa	8,39 a	8,39 a	6,49 a	6,49 a	0,2814 Aa	0,2814 Aa
25	91 Aa	95 Aa	2,79 Aa	2,90 Aa	8,19 a	7,59 a	6,16 b	5,83 b	0,2518 Ab	0,2523 Aa
50	90 Aa	91 Aa	2,41 Bb	2,79 Aa	8,00 a	7,63 a	5,58 b	5,37 b	0,2494 Ab	0,2427 Ab
75	79 Bb	90 Ab	1,62 Bc	2,02 Ab	7,12 b	6,48 b	4,79 c	4,74 c	0,2155 Ac	0,1855 Bc
100	77 Bb	83 Ab	1,65 Ac	1,63 Ac	5,16 c	5,33 c	4,50 c	4,56 c	0,1064 Bd	0,1456 Ad
CV (%)	4,15		5,68		8,08		10,16		6,50	

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas na linha, para cada método de extração, não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.5.3 Identificação e Quantificação por HPLC

As amostras do extrato de crotalária foram analisadas em HPLC para identificação dos compostos secundários com características alopáticas, e seus picos submetidos à comparação dos tempos de retenção com a ajuda de padrões de compostos conhecidos (Figura 2).

Além dos tempos de retenção utilizados na comparação entre amostra e padrão, as análises foram realizadas também em diferentes comprimentos de onda na região do ultravioleta-visível, o que proporcionou a seletividade entre compostos com proximidade dos tempos de retenção.

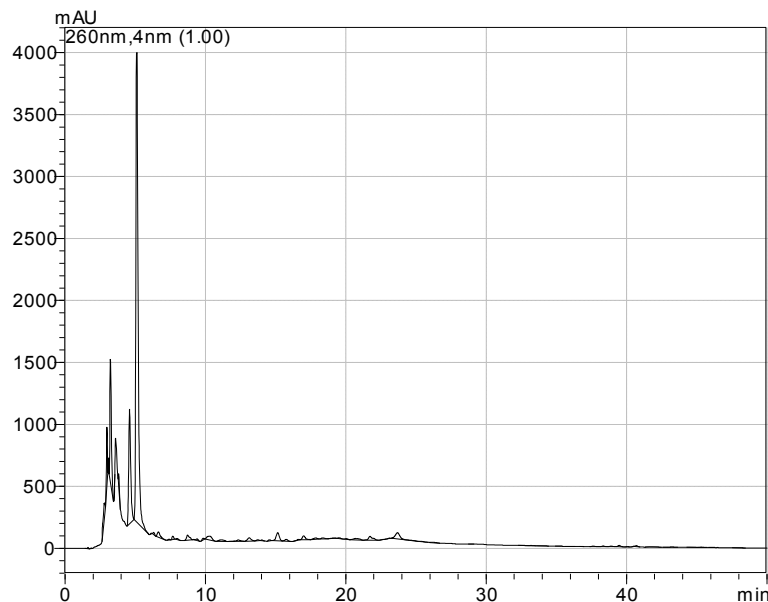


Figura 2 - Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de *Crotalaria juncea* L. em HPLC. Londrina, 2016.

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência do extrato de *Crotalaria juncea* identificou a presença de três compostos fenólicos distintos: ácido gálico ($t^R = 3,81$ min), ácido ferúlico ($t^R = 14,53$ min) e ácido cinâmico ($t^R = 23,30$ min). Em relação à quantificação, o ácido gálico foi o composto majoritário ($20,63 \mu\text{g g}$), seguido pelo ácido ferúlico ($10,74 \mu\text{g g}$) e ácido cinâmico ($1,36 \mu\text{g g}$). Nas figuras 3, 4 e 5 estão os perfis cromatográficos com os tempos de retenção de cada composto e a comparação com os devidos padrões de identificação.

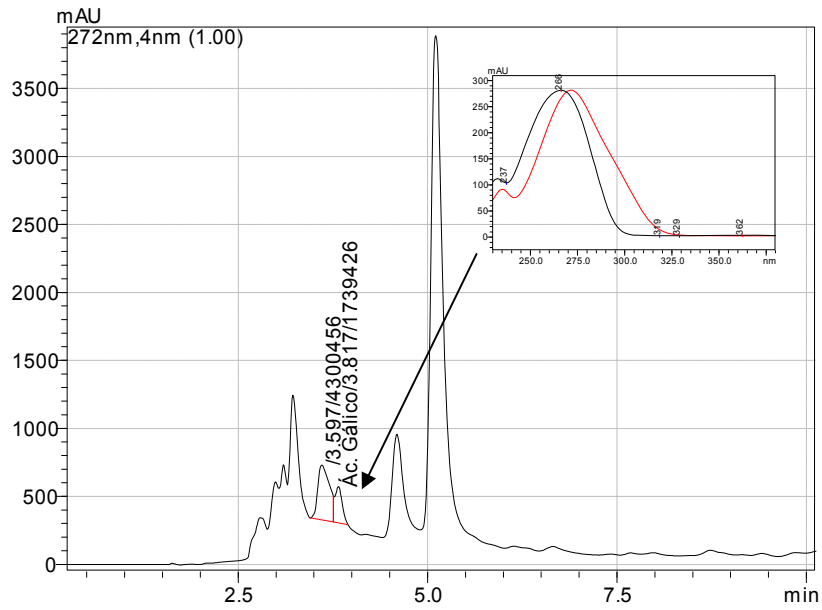


Figura 3 - Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de *Crotalaria juncea* L. em HPLC com tempo de retenção para o ácido gálico e seu padrão. Londrina, 2016.

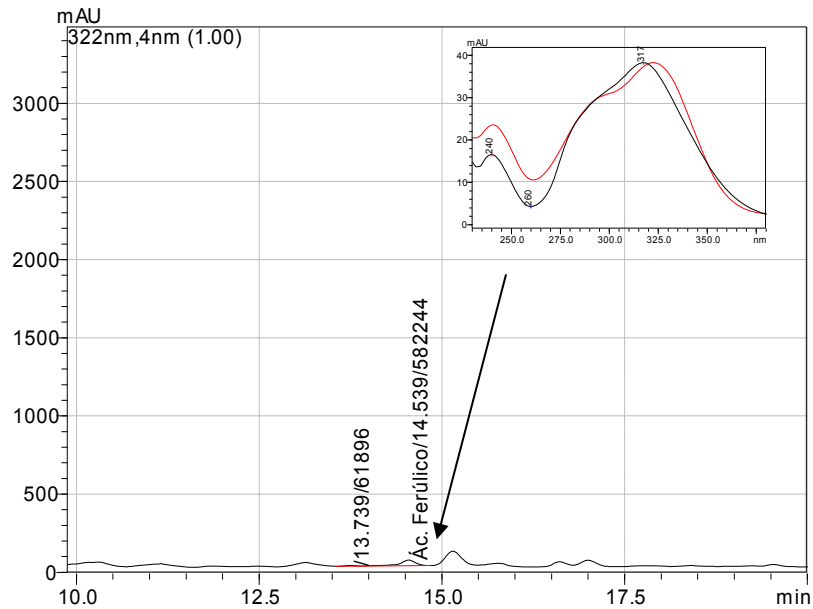


Figura 4 - Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de *Crotalaria juncea* L. em HPLC com tempo de retenção para o ácido ferúlico e seu padrão. Londrina, 2016.

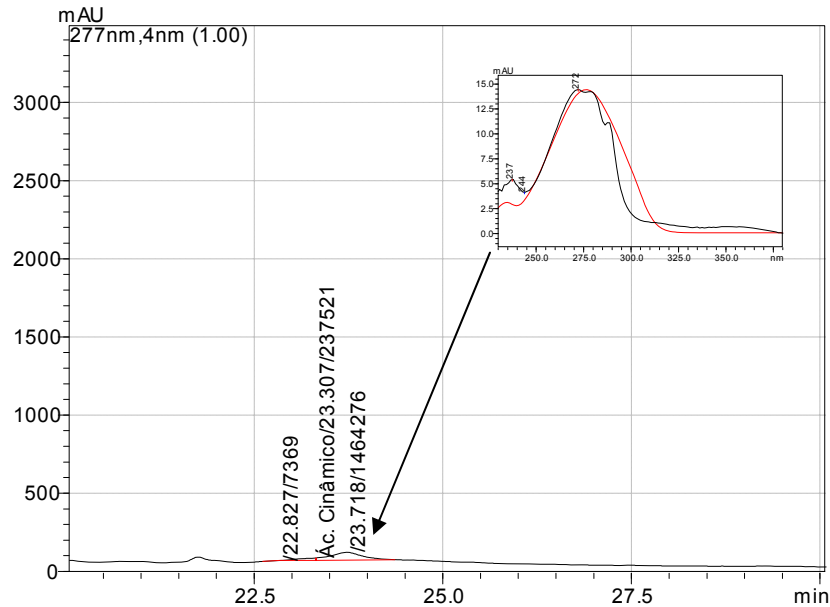


Figura 5 - Perfil cromatográfico representativo do extrato aquoso de *Crotalaria juncea* L. em HPLC com tempo de retenção para o ácido cinâmico e seu padrão. Londrina, 2016.

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza e fazem parte dos constituintes dos vegetais. Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos ou produtos do metabolismo secundário. Normalmente são responsáveis pelas reações de defesa das plantas contra agressões e podem atuar como inibidores em processos de desenvolvimento. Em nível celular, influenciam o metabolismo de lipídios e o mecanismo bioquímico da respiração, inibindo o transporte de glicose e a síntese de celulose (HARBORNE, 1988).

Nas plantas os compostos fenólicos exercem a proteção contra raios ultravioleta, insetos, vírus e bactérias e atração de polinizadores, possuem também ação antioxidante, agentes alelopáticos e inibição de enzimas (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2013). Além disso, compreendem o maior grupo de metabólicos que foram identificados como alelopáticos (CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007).

Segundo Taiz e Zeiger (2013), os compostos fenólicos vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, sendo que a maioria é solúvel em

água e ocorrem na forma de glicosídeos. Eles são originados pela via do ácido chiquímico e acumulam-se nos vacúolos das células vegetais.

As interações de plantas com seu ambiente são em grande parte influenciadas pelos compostos fenólicos, os quais são os principais compostos alelopáticos que inibem a germinação de sementes, o crescimento de plantas e outros processos fisiológicos (HARBORNE, 1993). Ácidos fenólicos, tais como ácido clorogênico, ácido ferúlico e ácido p-anísico foram encontrados por Mendonça (2008) em sementes de feijão-de-porco, causando efeito fitotóxico no desenvolvimento de plântulas de trapoeraba e corda-de-viola.

Para Oliveira et al. (2012), o ácido gálico presente em extratos de folhas e cascas de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul.) é considerado possível componente alelopático sobre o desenvolvimento de plântulas de alface, onde a partir desse composto foi evidenciando o aparecimento de plântulas anormais e redução do comprimento da parte aérea e da raiz. Souza Filho et al. (2006) mostraram que o efeito do potencial alelopático do ácido gálico sobre a germinação de sementes da planta daninha *Mimosa pudica* L., tem efeito significativo na germinação, com 71% de inibição. Segundo Moraes et al. (2006), o ácido gálico é descrito como um importante redutor da germinação de um grande número de plantas.

Segundo Souto et al. (1994), restos culturais de *Quercus robur* L., *Pinus radiata* D. Don, *Eucalyptus globulus* Labill e *Acacia melanoxylon* R.Br. geravam inibição de crescimento e desenvolvimento de alface e o efeito alelopático era devido principalmente a compostos fenólicos. Inderjit et al. (1999) observaram que a atividade alelopática de compostos fenólicos presentes em extratos de *Verbesina encelioides* (Cav.) Benth e Hook, dependente da concentração, pode promover ou inibir a germinação e o desenvolvimento de plântulas de rabanete.

Os efeitos observados sob as variáveis analisadas para germinação e crescimento inicial de plântulas submetidas à aplicação do extrato, assim como, a identificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida, indicam o efeito alelopático dos extratos de crotalária sobre sementes de manjeriço.

Como observado nos resultados, assim como em outras pesquisas, os vários processos utilizados para demonstrar que determinados extratos têm efeitos alelopáticos não provam mais do que a existência de aleloquímicos no material vegetal, não sendo possível inferir em que condições de campo esta se

manifesta. Os resultados aqui obtidos são indicativos de potencial alelopático da crotalária, entretanto, novos ensaios deverão ser conduzidos em campo com a implantação da cultura do manjericão sobre a palhada de crotalária cultivada na mesma área. Além de avaliar a persistência do material vegetal e sua interação química com o ambiente, novos testes em laboratório devem ser realizados, com o intuito de identificar outros constituintes químicos responsáveis pelos resultados descritos.

3.6 CONCLUSÃO

Os extratos aquosos de *Crotalaria juncea* L., preparados por maceração e infusão inibiram 100% a germinação e o crescimento inicial das plântulas de manjericão variedade Alfavaca Basilicão nas concentrações de 75 e 100%.

Foram identificados e quantificados três compostos fenólicos no extrato: ácido gálico (20,63 µg g), ácido ferúlico (10,74 µg g) e ácido cinâmico (1,36 µg g).

REFERÊNCIAS

- ABBOUD, A. C. S.; DUQUE, F. F. Efeitos de materiais orgânicos e vermiculita sobre a sequência feijão-milho-feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 227-236, 1986.
- AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, C; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M.L.S.; CASTRO, C. E. F. **Instruções Agrícolas para as Principais Culturas Econômicas**. Boletim. IAC Campinas, v. 7, n. 200, p. 452, 2014.
- AITA, C.; GIACOMINI S. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 601-612, 2003.
- ALMEIDA, F. S. de. **Controle de plantas daninhas em plantio direto**. Londrina: IAPAR, Londrina, 34p. 1991.
- AMABILE, R. F.; CARVALHO, A. M. Histórico da adubação verde. In: CARVALHO, A. M.; AMABILE, R. F. (Ed.). **Cerrado: adubação verde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.23-37, 2006.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: Técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- AQUILA, M. E. A. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 53, n. 23, p. 51-66, 2000.
- AQUILA, M. E. A., UNGARETTI, J. A. C., MICHELIN, A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline saturoides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 502, n. 1, p. 383-388, 1999.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. Ed. – Jaboticabal: Funep, 2006. 237 p.
- 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**, Curitiba, v. 51, n. 4, p. 825-831, 2008.
- BLANK, A. F.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS NETO, A. L.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p.113-116, 2004.
- BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z.; AMARANTE, L.; MORAES, D. M.; VILLELA, F. A. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikianium* (Kunth) Steudel. **Acta Botânica Brasília**, Porto Alegre, v. 26, n. 2, p. 415-420, 2012.

- BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 3, p. 67-75, 2009.
- BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 5, p. 1822-1828, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**, Brasília, 2009, p. 399.
- CALEGARI, A. Rotação de culturas e uso de plantas de cobertura. In: Adubos verdes: espécies, características, ações e vantagens, diferentes métodos, plano de rotação e correção orgânica de acidez no perfil do solo. **Agroecologia Hoje**, Botucatu, v. 2, n. 14, p. 12, 2002.
- CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E. A.; WILDER, L. D. O. P.; COSTA, M. B. B.; ALCÂNTARA, P. B.; MYASAKA, S.; AMADO, T. J. C. **Adubação verde no Brasil**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Assessoria de Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 1993.
- CARMO, F. M. S.; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. Allelopathy of Brazilian sassafras (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer) aqueous extracts. **Acta Botânica**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 697-705, 2007.
- CARNESECCHI, S.; SCHNEIDER, Y.; CERALINE, J.; DURANTON, B.; GOSSE, F.; SEILER, N.; RAUL, F. Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 298, n. 1, p. 197-200, 2001.
- CAROVIC-STANKO, K.; LIBER, Z.; JAVORNIK, B.; BOHANEC, B.; KOLAK, I.; SATANIC, Z. Genetic relations among basil taxa (*Ocimum* L.) based on molecular markers, nuclear DNA content, and chromosome number. **Plant Systematic Evolution**, v. 285, n. 1, p.13-22, 2010.
- CARVALHO, L. M.; CAMPOS, E. D. **Cultivo consorciado do manjeriço em sistema de produção orgânico**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. 7 p. (Comunicado Técnico 117).
- CARVALHO, M. A. C.; ATHAYDE, M. L. F.; SORATO, R. P.; ALVES, M. C.; A. R. F, O. Produtividade do milho em sucessão a adubos verdes no sistema de plantio direto e convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 39, n.1, p. 47-53, 2004.
- CARVALHO, W. P.; DE CARVALHO, G. J.; NETO, D. D. O. A.; TEIXEIRA, L. G. V. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, 2014.
- CATTELAN, LETÍCIA. V.; STEIN, VANESSA. C.; HEIDEN, G.; BUTTOW, M. V.; BOBROWSKI, V. L. Atividade alelopática de extratos aquosos de diferentes espécies

de *Plantago* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 210-212, 2007.

CENTENARO, C.; CORRÊA, L. G. P.; KARAS, M. J.; VIRTUOSO, S.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Contribuição ao estudo alelopático de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 304-308, 2009.

CERONI, M. El Cultivo moderno y rentable de las plantas aromáticas y medicinales. Barcelona: De Vecchi, 1989, p. 158.

CHON, S. U.; COUTTS, J. H.; NELSON, C. J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v. 92, n. 4, p. 715-720, 2000.

CHUNG, I. M.; AHN, J. K.; YUN, S. J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, n. 10, p. 921-928, 2001.

CIPRIANI, F. A.; KAPLAN, M. A. C.; ISAIAS, R. M. dos S.; SOARES, G. L. G. Avaliação da fitotoxidez de *Tecoma stans* (L.) Kunth. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 21, n. 1, 2014.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C. Emergência de plantas daninhas em solo coberto com palha de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 11-17, 2004.

CRUZ-ORTEGA, R.; ANAYA, A. L.; HERNÁNDEZBAUTISTA, B. E.; LAGUNA-HERNÁNDEZ, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 12, p. 2039-2057, 1998.

DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L., INDERJIT. Allelopathy: one component in a multifaceted approach to ecology. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. **Principles and practices in plant ecology.** Boca Raton: CRC Press, p. 3-14. 1999.

DE CONTI, D.; FRANCO, E. T. H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris* Sw. na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 2-4, p. 193-203, 2011.

DUCCA, F.; ZONETTI, P. C. Efeito alelopático do extrato aquoso de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) na germinação e desenvolvimento de soja (*Glycine max* L. Merrill). **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v. 1, n. 1, p. 101-110, 2007.

DURIGAN, J. C.; ALMEIDA, F. S. **Noções sobre a alelopatia.** Boletim Técnico. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 1993, 28 p.

EMBRAPA. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do abastecimento, 2013, 306p.

- EINHELLIG, F. A. Allelopathy: Current status and future goals. In: Allelopathy: Organisms, Processes and Applications, Inderjit, Dakshini, K. M. M. and Einhellig, F. A, Eds. **American Chemical Society**, Washington DC, USA, p. 01-24, 1995.
- EINHELLIG, F. A. An integrated view of allelochemicals amid multiple stresses. In: INDERJIT, K.M.M.; DAKSHINI & FOY, C.L. **Principles and Practices in Plant Ecology**. Boca Raton, CRC Press, p. 479-494, 1999.
- ERASMO, E. A. L.; AZEVEDO, W. R.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, A. M.; GARCIA, S. L. R. Potencial de espécies utilizadas como adubo verde no manejo integrado de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 337-342, 2004.
- FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5^a ed. Florianópolis: Editora da UFSC, p. 229-245, 2003.
- FAVORITO, P. A.; ECHER, M. M.; OFFEMANN, L. C.; SCHLINDWEIN, M. D.; COLOMBARE, L. F.; SCHINEIDER, R. P.; HACHMANN, T. L. Características produtivas do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função do espaçamento entre plantas e entre linhas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n.1, p. 582-586, 2011.
- FERNANDES, P. C.; FACANALI, R.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; MARQUES, M. O. M. Cultivo de manjeriço em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 260-264, 2004.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Artmed, Porto Alegre, 2004, p. 323.
- FERREIRA, N. R.; MEDEIROS, R. B.; SOARES, G. L. G. Potencial alelopático do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 43-59, 2008.
- FONTES, P. C. R. Preparo do solo para plantio de hortaliças. IN: FONTES, P. C. R. **Olericultura: Teoria e prática**. Viçosa, p. 79-91, 2005.
- FORMENTINI, E. A.; LÓSS, F. R.; BAYERL, M. P.; LOVATI, R. D.; BAPTISTI, E. **Cartilha sobre adubação verde e compostagem**. Vitória: Incaper, p. 27, 2008.
- FREITAS, G. B.; PERIN, A.; SANTOS, R. H. S.; BARELLA, T. P.; DINZ, E. R. **Trabalhador na olericultura básica: adubação verde**. Brasília: SENAR, p. 91. (Coleção SENAR 71), 2003.

GARRIDO, M. S.; SOARES, A. C. F.; COIMBRA, J. L.; SOUSA, C. S. Manejo da crotalaria e do guandu no controle de nematoses do inhame. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 3, p. 222-227, 2008.

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

GHAYAL, N. A.; DHUMAL, K. N.; DESHPANDE, N. R. Phytotoxic effects of Cassia uniflora leaf leachates on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus*) and mustard (*Brassica juncea*). **Allelopathy Journal**, v. 19, n. 2, p. 361-372, 2007.

GOMES, F. M.; FORTES, A. M. T.; SILVA, J.; BONAMIGO, T.; PINTO, T. T. Efeito alelopático da fitomassa de *Lupinus angustifolius* (L.) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *Zea mays* (L.) e *Bidens pilosa* (L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Pelotas, v. 8, n. 1, p. 48-56, 2013.

GONZALEZ, H. R.; MEDEROS, D. M.; SOSA, I. H. et al. Efectos alelopáticos de restos de diferentes espécies de plantas medicinales sobre la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) em condiciones de laboratório. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, v. 7, n. 2, p. 67-72, 2002.

HAGEMANN, T. R.; BENIN, G.; LEMES, C.; MARCHESI, J. A.; MARTIN, T. N.; PAGLIOSA, E. S.; BECHE, E. Potencial alelopático de extratos aquosos foliares de aveia sobre azevém e amendoim bravo. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 509-518, 2010.

HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 3.Ed. London: Academic Press, 1988, p. 387.

HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4. Ed. London: Academic Press, 1993. 318p.

HARPER, J. R.; BALKE, N. E. Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oat roots by salicylic acid. **Plant Physiology**, New York, v. 8, n. 6, p. 1349-1353, 1981.

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

HONG, N. H.; XUAN, T. D.; EIJI, T.; KHANH, T. D. Paddy weed control by higher plants from Southeast Asia. **Crop Protection**, v. 23, n. 3, p. 255-261, 2004.

INDERJIT; ASAKAWA, C.; DAKSHINI, K. M. M. Allelopathic potential of *Verbesina encelioides* root leachate in soil. **Canadian Journal of Botany**, Quebec, v. 77, n. 10, p. 1419-1424, 1999.

INDERJI; DUKE, S. O. **Ecophysiological aspects of allelopathy**. *Planta* 217, p. 529-539, 2003.

LIN, D. Z.; DONG, Y. J.; TSUZUKI, E.; SUGIMOTO, Y.; DONG, Y. J.; MATSUO, T. H. Allelopathic effects of aqueous *Aloe vera* leaf extracts on selected crops. **Allelopathy Journal**, v. 13, n. 1, p. 67-74, 2004.

MACIAS, F. A.; VARELA, R. M.; TORRES, A.; OLIVA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G. Bioactive norsesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potencial allelopathic activity. **Phytochemistry**, v. 48, n. 4, p. 631-636, 1998.

MADEIRA, N. R. **Sistema de Plantio Direto em Hortaliças (SPDH)**. 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/buscadenoticias/-/noticia/2251611/sistema-de-plantio-direto-em-hortalicas-spdh>>. Acesso em: 12. Dez. 2016.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n. 2, p.176-177, 1962.

MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005. 329p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós – Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2005.

MALASHETTY, V. B.; SANGAMMA, I.; SHARANABASAPPA, A.; PATIL, S. B. Effect of *Crotalaria juncea* seed extracts on the estrous cycle and ovarian activity in albino mice. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 4, n. 2, p. 77-81. 2004.

MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B.(Ed). **Plantas medicinais: sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, p. 503-521, 2001.

MAROTTI, M.; PICCAGLIA, R.; GIOVANELLI, E. Differences in essential oil composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) italian cultivars related to morfological characteristics. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 3926-3929, 1996.

MARSHALL, A. J.; GALLAHER, R. N.; WANG, K. H.; MCSORLEY, R. Partitioning of dry matter and minerals in sunn hemp. In: SANTEN, E. van (Ed.). Making conservation tillage conventional: **Building a future on 25 years of research**. Alabama: Alabama Agriculture Experimental Station, p. 310-313, 2002.

MARTINS, A. G. L. A.; NASCIMENTO, A. R.; FILHO, J. E. M.; FILHO, N. E. M.; SOUZA, A. G.; ARAGÃO, N. E.; SILVA, D. S. V. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjericão frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaves. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, p. 1791-1796, 2010.

MEDEIROS, A. R. **Determinação de potencialidades alelopáticas em agroecossistemas**. 1989, 92 fls. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MEDEIROS, A. R. M.; CASTRO, L. A. S.; LUCCHESI, A. A. Efeitos alelopáticos de algumas leguminosas e gramíneas sobre a flora invasora. Piracicaba: ESALQ. **Anais...** ESALQ, v. 47, n. 1, p. 1-10, 1990.

MENDONÇA, R. L. **Determinação de aleloquímicos por HPLC/ UV-Vis em extratos aquosos de sementes de *Canavalia ensiformis* e estudo da atividade alelopática.** 2008, 116 fls. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade de São Paulo, São Carlos.

MIELE, M.; DONDERO, R.; CIARALLO, G.; MAZZEI, M. Methyleugenol in *Ocimum basilicum* L. Cv. Genovese Gigante. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 517-521, 2001.

MIRÓ, C. P.; FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 8, p. 1261-1270, 1998.

MONQUERO, P. A., AMARAL, L. R., INÁCIO, E. M., BRUNHARA, J. P., BINHA, D. P., SILVA, P. V., SILVA, A. C. Efeito de adubos verdes na supressão de espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 85-95, 2009.

MORAES, S. R. G.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; FONTANETTI, A.; CARVALHO, G. J.; MAXIMINIANO, C. Influência de leguminosas no controle de fitonematoides em cultivo orgânico de alface americana e repolho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 188-191, 2006.

MURAKAMI, C.; CARDOSO, F. L.; MAYWORM, M. A. S. Potencial fitotóxico de extratos foliares de *Aloe arborescens* Miller (Asphodelaceae) produzidos em diferentes épocas do ano. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 23, n. 1, p. 111-117, 2009.

NERY, M. C. **Germinação e potencial alelopático de *Raphanus sativus* L. var. oleiferus.** 2008, 116 fls. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NEVES, R. **Avaliação do potencial alelopático da canola sobre picão-preto e soja.** 2005, 56 fls. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo.

NORSWORTHY, J. K.; MEEHAN, J. T. Use of isothiocyanates for suppression of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*), pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*), and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*). **Weed Science**, v. 53, n. 6, p. 884-890, 2005.

NUNES, U. R.; ANDRADE JÚNIOR, V. C. A.; SILVA, E. B.; SANTOS, N. F.; COSTA, H. A. O.; FERREIRA, C. A. Produção de palhada de plantas de cobertura e rendimento do feijão em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 943-948, 2006.

- OLIVEIRA, A. K.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S. M.; DIÓGENES, F. E. P. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia ferreana* germinação de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1397-1403, 2012.
- ÖZCAN, M.; CHALCHAT, J. C. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. **Journal of Food Science**, Czechoslovakian, Turkey, v. 20, n. 6, p. 223-228, 2002.
- PADOVAN, M. P.; ALMEIDA, D. L.; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. L. D.; NDIAYE, A. Avaliação de cultivares de soja, sob manejo orgânico, para fins de adubação verde e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 1705-1710, 2002.
- PEANNA, A. T.; D'AQUILA, P. S., PANIN, F., SERRA, G., PIPPIA, P.; MORETTI, M. D. L. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, v. 9, n. 8, p. 721-726, 2002.
- PEREIRA, B. F., SBRISSIA, A. F.; SERRAT, B. M. Alelopatia intra-específica de extratos aquosos de folhas e raízes de alfafa na germinação e no crescimento inicial de plântulas de dois materiais de alfafa: crioulo e melhorado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 561-564, 2008.
- PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, cap. 5, p. 145-185, 2001.
- PITELLI, R. A.; DURIGAN, J. C. Ecologia das plantas daninhas no sistema plantio direto. In: ROSSELLO, R. D. **Siembra directa en el cono sur**. Montevideo: PROCISUR, p. 203-210, 2001.
- PITELLI, R. A.; PITELLI, R. L.C. M. Biologia e ecofisiologia das plantas daninhas. In: VARGAS, L.; ROMAM, E. S. (Eds.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 29-56, 2004.
- POLITYCKA, B; GMEREK, J. Effect of ferulic and p-coumaric acidson the scivity of hydrolytic enzymes and growth of radicals in germinating seeds of cucumber and pea. **Allelopathy Journal**, v. 21, n. 2, p. 227-238, 2008.
- POVH, J. A.; PINTO, D. D.; CORREA, M. O. G.; ONO, E. O. Atividade alelopática de *Machaerium acutifolium* Vog na germinação de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 447-449, 2007.
- RAMOS, M. R.; FAVARETTO, N.; UHLMANN, U.; DIECKOW, J.; VEZZANI, F.; ALMEIDA, L. Produção de hortaliças no sistema orgânico: efeito nos atributos físicos do solo. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 58, n. 1, p. 45-51, 2015.
- REIGOSA, M.; GOMES, A. S.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 27, n. 4, p. 629-646, 2013.

R Development Core Team, R: **A Language and Environment for Statistical Computing**, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2.Ed. New York: Academic, 1984, p. 422.

RIZVI, S. J. H.; HAQUE, H.; SING, V. K.; RIZVI, V. A discipline called allelopathy. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. **Allelopathy. Basic and applied aspects**. Chapman and Hall Editors, London, p. 1-10, 1992.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Anti-inflammatory and Antinociceptive Effects of 1.8-Cineole a Terpenoid Oxide Present in many Plant Essential Oils. **Phytotherapy Research**, v. 14, n. 4, p. 240-244, 2000.

SANTOS, J. E.; LUZ, J. M. Q.; FURLANI, P. R.; MARTINS, S. T.; HABER, L. L.; LANA, R. M. Q. Cultivo da alfavaca em sistema hidropônico sob diferentes concentrações de solução nutritiva. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 2, p. 21-24, 2005.

SARTOR, L. R.; ADAMI, P. F.; CHINI, N.; MARTIN, T. N.; MARCHESI, J. A.; SOARES, A. B. Alelopatia 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.

SAXENA, A.; SINGH, D. V.; JOSHI, N. L. Allelopathy in agroecosystems. **Field Crop Abstracts**, v. 49, n. 1, p. 891-899, 1996.

SCRIVANTI, L. R.; ZUNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A. Tagetes minuta and Schinus areira essential oils as allelopathic agents. **Biochemical systematics and ecology**, v. 31, n. 6, p. 563-572, 2003.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete sample). **Biometrika**, Great Britain, v. 52, n. 3, p. 591-611, 1965.

SILVA, F.; SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N. J.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R.; PASSARINHO, R. V. M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 4, p. 323-328, 2005.

SILVA, G. B.; MARTIM, L.; SILVA, C. L.; YOUNG, M. C. M.; LADEIRA, A. M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do cerrado. **Hoehnea**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 331-338, 2006.

SIMÕES, M. S.; MADAIL, R. H.; BARBOSA, S.; NOGUEIRA, M. de L. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 26, n. 3, p. 29-36, 2013.

SIMON, J. E. West Lafayette: Purdue University, p. 6, 1995. SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, Oxford, v. 52, p. 591-611, 1965.

SOARES, G. L. G.; SCALON, V. R.; PEREIRA, T. O.; VIEIRA, D. A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p.119-126, 2002.

SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A., SANTOS, L. S.; GUILHON, G. M. P.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M. S. P.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.

SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – revisão crítica. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.

SOUZA, J. L.; REZENDE P. **Manual de horticultura orgânica**. 2 ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2011, p. 843.

SOUZA, R. F. de; MADEIRA, N. R.; FIGUEIREDO, C. C. de. Perdas de solo, água e nutrientes em área cultivada com hortaliças sob sistema de plantio direto. **Revista Científica**, São Paulo, v.1, p. 38-50, 2014.

SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. **Annual Review of Plant Physiology**, n. 28, p. 479-501, 1977.

SZCZEPANSKI, A. J. Allelopathy as a mean of biological control of water weeds. **Aquatic Botany**, n. 3, p. 193-197, 1977.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.Ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013, p. 954.

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

TEIXEIRA, J. P. F.; MARQUES, M. O. M.; FURLANI, P. R.; FACANALLI, R. Essential oil contents in two cultivars of basil cultivated on NFT-hydroponics. **Acta Horticulturae**, Belgium v. 1, n. 569, p. 203-208, 2002.

TUKEY, J. W. One degree of freedom for nonadditivity. **Biometrics**, v. 5, p. 232-242, 1949.

UMERIE, S. C., ANASO, H. U.; ANYASORO, L. J. C. Inseticidal potentials of *Ocimum basilicum* leaf extracts. **Bioresource Technology**, v. 64, n. 3, p. 237-239, 1998.

USDA NRCS. **Sunn hemp: *Crotalaria juncea* L. Baton Rouge: Plant Guide** – Soil Quality Institute and the National Plant Data Center, p. 3, 2005.

WANG, K. H.; MCSORLEY, R.; GALLAHER, R. N. Effect of *Crotalaria juncea* amendment on nematode communities in soil with different agricultural histories. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 35, n. 3, p. 294-301, 2003.

WEIDENHAMER, J. D.; HARTNETT, D. C.; ROMEO, J. T. Density-dependent phytotoxicity: distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 613-524, 1989.

WU, H.; PRATLEY, J.; LEMERLE, D.; HAIG, T. Crop cultivars with allelopathic capability. **Weed Research**, Switzerland, v. 39, n. 3, p. 171-180, 1999.

ZUANAZZI, J. A.; MONTANHA, J. A. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre – RS: Ed. UFSC, p. 577-604, 2004.

ZWENGER, S.; BASU, C. Plant terpenoids: applications and future potentials. **Biotechnology and Molecular Biology**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2008.