

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE PARINTINS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Análise do potencial alelopático do extrato das folhas secas da *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil), testada na germinação da semente de *Lactuca sativa* L. (alface).

**PARINTINS – AM
MAIO DE 2022**

MATEUS FELIPE MONTEIRO PINHEIRO

Análise do potencial alelopático do extrato das folhas secas da *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil), em meio aquoso, hidroalcólico e alcoólico testada na germinação da semente de *Lactuca sativa L.* (alface).

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas DO Centro De Estudos Superiores de Parintins, da Universidade do Estado do Amazonas como requisito obrigatório ao Trabalho de Conclusão de Curso e obtenção do grau de licenciado em Ciências Biológicas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. ADEMIR CASTRO E SILVA

**PARINTINS – AM
MAIO – 2022**

MATEUS FELIPE MONTEIRO PINHEIRO

Análise do potencial alelopático do extrato das folhas secas da *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil), testada sobre a germinação da semente de *Lactuca sativa* L. (alface).

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas DO Centro De Estudos Superiores de Parintins, da Universidade do Estado do Amazonas como requisito obrigatório ao Trabalho de Conclusão de Curso e obtenção do grau de licenciado em Ciências Biológicas.

ORIENTADOR: ADEMIR CASTRO E SILVA

Aprovado em _____ de _____ de _____ pela Comissão Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Presidente/Orientador

Membro Titular

Membro Titular

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus pela vida que ele me deu e pelas pessoas que colocou em minha vida. Eu agradeço:

- Meu pai Eraldo Conceição Pinheiro que é um grande guerreiro, e sempre se preocupa comigo. Um homem que eu admiro muito.
- Minha mãe que me deu forças em toda a minha vida, hoje não está mais comigo. Eu espero que ela não esteja me vendo pois estaria muito preocupada comigo, e eu não quero isso. Ela merece descansar e relaxar, a gente vai conversar bastante quando nós nos entrarmos novamente. Sinto muitas saudades mãe.
- Agradeço pela irmã que eu tenho, pois sem ela com certeza eu não estaria aqui. Ela é minha fonte de inspiração e uma mulher guerreira.
- Agradeço pela maravilhosa e linda namorada que eu tenho, ela foi a pessoa que sempre quer o melhor para mim, e sempre me colocar como prioridade em sua vida, é a pessoa que eu amo demais e quero construir um futuro junto. E também foi a pessoa que escolheu esse tema de TCC pra mim.

Agradeço pelo os amigos que eu tenho que foram as pessoas que me deram bastante apoio para não desistir do meu TCC. Dentre eles vou citar os que vou levar comigo:

- Luan Cerdeira e Vinicius Albuquerque e Victor que são as pessoas que me auxiliaram no meu TCC e que estão comigo desde o início da faculdade
- O grupo porco, sempre fazem o melhor trabalho em equipe, são membros:
- Lucas da gama; Jessica Lopes; Juliana; seu Joílson; Juliana; Mano Frank.

Agradeço a todos os meus professores que me ajudaram na minha caminhada e formação;

- Professor Fabiano Taddei grande general, biólogo exemplo a ser seguido.
- Professor Adailton Moreira por todo auxílio dado aos alunos e pelo conhecimento.
- Professora Naimy Castro pelas orientações valiosas no Estágio Supervisionado e no meu TCC. E também por perdoar minhas falhas como acadêmico.

- Professora Cynara Carmo pela Coordenação do residência pedagógica, e pelo conhecimento passado para mim.
- Professor Ademir Castro por ter me aceitado me orientar no meu TCC e os ensinamentos passado em sala de aula.

***Ex.: “Passado não volta, futuro não temos e o hoje não acabou
Por isso ame mais, abrace mais
Pois não sabemos quanto tempo temos pra respirar
Fale mais, ouça mais
Vale a pena lembrar que a vida é curta demais”
(Thiago Brado.)***

RESUMO

A alelopatia é a capacidade de uma planta produzir substâncias (aleloquímicos) no seu metabolismo secundário capaz de interferir de maneira direta ou indireta no desenvolvimento de outra planta. O uso de aleloquímicos no combate de plantas invasoras tem crescido nos últimos anos, o seu uso é uma forma de conseguirmos o desenvolvimento sustentável e reduzir o uso de agrotóxicos. A Castanheira-do-Brasil *Bertholletia excelsa*, é uma árvore importante, por ser fonte de alimento para animais e ser importante para a economia, muitos produtos são derivados dessa árvore. Foi conduzido em laboratório o experimento para testar o potencial alelopático de suas folhas secas. Foi utilizado a semente de alface *Lactuca sativa L.* em Bioensaio por ser muito utilizada em testes de fitotoxicidade por apresentar sensibilidade a substâncias tóxicas. O experimento mostrou um grande potencial alelopático das folhas da castanheira.

Palavras-chave: alelopatia, aleloquímicos, desenvolvimento sustentável,

ABSTRACT

Allelopathy is the ability of a plant to produce substances (allelochemicals) in its secondary metabolism capable of directly or indirectly interfering with the development of another plant. The use of allelochemicals to combat invasive plants has grown in recent years, their use is a way to achieve sustainable development and reduce the use of pesticides. The Castanha-do-Brasil *Bertholletia excelsa* is an important tree, as it is a source of food for animals and is important for the economy, many products are derived from this tree. The experiment was conducted in the laboratory to test the allelopathic potential of its dried leaves. *Lactuca sativa* L. lettuce seed was used in Bioassay because it is widely used in phytotoxicity tests because it is sensitive to toxic substances. The experiment showed a great allelopathic potential of Brazil nut tree leaves.

Key words: allelopathy, allelochemicals, sustainable development.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa do local de coleta das folhas secas da castanheira (*Bertholletia excelsa*), Ramal dos Reis, localizado perto do bairro Vila Cristina. _____ 14
- Figura 2** - Coleta das folhas secas da castanheira (*Bertholletia excelsa*) caídas no solo. _____ 15
- Figura 3** - Processo de trituração das folhas da castanheira já retirada da nervura central da folha. _____ 16
- Figura 4** - Folha secas trituradas emergidas no solvente alcoólico, hidroalcoólico e aquoso. _____ 17
- Figura 5** - Imagem do processo de filtração do extrato alcoólico. _____ 18
- Figura 6** - A) Placas secas com extrato hidroalcoólico. (B) E placas secas com extrato alcoólico. _____ 19
- Figura 7** - Processo de raspagem das placas após a evaporação do líquido. _____ 20
- Figura 8** Processo de diluição para as concentrações utilizando os respectivos solventes. _____ 21
- Figura 9** - (A) Extrato hidroalcoólico diluído nas concentrações alvo. (B) extrato alcoólico diluído nas concentrações alvo. (C) extrato aquoso diluído nas concentrações alvo. (D) extrato aquoso diluído na concentração 3%. (E) extrato aquoso diluído na concentração _____ 21
- Figura 10** - Placas de petri esterilizadas, dupla camada de substrato posicionada na placa, concentrações do extrato aquoso e semente recém retirada do pacote comercial _____ 22
- Figura 11** - Semente posicionada nas placas sobre o substrato mantendo uma distância entre elas para não influenciar no desenvolvimento de ambas _____ 23
- Figura 12** - Semente dentro da placa de petri com as concentrações do extrato aquoso e fechadas com papel insulfilm. _____ 24
- Figura 13** -- Semente dentro da placa de petri com as concentrações do extrato aquoso e fechadas com papel insulfilm. _____ 24
- Figura 14** - Número de semente germinadas no experimento com extrato aquoso durante o período de sete dias de experimento. Levando em consideração 85% de semente com potencial de germinação. _____ 28

Figura 15- O Gráfico representa, o Índice de velocidade de germinação do controle dos extratos e as concentrações do aquoso que germinaram, _____29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Materiais utilizados no processo de filtração dos extratos alcoólicos, hidroalcólicos e aquoso.	17
Tabela 2 - Resultado da pesagem dos extratos após a raspagem das placas.	19
Tabela 3 - volume e a massa de cada extrato para fazer as concentrações de 0,5%, 1%, 3%.	20
Tabela 4: Índice de Velocidade de Germinação dos extratos e concentrações incluindo o controle.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 5 - Porcentagem de germinação.	30

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Quantidade de placas (P) e sementes utilizadas em cada experimento.	24
Quadro 2 - Número de sementes germinadas das placas (P) com as concentrações e controle (C) no experimento com solvente hidroalcolico durante sete dias.....	26
Quadro 3 - Número de sementes germinadas das placas com as concentrações e controle no experimento com solvente alcoólico durante sete dias.....	26
Quadro 4 - Número de semente germinadas das placas com as concentrações e controle no experimento com solvente aquoso durante sete dias.....	27

Sumário

INTRODUÇÃO	10
1 OBJETIVOS	13
1.1 OBJETIVO GERAL	13
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 LOCAL DE COLETA DAS FOLHAS DA BERTHOLLETIA EXCELSA.	13
2.2 BIOENSAIO	15
2.2.1 Trituração	15
2.2.2 Solventes	16
2.2.3 Filtração	17
2.2.4 Extração e diluição	18
2.2.5 Semeadura.....	21
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
3.1 Numero de semente germinadas.....	25
3.2 Índice de velocidade de germinação.....	28
3.3 Porcentagem de germinação (G%).....	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS.....	31

INTRODUÇÃO

Os seres vivos interagem de diversas formas com outros seres vivos presente no mesmo espaço tais como fungos, bactérias, insetos e outras plantas (MACHADO, 2010). O metabolismo primário de bactérias, fungos e plantas geralmente estão associados a processos biológicos fundamentais desses seres vivos, como por exemplo produzindo substancias que atuam no crescimento da planta ou responsável pela fotossíntese, processo químico que ocorre nos cloroplastos, o metabolismo primário atua como autor principal de todos esses processos (ALMEIDA, 2017).

No metabolismo secundário é onde são produzidos os componentes químicos que não estão diretamente ligados ao desenvolvimento da planta, porém não significa que estes componentes não sejam importantes. O metabolismo secundário em algumas espécies de plantas é encontrado alguns componentes químicos capazes de influenciar no desenvolvimento de outra planta (MACHADO SOUZA, et al, 2005). Esses componentes são chamados de aleloquímicos, e quando são identificados estes, significa que a planta possui atividade alelopática a outras plantas (MORAES de SOUZA, et al, 2007).

O termo alelopatia foi criado pelo estudioso alemão Molisch em 1937, trata-se da reunião de duas palavras gregas *alléton* e *pathos* com o respectivo significado “mútuos” e “prejuízo” (ALENCAR, et al, 2016). Em conceito atual, como cita Silva (2017), a Sociedade Internacional de Alelopatia (International Allelopathy Society – IAS) define alelopatia como o “impacto positivo (estímulo) ou negativo (inibição) das plantas sobre as plantas vizinhas e/ou sua microflora e/ou sua macroflora, pela produção de aleloquímicos”. A alelopatia de uma planta é a influencia de maneira positiva (benéfica) ou negativa (maléfica) desses aleloquímicos e liberados na atmosfera e principalmente no solo pela planta (MACHADO SOUZA, et al, 2005). Algumas espécies desenvolvem mecanismos de defesa que se baseiam na síntese de determinados metabólitos secundários, que quando liberados no ambiente interferirão em alguma etapa do ciclo de vida de outra planta (ALVES *et al.*, 2004). A liberação desses compostos podem ser por volatilização de substancias produzidas pelo sistema secundário em plantas em estado vegetativo, lixiviação de aleloquímicos solúveis em água, decomposição da planta (MEDEIROS & LUCCHESI, 1993).

Com base em atividade dos aleloquímicos já observadas, esses compostos afetam o crescimento e o desenvolvimento, e na maioria dos testes feitos ocorre a inibição de sementes de outras espécies de plantas (SILVA, 1978). Os efeitos das substâncias químicas podem também ocorrer de maneira direta, quando influencia diretamente a planta e de maneira indireta quando a substância influencia outros seres vivos para atuar a seu favor (FERREIRA & BORGHETTL, 2004).

A alelopatia é vista como uma estratégia ecológica de competição com outras plantas, tendo em vista que uma planta que interfere de alguma forma no crescimento da outra, possui uma ferramenta ecológica importante na dominância, sucessão e formação de comunidade vegetais de um ecossistema (MORAES de SOUZA, et al, 2007; MEDEIROS & LUCCHESI, 1993).

As castanheiras ou Castanheira-do-Para ou Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H. & B.) é uma espécie pertencente à família Lecythidaceae, esta família possui uma grande distribuição geográfica sendo uma espécie nativa da floresta Amazônica, possui sua distribuição bastante desigual em sua região, e tem como seu habitat comum terras baixas porém não inundáveis (terra firme). Porém a membros de sua família que são encontrados a mais de 1000 metros acima do nível do mar (SALOMÃO, 2009; MORI, 2001; OLIVEIRA et al, 2020).

A castanheira é uma árvore importante tanto no meio ecológico quanto no meio socioeconômico, sua semente comestível (amêndoas), fazem com que ela seja uma fonte de renda para comunidades locais, colaborando com a economia regional. A castanheira não possui muitas plantações para fins comerciais, fazendo com que ela se torne uma atividade extrativista, e a castanha um produto florestal não madeireiro (PFNM), tornando-a o produto mais conhecido (TONINI e PEDROZO, 2014; COSTA & TONINI & FILHO, 2017; SCOLES & GRIBEL & KLEIN, 2011).

A semente da alface é muito utilizada em Bioensaios laboratoriais de substâncias tóxicas, pois ela apresenta uma grande sensibilidade a substâncias químicas, e suporta a variação de pH, além de possuir um cultivo fácil e rápido crescimento em laboratório se for dada as condições necessárias, um fator muito importante da utilização do alface é o custo baixo para pesquisas com poucos recursos (TORRES et al, 2018; PASSOS et al, 2014; AZEVEDO DIAS et al, 2014; OLIVEIRA, et al, 2011; GOVÊA, 2018).

O estudo de compostos alelopáticos vem progredindo nos últimos anos na perspectiva da sua manipulação para aplicações práticas na agricultura, como por exemplo, para controlar pragas e plantas invasoras (MALLIK; OLOFSDOTTER, 2001). De acordo com Wardle (1987), citado por Souza Filho *et al.* (1997), do ponto de vista agrônomo, a alelopátia é de grande interesse, pois possibilita não só a seleção de plantas que possam exercer certo nível de controle sobre determinadas espécies indesejáveis, como também, o estabelecimento de espécies que não sejam fortemente alelopáticas, mas que possam compor lavouras equilibradas, com reflexos favoráveis à produtividade e longevidade das mesmas (TOKURA; NÓBREGA, 2006).

O desempenho econômico excepcional do setor agrícola brasileiro fez o produto interno bruto (PIB) do país dobrar na última década. Considerando esta tendência, a *Food and Agriculture Organization* (FAO) e a *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) estimam que o Brasil será, na próxima década, o maior produtor agrícola e o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2010).

Um dos principais problemas associados ao uso de herbicidas é o desenvolvimento de espécies resistentes aos mesmos, o que acarreta uma consequente e contínua demanda por novos compostos químicos, que apresentem mecanismos bioquímicos de ação diferente daquelas exercidas pelos herbicidas atualmente em uso (MORENO *et al.*, 2006; SOUZA FILHO *et al.*, 2005; apud BELINELO *et al.*, 2008).

Tendo em vista os males ocasionados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos na agricultura, novas tecnologias têm surgido com o intuito de diminuir a dependência destes produtos na agricultura, uma das soluções é o uso de métodos alternativos de controle fitossanitário, adotando uma nova visão de agricultura que trata a natureza como um sistema vivo que reage a toda e qualquer interferência que altere a sua estrutura e funções (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003). Para Rodrigues (2016), além da utilização de herbicidas, o controle de plantas daninhas envolve outras estratégias de manejo, dentre essas podemos listar práticas preventivas, que são geralmente pouco utilizadas devido a diversos fatores, como a necessidade de mão-de-obra. No que tange o manejo de plantas daninhas e controle biológico, o uso da alelopatia

constitui uma alternativa ao controle químico, entretanto, pouco é conhecido sobre a sua utilização.

O presente trabalho irá executar um experimento retirando o extrato bruto das folhas seca da castanheira (*Bertholletia excelsa*), e testar seu efeito alelopático em sementes de alface (*Lactuca sativa* L).

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

Através dos experimentos avaliar se o extrato das folhas secas da castanheira possui potencial alelopático positivo ou negativo.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar as concentrações 0,5%; 1%; e 3% do extrato da castanheira nas soluções aquosa, hidroalcoólico e alcoólico.
- Analisar se o tipo de solvente utilizado na preparação das concentrações exerce alguma influencia no resultado.
- Adquirir o índice de velocidade de germinação da semente da alface em meio as concentrações em cada solvente. Obter a resultado da porcentagem de germinação, em diferentes concentrações.

2 MATERIAL E MÉTODOS

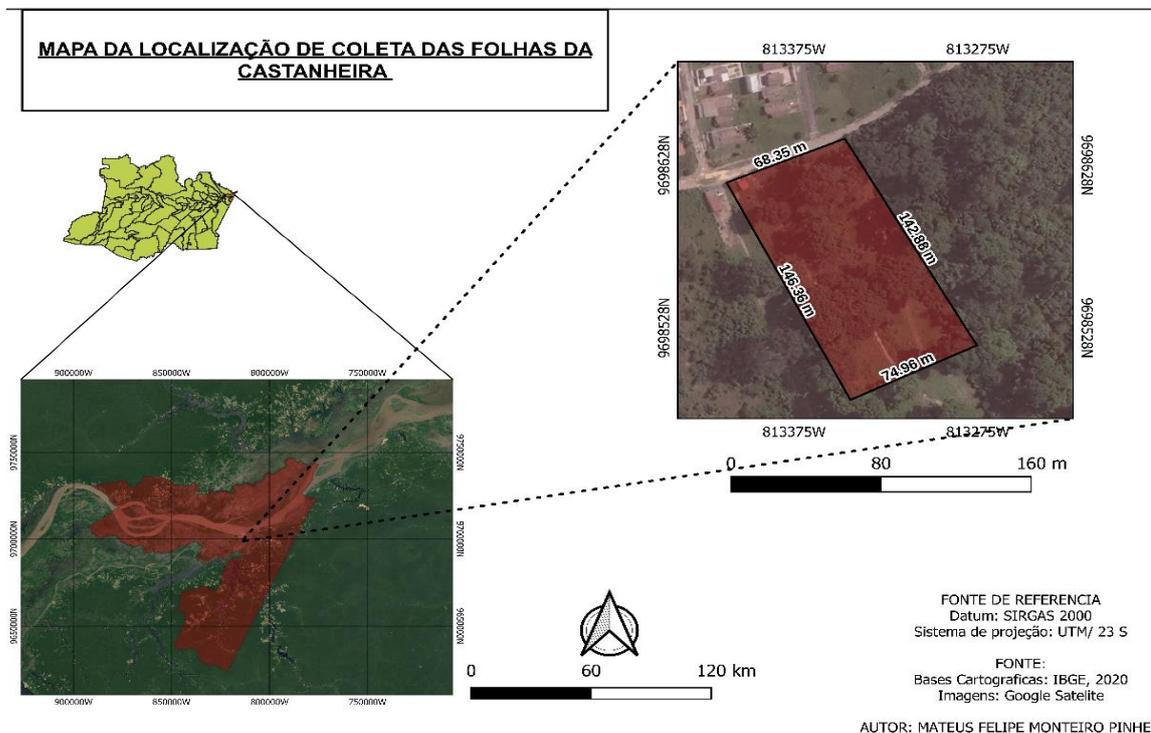
2.1 LOCAL DE COLETA DAS FOLHAS DA BERTHOLLETIA EXCELSA.

A coleta da folha secas da castanheira foi feita no Ramal do Reis -2°40'10.0"S 56°43'58.1"W (**figura 1**). Por conta da arvore *Bertholletia excelsa* ser de grande porte. A retirada das folhas verdes da arvore para posterior secagem demandaria um grande trabalho, e por conta disso foi feita a coleta de folhas secas caídas no solo (**figura 2**). Foram selecionadas folhas que não apresentava um alto grau de degradação a olho nu.

Foram organizadas duas coletas em diferente período. A primeira coleta foi feita no verão de 2021, dia 16 de outubro no horário da manhã em torno de 10:00 AM. As folhas foram armazenadas em saco preto de 50 ml, no termino da coleta foi totalizado 4 sacos completamente cheio de folhas. A segunda coleta foi feita 6 meses após a primeira, no dia 16 de abril no horário de 12:00 AM. A quantidade de folha coletada foi muito menos do que a primeira coleta, havia pouca disponibilidade de folha no solo e dentre essas poucas ainda tinha folhas que apresentavam um estágio avançado de degradação, e por isso foram descartadas. As folhas foram colocadas em uma sacola grande de nylon. Nos dias das duas coletas os dias estava ensolarado e não havia tido precipitação nos dias anteriores a coleta, e por esse motivo as folhas não continham água parada em sua estrutura. Esse cuidado foi pensado para que as folhas não fungarem no processo de armazenamento na sacola e no laboratório.

Após o termino de cada coleta as folhas foram levadas para o Laboratório de Estudos de Fungos- LABEF - UEA, e lá foram armazenadas para posterior uso no Bioensaio.

Figura 1 - Mapa do local de coleta das folhas secas da castanheira (*Bertholletia excelsa*), Ramal dos Reis, localizado perto do bairro Vila Cristina.



FONTE: PINHEIRO, 2022. **DADOS:** Datum SIRGAS 2000, Sistema de prejeção UTM / 23 S; e Base cartografica: IBGE, 2020; **IMAGEM:** Google Satellite.

Figura 2 - Coleta das folhas secas da castanheira (*Bertholletia excelsa*) caídas no solo.



Fonte: CERDEIRA, 2022

2.2 BIOENSAIO

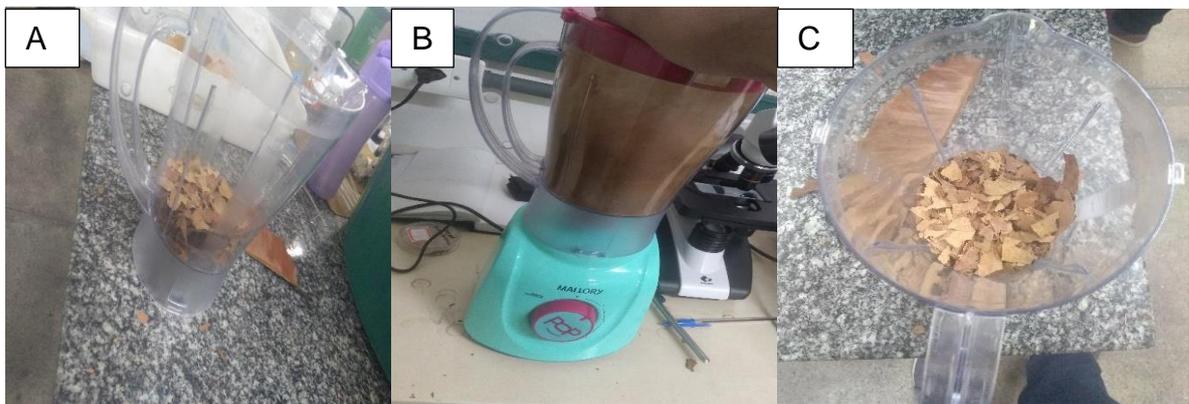
2.2.1 Trituração

A nervura central de todas as folhas foi retirada por instrução do orientador. A separação ocorreu utilizando uma tesoura de ponta fina de tamanho variado. Após a separação da nervura, houve a diminuição do tamanho das folhas para tornar mais rápido e fácil o processo de trituração das folhas. Um ponto importante a ser destacado foi identificação das folhas da castanheira, para que não houvesse a confusão de colocar folhas de outra espécie de árvore que tivesse no local e assim mistura na hora de preparar as concentrações do extrato.

O processo de trituração ocorreu com o auxílio do liquidificador tornado da marca Mallory, Pop 3 AZ tensão 127v-GA – 60Hz 520 W de propriedade do Laboratório LABEF (**figura 3**). O processo se dava em depositar as folhas separadas da nervura central em quantidade razoável dentro do liquidificador, lá as folhas eram trituradas até adquirir um caráter de tamanho mínimo apresentado forma aproximado de pó. Foi feita várias sessões para triturar completamente as folhas, cada sessão durou em média 2 minutos. As folhas trituradas foram pesadas na balança de precisão utilizando em dois Becker de 800 ml.

As folhas trituradas da primeira coleta resultaram em um peso de 250g (gramas) e o peso das folhas trituradas da segunda coleta foi de 190g. As folhas trituradas da primeira coleta foram armazenadas até a segunda coleta.

Figura 3 - Processo de trituração das folhas da castanheira já retirada da nervura central da folha.



Fonte: AUTOR, 2022

2.2.2 Solventes

O processo foi retomado no final de março 2021. As folhas trituradas foram colocadas em três recipientes. E sobre as folhas foi colocado os solventes para a extração. A solução aquosa foi preparada, colocando 750 ml de água destilada.

A solução hidroalcoólica foi desenvolvida colocando 50% de água destilada e 50% de álcool no recipiente que continha a folha. A quantidade de água destilada 230ml e 230ml de álcool totalizado 460 ml de solução hidroalcoólica.

A solução alcoólica é composta por 280 ml de álcool, foi o menor volume de solução dentre os três solventes, porem pela solução aquosa apresentar pouca extração quando comparado com as demais soluções. Preparadas as soluções o recipiente foi fechado e selado com papel insulfilm pra minimizar a volatilização das soluções que continham álcool em sua composição.

A preparação dos solventes dentro do recipiente obedeceu a proporção 3:1 explanada por (ALVES, et al. 2011) e (GATTI & PERES & LIMA, 2004)

Os recipientes fechados foram colocados em repouso no laboratório no período de 7 dias para que o solvente possa extrair o máximo possível as substancias presente nas folhas (**figura 4**). Passado o período de repouso, os recipientes foram abertos para realizar o processo de filtração.

Figura 4 - Folha secas trituradas emergidas no solvente alcoólico, hidroalcoólico e aquoso.



Fonte: CERDEIRA, 2022.

2.2.3 Filtração

Processo foi adaptado utilizando como base os trabalhos de (MEDEIROS e LUCCHESI, 1993; ALENCA, et al, 2016; OLIVEIRA, et al, 2011).

Após o tempo de 7 dias de repouso os recipientes foram abertos para a que seja feita o processo de filtração. A filtração aconteceu usando os seguintes materiais para cada solvente:

Tabela 1 - Materiais utilizados no processo de filtração dos extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e aquoso.

QUANTIDADE	MATERIAL
2	Becker
1	Coador de pano
5-7	Papel filtro
1	Suporte de papel filtro

A filtração aconteceu com o seguinte método, foi posicionado o Becker encima da bancada, despejado sobre o coador de pano o liquido que estava dentro do recipiente, o liquido que era filtrado caia no Becker que estava na bancada. Depois de ser retirado todo o liquido que estava no recipiente acontecia um novo processo de filtração utilizando o papel filtro e o liquido que estava no Becker.

No segundo processo de filtração utilizando o segundo Becker e sobre ele foi posicionado o suporte do papel filtro, em seguida derramada a substancia que estava dentro do outro Becker.

Esse processo foi feito com todos os solventes, a quantidade de papel filtro variou bastante pois a quantidade de liquido filtrado por ele decaia conforme o tempo passava, e por isso utilizou mais de um papel filtro. Notou-se que a solução aquosa e hidroalcoólica tinha, mas dificuldade de ser filtrado nessa segunda etapa.

Figura 5 - Imagem do processo de filtração do extrato alcoólico.



. Fonte: CERDEIRA, 2022

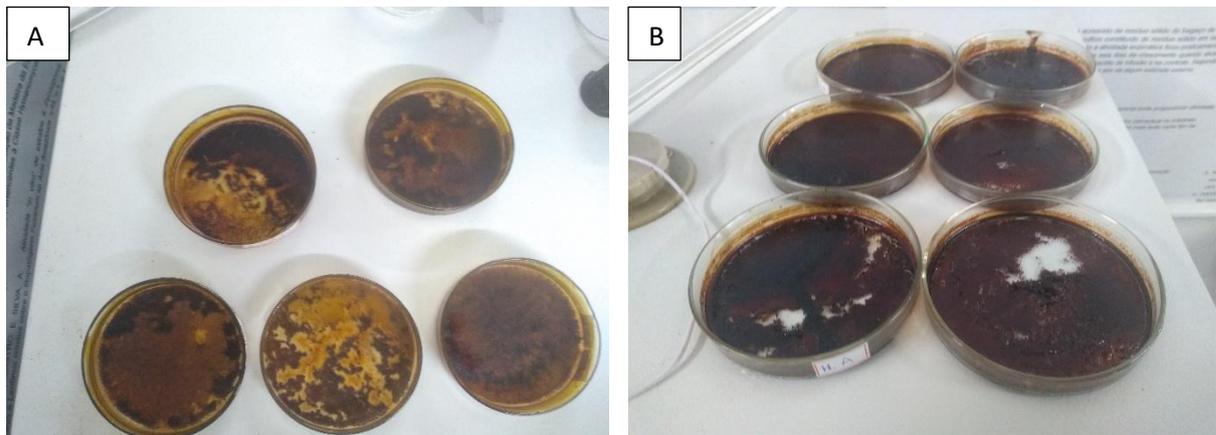
2.2.4 Extração e diluição

Como a universidade não possui centrífuga para a extração do extrato bruto, as substâncias foram colocadas em placas de petri de tamanho variado e em seguida colocadas para secar em uma estufa de secagem do LABEF, mantida a uma temperatura em torno de 40 - 50°C. Para haver um monitoramento constante a estufa era desligada no período da noite e ligada no período da manhã e tarde, por isso ela tinha um total de atividade em torno de 10 horas de funcionamento.

As placas que continham a solução hidroalcoólica permaneceu dentro da estufa por 4 dias para secagem total, o alcoólico demorou menos em torno de 3 dias e pôr

fim a solução aquosa demorou 5 dias para ter sua secagem total. Essa foi a solução mais difícil de trabalhar devido a facilidade que a mesma possui na proliferação de fungos.

Figura 6 - A) Placas secas com extrato hidroalcólico. (B) E placas secas com extrato alcoólico.



Fonte: AUTOR, 2022

Terminado a etapa de evaporação do líquido, houve a etapa de raspagem da placa, processo para a extração do extrato bruto de cada solvente. Foi utilizado uma espátula para retirar o extrato, da placa como mostra a (**figura 7**). O produto da raspagem foi separado e colocado dentro de um Becker de 100 ml, etiquetado para posterior pesagem. O extrato bruto de cada solvente, retirado da placa foram pesados na balança de precisão utilizando até três casas decimais, o resultado da pesagem se encontra na (**tabela 2**).

Tabela 2 - Resultado da pesagem dos extratos após a raspagem das placas.

EXTRATO	MASSA (g)
Aquoso	3,028
Hidroalcólico	9,607
Etanólico	4,452

Figura 7 -Processo de raspagem das placas após a evaporação do líquido.



Fonte: CERDEIRA, 2022

Passando pelo processo de pesagem em seguida veio a etapa de diluição e preparação das concentrações. Foi trabalhado com apenas três concentrações para analisar o efeito alelopático da folha seca da castanheira, foram feitas Concentrações de 0,5%, 1% e 3%. A quantidade de extrato em meio alcoólico e hidroalcoólico foi de 50 ml, e do extrato aquoso 25 ml devido a pouca quantidade de extrato bruto. As concentrações foram feitas utilizando a equação abaixo:

$$C = \frac{m}{v}$$

Onde: m = massa do extrato; v = volume do solvente.

A massa utilizada para preparar as concentrações 0,5%, 1% e 3% dos extratos hidroalcoólico e etanólico estão na (tabela 3).

Tabela 3 - volume e a massa de cada extrato para fazer as concentrações de 0,5%, 1%, 3%.

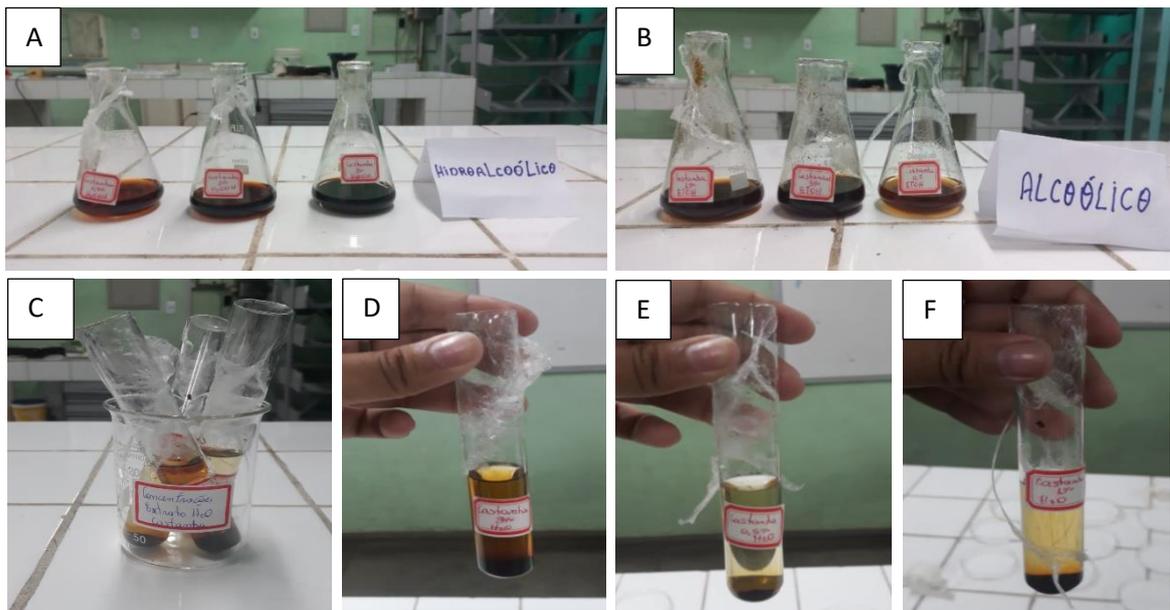
Extrato	Volume (ml)	Massa 0,5%	Massa 1%	Massa 3%
Hidroalcoólico e Alcoólico	50 ml	0,25 g	0,5 g	1,5 g
Aquoso	25 ml	0,125 g	0,25 g	0,75 g

Figura 8 Processo de diluição para as concentrações utilizando os respectivos solventes.



Fonte: CERDEIRA, 2022

Figura 9 - (A) Extrato hidroalcolóico diluído nas concentrações alvo. (B) extrato alcoólico diluído nas concentrações alvo. (C) extrato aquoso diluído nas concentrações alvo. (D) extrato aquoso diluído na concentração 3%. (E) extrato aquoso diluído na concentração



Fonte: AUTOR, 2022

2.2.5 Semeadura

Estando pronta as diluições, foram preparadas as placas de petri de tamanhos não padronizados, porém visando as placas de maior tamanho. Segundo (SIMÕES et al, 2013), placas com diâmetro maior tinham um aumento no índice de germinação. As placas foram forradas com duas camadas de papel filtro, substrato usado por (ALVES, et al, 2004; ALENCA, et al, 2016; SOUZA, et al, 2007) e aprovado pelo RAS-

Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). As placas de petri foram lavadas, secas e esterilizadas com álcool 70% antes de serem forradas. O Bioensaio utilizando as sementes aconteceu domingo às 19:34 no dia 15 de maio de 2022.

Foi utilizado a semente da marca Feltrin Sementes; Lote: 0077301810000010; porcentagem de germinação 85%; válido até abril de 2023; porcentagem de pureza: 99,6%; safra de 2016; data de análise julho de 2021, semente de alface (*Lactuca sativa L*), variedade crespa. Segundo Brasil, (2009) a alface tem sua germinação no quarto dia, quando a radícula possui tamanho superior a 2 mm (milímetros) e sua germinação completa no final do sétimo dia.

As sementes da alface foram colocadas sobre o papel filtro (SP), um dos métodos delimitado pelo RAS (BRASIL, 2009) (**figura 10**). Foi posicionado de forma aleatória porém mantendo uma distância razoável entre as sementes dentro da placa forrada, cada placa recebeu um total de 10 sementes. Essa quantidade de semente foi pensada, tendo como referência o tamanho de todas as placas do experimento, para que não influencie no resultado, minimizando a competição pelo oxigênio. Ressaltando que as sementes não passaram por nenhum procedimento de quebra de dormência antes do experimento, assim que as sementes deixaram a embalagem comercial, foram postas em uma placa de petri esterilizada, em seguida nas placas com o substrato.

Figura 10 - Placas de petri esterilizadas, dupla camada de substrato posicionada na placa, concentrações do extrato aquoso e semente recém retirada do pacote comercial



Fonte: AUTOR, 2022.

Figura 11 - Semente posicionada nas placas sobre o substrato mantendo uma distância entre elas para não influenciar no desenvolvimento de ambas



Fonte: AUTOR, 2022.

O experimento foi conduzido com três repetições para cada concentração mais o controle, totalizando 12 placas por experimento. O experimento abrangendo todas as concentrações foi utilizado um total de 36 placas de petri.

Sobre as sementes posicionadas na placa foi despejado as soluções de cada concentração, o volume de 3 ml utilizando uma pipeta volumétrica graduada de material plástico. Por não haver padronização nos testes de alelopatia o volume utilizado baseou-se no trabalho de (ALENCAR et al, 2016). Outros trabalhos utilizam o volume de 5 a 10 ml em seus testes como (OLIVEIRA et al, 2011; SILVA et al, 2021). No controle utilizou-se 3 ml de água destilada.

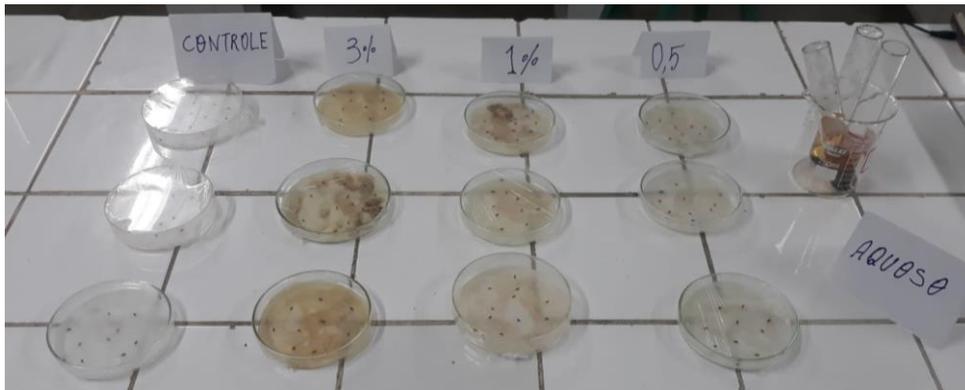
Assim que as placas já tivessem recebido as concentrações de cada extrato, as placas foram vedadas com papel insulfilm, para minimizar a perda de água para o ambiente. As placas foram posicionadas na bancada do laboratório de biologia da Universidade do Estado do Amazonas-UEA, com temperatura variando entre 19°C e 25°C recebendo luz constante do laboratório.

A parti do quarto dia foi iniciado a contagem oficial de sementes germinadas dos extratos e controles, por não haver estufa no laboratório foi improvisado um método de umidificação das placas. Utilizou-se um borrifador comum, e nele colocado água destilada para fazer o controle de umidade. A quantidade de água em cada placa variou bastante, para ter o cuidado de a placa não ter excesso de água e influenciar no resultado do experimento.

O experimento teve acompanhamento diário durante sete dias, no dia 22 de maio de 2022 no sétimo dia, o experimento chegou ao fim.

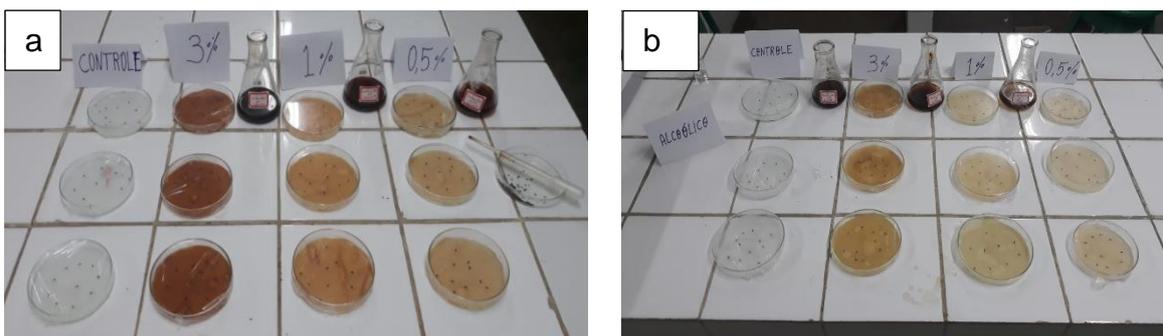
Figura 12

Figura 12 - Semente dentro da placa de petri com as concentrações do extrato aquoso e fechadas com papel insulfilm.



Fonte: PINHEIRO, 2022

Figura 13 -- Semente dentro da placa de petri com as concentrações do extrato aquoso e fechadas com papel insulfilm.



Fonte: PINHEIRO, 2022.

Quadro 1 - Quantidade de placas (P) e sementes utilizadas em cada experimento.

Extrato	Concentração	Concentração	Concentração	
E	o	1%	3%	Controle

Quantidade de sementes	0,5%											
Hidroalcoólico	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Quantidade De semente por placa	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Alcoólico	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Quantidade de semente por placa	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Aquoso	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Quantidade De semente por placa	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o final deste trabalho não foi encontrado nenhum experimento sobre o efeito alelopático da família Lecythidaceae ou do gênero *Bertholletia sp.*

Durante os sete dias de experimento houve uma enorme diferença no tempo de germinação das sementes que se encontravam em meio as concentrações em comparação com as sementes que estavam no controle, os quadros abaixo mostraram a quantidade de sementes germinadas durante os sete dias. Segundo Pires et al. (2001) as substancias alelopática estão mais presentes nas folhas da planta. Resultado também alcançado por Novais et al. (2017).

3.1 Numero de semente germinadas

	6°	7	6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7°	7	6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0

O experimento com extrato alcoólico obteve o mesmo resultado que o hidroalcoólico, com exceção do controle que teve mais germinação, tendo um total de 21 germinação no final do experimento. Com base no experimento realizado, o extrato alcoólico da folha seca da castanheira apresentou potencial de 100% de alelopatia sobre as sementes da alface.

Quadro 4 - Número de semente germinadas das placas com as concentrações e controle no experimento com solvente aquoso durante sete dias.

Placas (P)	Dias	Controle (C)			Concentração 0,5%			Concentração 1%			Concentração 3%		
		P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
	3°	2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4°	5	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5°	6	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6°	8	6	5	0	0	0	0	3	3	4	0	0
	7°	8	6	6	0	0	0	0	4	4	5	0	0

Já o experimento com extrato aquoso mostrou um comportamento diferente dos trabalhos de Pires et al (2001) e Novais et al. (2017) onde a conforme o aumento da concentração, o efeito alelopático era maior. No extrato aquoso do experimento, não houve nenhuma germinação na concentração 0,5%, porem duas placas com a concentração 1% germinaram no sexto dia de experimento, três sementes em cada placa e no próximo dia mais uma semente em cada placa, totalizando oito sementes germinaram na concentração de 1%.

O número de semente voltou a reduzir na concentração de 3%. No sexto dia uma placa apresentou quatro germinações, e no dia seguinte mais uma, totalizando cinco semente germinadas ao todo.

Figura 14 - Número de semente germinadas no experimento com extrato aquoso durante o período de sete dias de experimento. Levando em consideração 85% de semente com potencial de germinação.

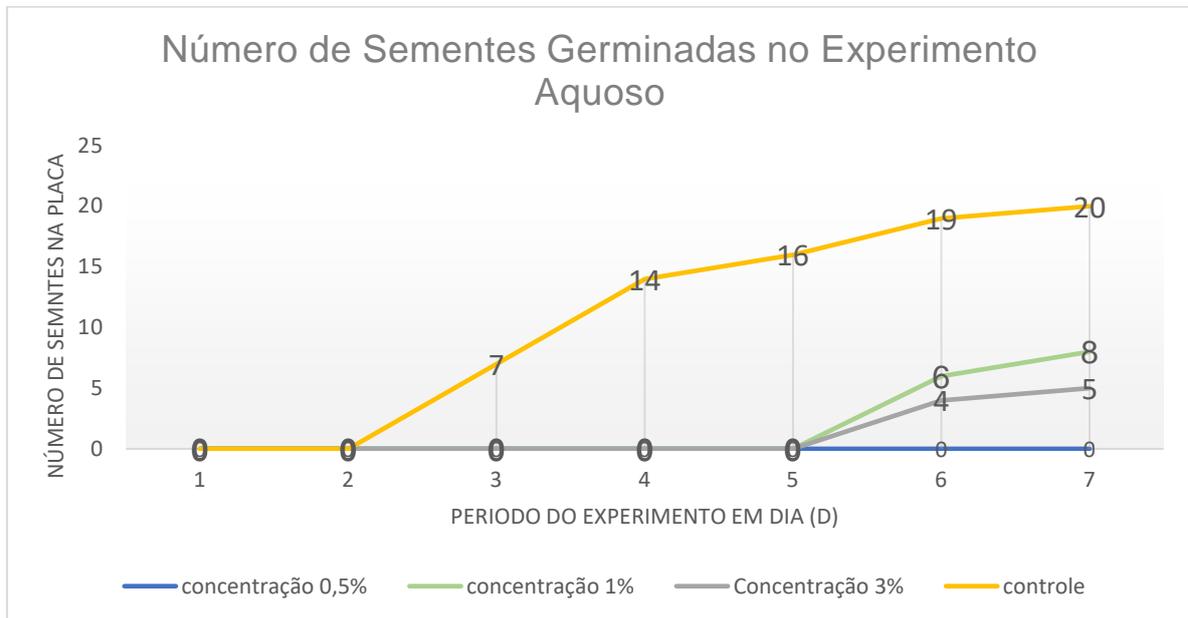


Tabela 4 - Número total de semente germinadas no final do experimento.

Extrato	Concentração 0,5%	Concentração 1%	Concentração 3%	Controle (C)
Hidroalcoólico	0	0	0	18
Aquoso	0	8	5	20
Alcoólico	0	0	0	21

3.2 Índice de velocidade de germinação

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado a partir do quarto dia de experimento, a cada 24 horas. Ele foi calculado pela equação do trabalho de Oliveira (2011) e (Alencar et al. 2007).

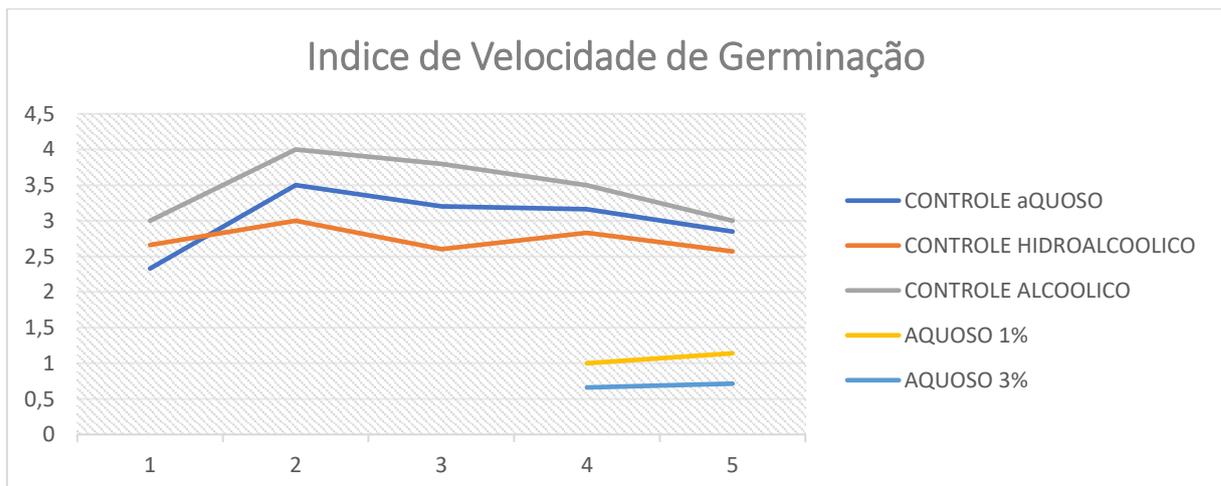
$$IVG = \sum_{i=1}^n \left(\frac{ni}{i} \right) \text{ ou } IVG = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} \dots + \frac{Gn}{Nn}$$

Onde: $ni = G1$ número de sementes germinadas no dia i ou 1 ; $i = N1$ número da contagem de semente após a semeadura; Gn número de contadas na última contagem; Nn último dia de contagem das sementes.

Tabela 5- Índice de Velocidade de Germinação do controle (C) e concentrações dos extratos.

Dia	Hidroalcoólico				Aquoso				Alcoólico			
	(C)	0,5 %	1 %	3 %	(C)	0,5 %	1 %	3 %	contr ole	0,5 %	1 %	3 %
3 ^a	2,66	0	0	0	2,3	0	0	0	3,0	0	0	0
4 ^a	3	0	0	0	3,5	0	0	0	4,0	0	0	0
5 ^a	2,6	0	0	0	3,2	0	0	0	3,8	0	0	0
6 ^a	2,83	0	0	0	3,16	0	1	0,66	3,5	0	0	0
7 ^a	2,57	0	0	0	2,85	0	1,14	0,71	3	0	0	0
Total	13,67	0	0	0	15,05	0	2,14	1,38	17,3	0	0	0

Figura 15- O Gráfico representa, o Índice de velocidade de germinação do controle dos extratos e as concentrações do aquoso que germinaram,



3.3 Porcentagem de germinação (G%)

Em cada placa de petri foi posicionado um total de 30 sementes de alface, porem na embalagem comercial da semente possui um rotulo que informa, que o pacote de sementes possui porcentagem de germinação (G%), de 85%. Com base nisso, das 30 sementes, tanto o controle como as concentrações seriam desprezadas 15% do total de semente em cada placa, resultando no número 25,5 de sementes teriam o potencial de germinação.

Foi considerado 25 sementes como 100% de semente dentro da placa, 5 foram descartadas estatisticamente. O experimento foi considerado apto, pois o controle teve o resultado acima de 50%, e teve mais germinação que as sementes que estavam em meio as concentrações. O controle de todos os experimentos teve a porcentagem de germinação acima de 70%.

O extrato hidroalcoólico teve porcentagem de germinação de 0% em todas as suas concentrações. O extrato alcoólico também apresentou 0% em todas as suas concentrações, e foi o controle que apresentou maior porcentagem de germinação.

O extrato aquoso foi o único extrato que apresentou porcentagem de germinação em suas concentrações. Mas apresentou nenhuma porcentagem na concentração mais fraca, e teve porcentagem de germinação nas concentrações mais altas. Porem houve um retardo no tempo de germinação em comparação com o controle

Tabela 6 - Porcentagem de germinação (G%)

Extrato	Concentração 0,5%	Concentração 1%	Concentração 3%	Controle
Hidroalcoólico	0%	0%	0%	70,58%
Alcoólico	0%	0%	0%	82,35%

Aquoso	0%	31,37%	19,60%	78,43%
---------------	----	--------	--------	--------

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos da folha seca da castanheira possuem grande potencial alelopático. Todas as diluições influenciaram de forma negativa na germinação da semente da alface, inibindo a germinação e aumentando o tempo de germinação. Os extratos com o solvente hidroalcoólico e alcoólico teve maior influência negativa em comparação com o extrato aquoso.

Todos os objetivos do trabalho foram alcançados com êxito, porém é necessário mais estudo relacionado a Castanheira (*Bertholletia excelsa*) pois poucos fatores ambientais foram controlados durante o experimento. Ressaltando também que o experimento utilizando o papel filtro como substrato, em muitos casos possuem efeito diferente quando testado no solo. Se faz necessário, normas de padronização quanto o estudo de produtos com potencial alelopático, a escassez desse material foi uma das principais barreiras enfrentadas durante a elaboração deste trabalho.

O estudo da alelopatia das plantas é muito importante para o combate de plantas invasoras, que prejudicam nossa economia. Isso ajudaria a diminuir o uso de agrotóxicos na agricultura, que além de serem prejudiciais, eles apresentam grande risco se não utilizado de maneira correta. Outro problema emergente, é que a cada dia que passa as plantas invasoras estão se tornando mais resistentes a certos agrotóxicos. Com a diminuição do uso de agrotóxico poderíamos ter um desenvolvimento mais sustentável, melhorar nossa qualidade de vida e diminuiria o impacto ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, S.R. Efeito fitotóxico de *Mangifera indica* L.(Anacardiaceae) em diferentes horários de coleta. **Iheringia**. Porto Alegre, v. 71, n. 2, p. 175-183. Nov. 2019.

ALVES, L. L. et al. Atividade alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **revista brasileira de plantas medicinais**. Botucatu. v. 13, n. 3, p. 328-336. 2011

AZEVEDO DIAS, A. C. et al. Fitotoxicidade de extrato de sementes de bacupari sobre bioensaios com alface (*Lactuca sativa* L.). In: CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS, 11, 2014, Poços de Caldas. *Anais* Fitotoxicidade de extrato de sementes de bacupari sobre bioensaios com alface (*Lactuca sativa* L.). FIEB, 2014.

BARROSO, E. M. et al. *Alelopatia e citogenotoxicidade de extratos de diferentes estruturas de *Garcinia brasiliensis* Mart. (Clusiaceae) em bioensaio com *Lactuca sativa* L.* 2014. 41f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas.

BRASIL. Ministerio da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes (RAS). Brasília. 2009. p. 399. 2009

COSTA, Mirian Gomes; TONINI, Helio; MENDES, Paulo. Atributos do solo relacionados com a produção da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). **Floresta e ambiente**, v. 24, 2017.

COSTA, Mônica Suani Barbosa da et al. O Ambiente e a Castanha-do-brasil (*Bertholletia Excelsa* Bonpl.) na Comunidade São Sebastião do Igapó Açú: Um Estudo na RDS Igapó Açú, Borba-AM. 2017.

FERREIRA, Alfredo Gui; BORGHETTI, Fabian. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

GATTI, Ana Beatriz; PEREZ, Sonia Cristina Juliano Gualtieri de Andrade; LIMA, Maria Inês Salgueiro. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae*

O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GOVÊA, K. P. *Potencial aleloquímico de cumarinas derivadas do eugenol em bioensaios com lactuca sativa*. 2016. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência Ambientais) – Universidade Federal de Alfenas. Alfenas.

GUSMAN, Grasielle Soares; BITTENCOURT, Alexandre Horácio Couto; VESTENA, Silvane. Alelopatia de *Baccharis dracunculifolia* DC. sobre a germinação e desenvolvimento de espécies cultivadas. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 119-125, 2008.

LIMA JUNIOR, M. J.V. ed. Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais. 146p, UFAM - Manaus-Amazonas, Brasil.

MACHADO SOUZA, S. A. et al. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de biologia e ciências da terra**. Mossoró. v. 5, n. 1, p. 0. Jul/dez. 2005.

MEDEIROS, A. R. M.; LUCCHESI, A. A. Efeito alelopático da Ervilhaca (*Vicia sativa* L.) sobre a alface em teste de laboratório. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília. v. 28, n.1, p. 1678-3921. Jan. 1993.

MENDES, P. M. et al. Aprimoramento do ensaio fitotoxicológico com germinação de sementes de alface: confiabilidade e acurácia do método. *Brazilian journal of Development*. Curitiba. v. 6, n. 4, p.18178-18184. 2020.

MORI, Scott A. A família da castanha-do-Pará: símbolo do Rio Negro. **Florestas do Rio Negro**, p. 119-142, 2001.

NOGUEIRA, M. L. *fitotoxicidade e citotoxicidade de extratos de schinus molle l. (anacardiaceae) em lactuca sativa l.* 2014. 56f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas. Alfenas.

OLIVEIRA, A. K. M. et al. Potencial alelopático de folhas frescas de bacupari (*Rheedia brasiliensis* (Mart.) Planch. & Triana) na germinação de alface. **Revista brasileira biociência**. Porto Alegre. v. 9, n. 4, p. 550- 553. Out/Dez. 2011.

OLIVEIRA, Gustavo Silva et al. Exportações brasileiras de castanha-do-Pará (*bertholletia excelsa*, hbk), sob a ótica de concentração de mercado. **BIOFIX Scientific Journal**, v. 5, n. 1, p. 07-12, 2019.

PASSOS, A. M. A. et al. Avaliação de protocolos laboratoriais para bioensaios alelopáticos. *Enciclopédia biosfera centro científico conhecer*. v. 10, n. 19, p. 1746. 2014.

PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y. Sensibilidade de diferentes sementes em ensaio de fitotoxicidade. **Revista brasileira de ciência e inovação**. Uberaba. v. 4, n. 2, p. 200-212. Jul/Set. 2019.

PIRES, N. M. et al. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 55-65, 2001.

RODRIGUES, Fatima; LOPES, Barto Monteiro. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. único, p. 130-136, 2001.

RODRIGUES, Natália Cézari. Alelopatia no manejo de plantas daninhas. **Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João Del Rei como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo**. Sete Lagoas, v. 23, 2016.

ROSADO, L. D. S. et al. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjerição " Maria Bonita" na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

SALOMAO, Rafael de Paiva. Densidade, estrutura e distribuição espacial de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H. & B.) em dois platôs de floresta ombrófila densa na Amazônia setentrional brasileira. **Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi Cienc. Nat.**, Belém , v. 4, n. 1, p. 11-25, abr. 2009 . Disponível em <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-81142009000100002&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 22 maio 2022.

SANTOS, S. C. Caracterização e ranqueamento de cultivares de lactuca sativa L. (asteraceae) e allium cepa L. (alliaceae) na padronização de bioensaios para fitotoxicidade. 2016. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Alfenas. Alfenas.

Scoles, R., Gribel, R., & Klein, G. (2011). Crescimento e sobrevivência de castanheira (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) em diferentes condições ambientais na região do rio Trombetas, Oriximiná, Pará. *Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais*, 6(3), 273-293.

SILVA, E. M. et al. Planejamento fatorial no estudo da fitotoxicidade de extratos de plantas em sementes de alface. *Diversidade jornal*. v. 6, n. 2, p. 2437- 2455. 2021

SILVA, Z. L. Alelopatia e defesa em plantas. (Allélopathie et défense chez les plantes). **Boletim geografico do Instituto brasileiro de geografia Rio de Janeiro**, v. 36, n. 258-259, p. 90-96, 1978.

SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaio para a detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. *Biotema*. v. 26, n. 3, p. 29-36. 2013.

SOUZA, C. S. M. et al. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de Aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista verde**. Mossoró. v. 2, n. 2, p. 96-100. Jul/Dez. 2007.

SPIASSI, Ariane et al. Alelopatia de palhadas de coberturas de inverno sobre o crescimento inicial de milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 577-581, 2011.

TOKURA, Luciene Kazue; NÓBREGA, Lúcia Helena Pereira. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 3, p. 379-384, 2006.

TONINI, Helio; PEDROZO, Cássia Ângelo. Variações anuais na produção de frutos e sementes de Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl., Lecythidaceae) em florestas nativas de Roraima. **Revista Árvore**, v. 38, p. 133-144, 2014.

TORRES, P. et al. *Protocolo para avaliação dos efeitos de extratos sobre germinação e crescimento inicial de alface em microplacas de seis poços*. **Instituto de biociência universidade de São Paulo**. São Paulo. Jul. 2018. ISBN- 978-85-85658-75-5.

WAICHMAN, Andrea Viviana. A problemática do uso de agrotóxicos no Brasil: a necessidade de construção de uma visão compartilhada por todos os atores sociais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, p. 42-47, 2012.