

EMPREGO DE PLANEJAMENTO FATORIAL 2³ COMO ESTRATÉGIA DE OTIMIZAÇÃO PARA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *ANNONA SQUAMOSA*, L.

Érik José Ferreira da Silva¹, Edjane Vieira Pires²,
Cenira Monteiro de Carvalho³, Wagner Roberto de Oliveira Pimentel⁴,
Rodrigo Batista de Oliveira⁵

Resumo: A utilização desenfreada de herbicidas sintéticos podem contribuir para ocorrência de resistência por parte das plantas, poluição do meio ambiente e danos a saúde do homem. Com isso, muitas pesquisas são realizadas, na busca por bioherbicidas de origem vegetal. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar, por meio de um planejamento fatorial 2³, quais condições experimentais favorecem a inibição ou diminuição do desenvolvimento inicial de sementes de *Lactuca sativa* frente os extratos aquosos e etanólicos, obtidos a partir das sementes e folhas de *Annona Squamosa*. Para isso, foram preparados os extratos etanólicos, bem como, extratos aquosos das sementes e das folhas seguindo com a realização dos bioensaios utilizando as sementes de alface, frente aos extratos nas concentrações 50% e 100% em laboratório. Dentre os resultados alcançados, tem-se que as folhas da espécie *A. squamosa* podem apresentar efeito inibitório na germinação das sementes de *Lactuca sativa*, quando o solvente de extração utilizado for etanol (interação 12) e quando a concentração do extrato for mais diluída (50%, interação 13). Ao considerar uma alelopatia de inibição de germinação e desenvolvimento de sementes receptoras, a utilização das folhas de *A. squamosa* para preparação do extratos é mais indicado.

Palavras-chave: Aleloquímicos, Controle de Pragas, Análise Estatística

1 Licenciando em Química pela Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL).

2 Doutora em ciências. Mestra em ciências. Licenciada em Química. Docente da Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL).

3 Doutora em ciências. Mestra em agronomia. Graduada em Zootecnista. Docente do Instituto Federal de Alagoas (IFAL).

4 Doutor em engenharia química. Mestre em engenharia química. Graduado em engenharia química. Docente do Instituto Federal de Alagoas (UFAL).

5 Licenciando em Química pela Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL).

INTRODUÇÃO

Determinada planta é considerada invasora ou daninha quando provoca uma interferência negativa em uma determinada atividade humana (SILVA; SILVA, 2007).

Essas espécies daninhas comprometem a produtividade das diferentes culturas de interesse comercial e por isso são utilizados herbicidas, isto é, substâncias químicas que agem eliminando ou, no mínimo, dificultando o desenvolvimento dessas espécies (ROMAN *et al.*, 2007). Porém Bessa, Terrones e Santos (2010) destacam os efeitos impactantes dos compostos sintéticos (Herbicidas) utilizados na agricultura convencional, através de estudos que demonstram os danos bioacumulativos no meio ambiente.

Já existem relatos de algumas espécies de plantas que adquiriram resistência a estes constituintes, essa resistência é notada quando as plantas apresentam capacidade de sobrevivência e propagação após a exposição a doses letais dos herbicidas convencionais (LEAL *et al.*, 2012). Segundo HEAP, (2020) existem 519 casos únicos de ervas daninhas resistentes a herbicidas em todo o mundo, com 263 espécies (152 dicotiledôneas e 111 monocotiledôneas) resistentes a 167 herbicidas diferentes relatadas em 94 safras em 71 países.

A busca de defensivos naturais que não apresentem os inconvenientes dos herbicidas sintéticos é de fundamental importância, visando minimizar o impacto ambiental causado por essas atividades (SOUZA FILHO *et al.*, 2006). Diante da necessidade crescente de controles alternativos e naturais, esta busca torna-se outro fator que atualmente impulsiona a pesquisa focada na alelopatia.

A aplicação da alelopatia no desenvolvimento do manejo não químico de ervas daninhas pode ser vista através do uso de plantas de cobertura alelopáticas, aleloquímicos como herbicidas naturais e cultivares de plantas alelopáticas (BHOWMIK; WESTON; DUKE 2003). Segundo Fujii e Hiradate (2005), a alelopatia está se tornando um campo importante e muito útil atualmente na agricultura natural com ou sem uso limitado de agroquímicos artificiais como herbicidas, inseticidas e fungicidas.

Muitos compostos derivados, como os metabólitos secundários, são utilizados como referência em programas de síntese na obtenção de novos herbicidas e permitem o estudo do seu modo de ação (COPPING; DUKE, 2007). Estes oferecem diversos benefícios, como maior especificidade para a planta-alvo, rápida degradação e redução no uso de agrotóxicos, sendo considerados economicamente e ambientalmente viáveis (BAQUE *et al.*, 2012, CORDEAU *et al.*, 2016).

A fruta do conde (*Annona squamosa*, L.), também conhecida como pinha, ata ou araticum é uma anonácea pertencente à família das Annonaceae, originária da Ilha de Trindade e das Antilhas. No estudo realizado por Brito *et al.*, (2008), foi possível a identificação a partir do extrato etanólico das folhas de *A. squamosa*, a presença de alcaloides, flavanoides, flavononas, triterpenoides,

esteroides, flavonas, flavonóis, xantonas, saponinas, taninos e resinas. As sementes geralmente são descartadas, entretanto estas apresentam em sua composição substâncias chamadas acetogeninas, que apresentam diversas atividades biológicas, entre elas o potencial antioxidante e antimicrobiano (TU *et al.*, 2016).

As técnicas estatísticas são eficientes ferramentas que dão suporte na tomada de decisão. Sendo assim o planejamento fatorial é utilizado para se obter as melhores condições operacionais de um sistema, realizando-se um número menor de experimentos quando comparado com o método univariado (MONTGOMERY, 2004).

Com isso, o objetivo do presente trabalho é avaliar a capacidade alelopática dos extratos aquosos e etanólicos das folhas e sementes de *A. squamosa*, através do planejamento fatorial 2³, afim de indicar a existência de biomoléculas promissoras para atuarem como bioherbicida.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Preparo dos extratos aquosos e etanólicos

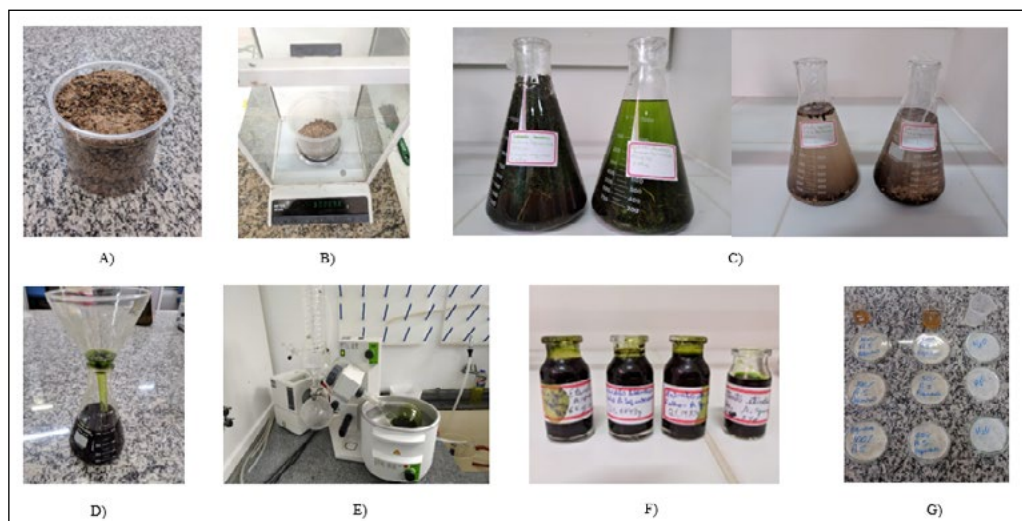
O material vegetal, representado pelas folhas e sementes da espécie *A. squamosa*, foi coletado na zona rural do município de Bom Conselho – PE, onde foram obtidos 1,1 Kg de sementes e 283 g de folhas, logo em seguida o material foi submetido à procedimentos de secagem em luz solar, trituração em mini processador/triturador Oster Chrome (1 velocidade, 125W), pesagem para obtenção de 50 g - para cada parte da planta - em balança analítica a vácuo e submetido a extrações com água destilada e etanol separadamente, o volume e a massa padronizados estão expressos na Tabela 1, os recipientes contendo o material vegetal submerso em seus respectivos solventes foram lacrados e colocados em repouso por sete dias em temperatura ambiente, após esse período os extratos passaram por filtração, os extratos etanólicos tiveram que ser concentrados em rotaevaporador rotatório a uma temperatura de 40°C para obtenção do extrato bruto, posteriormente o material obtido foi transferido para vidros de penicilina e levados a capela para uma secagem ainda mais eficaz, após isso, foram realizados os bioensaios de germinação. Todos os procedimentos relatados acima estão representados na Figura 1.

Tabela 1- Massa e volume do material utilizado no preparo das extrações.

Parte da planta	Massa do material (g)	Solvente aquoso (mL)	Solvente etanólico (mL)
Folhas	50,0	1.000	1.000
Sementes	50,0	1.000	1.000

Fonte: Autores (2021).

Figura 1: Procedimentos realizados para preparação dos extrato.



(A – Trituração; B – Pesagem; C - Submersão do material vegetal em solvente; D – Filtração; E – Extrato etanólico em rotoevaporador; F – Extrato etanólico bruto obtido; G – Ensaio de germinação.)

Fonte: Autores, 2021.

Preparo das soluções-teste

No preparo das soluções para o extrato etanólico, foi realizada a pesagem de 1,0 g de amostra do extrato bruto etanólico em balança analítica. Logo após, a amostra foi solubilizada e transferida para um balão volumétrico de 250 mL, o volume foi completado com álcool etílico, assim, obtendo-se a concentração 100%. Utilizando a diluição foi obtida também a concentração 50% e a água destilada foi utilizada como controle (0%).

No preparo do material aquoso, logo após a filtração da solução foi obtida a concentração 100% e com o uso da diluição a partir deste extrato padrão, foi obtida a concentração 50% e a água destilada foi usada como controle (0%).

Realização dos bioensaios na germinação e o desenvolvimento das plantas germinadas.

No ensaio de germinação foram utilizadas placas de petri esterilizadas de 9 cm de diâmetro, forradas com um disco de papel-filtro, umedecidos com 5 mL dos referidos tratamentos. Em cada placa foram adicionadas 15 sementes de *Lactuca sativa* (alface), após essa etapa, as placas foram mantidas em temperatura constante (25 °C) e ambiente estéril, durante 7 dias, em condições de igualdade para todas as placas. Após esse período foi feito a contagem de sementes germinadas conforme descrito por Borghetti; Ferreira (2004) e Ferreira; Aquila

(2000), ou seja, quando se tornou visível a protrusão da radícula através do tegumento. Em continuidade, foi realizada a medição do comprimento da raiz e parte aérea, determinantes para avaliar o desenvolvimento da espécie-alvo (*L. sativa*).

Análise Estatística (Planejamento fatorial)

Foi aplicado um planejamento fatorial completo para avaliar três variáveis do ensaio de alelopatia: Parte da Planta, Solvente de extração e Concentrações de Extrato. Estas variáveis foram estudadas em dois níveis, através de um planejamento 2^3 , tendo como respostas as medições de sementes germinadas e desenvolvimento de plântulas e partes aéreas em duplicata. A Tabela 2 apresenta os fatores estudados e seus respectivos níveis. O software MINITAB 18 (Minitab Institute, EUA) foi usado para identificar os efeitos principais e interações mais significativas quando se deseja avaliar o potencial alelopático da espécie. Neste modelo, as interações (12, 13, 23 e também 123) são estudadas com o intuito de detectar as melhores combinações entre os que garantam a otimização dos resultados. No que se refere essas interações, estão relacionadas as junções dos fatores expostos na Tabela 2, onde, para a interação 12 será referente aos fatores parte da planta e solvente de extração, para a interação 13 será a parte da planta e concentração do extrato, para a interação 23 estará relacionada aos fatores solvente de extração e concentração de extrato, já para a interação 123 envolverá todos os fatores.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade utilizando o software SAEG. Procedeu-se juntamente, o teste de distribuição 't' utilizado para se obter um nível de confiança a 95%.

Tabela 2- Fatores estudados e seus respectivos níveis.

FATORES		(-)	(+)
1.	Parte da Planta	Folha	Semente
2.	Solvente de Extração	Etanol	Água
3.	Concentração do Extrato	50%	100%

Fonte: Autores (2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabelas de matriz de planejamento foram formadas para a análise de dados dos resultados envolvendo os extratos aquosos e etanólicos, obtidos a partir das sementes e folhas de *Annona Squamosa* evidenciando as médias de germinação (Tabela 3), comprimentos da raiz (Tabela 4) e parte aérea (Tabela

5) das sementes de *Lactuca sativa* L. A partir de cada matriz de planejamento, os dados obtidos individualmente passaram por um tratamento estatístico e os resultados estão expostos nas tabelas dos efeitos principais e interações da germinação (Tabela 6) e dos crescimentos da radícula (Tabela 7) e hipocótilo (Tabela 8) que tratam da influência que os parâmetros: solvente, parte da planta e concentração do extrato podem exercer na germinação e na expansão da radícula e hipocótilo das sementes de *L. sativa*. Tendo em vista a busca por uma alelopátia de inibição, foram observados os efeitos isolados e em interação que demonstrassem maior influência. Os sinais algébricos referem-se aos níveis e seus respectivos fatores já citados na Tabela 2, onde para o nível negativo temos os fatores parte da planta (folhas), solvente de extração (etanol) e concentração de extrato (50%), já para o nível positivo observou-se os fatores parte da planta (sementes), solvente de extração (água) e concentração de extrato (100%).

Tabela 3- Matriz de planejamento 2³ da espécie *A. squamosa* em relação a germinação das sementes de *L. sativa*.

COEFICIENTES DE CONTRASTE										
Ensaio	1	2	3	12	13	23	123	Rendimento (%)		Média
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	73,33	80,00	76,7
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	86,67	73,33	80,0
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	46,67	33,33	40,0
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	93,33	86,67	90,0
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	53,33	40,00	46,7
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	86,67	93,33	90,0
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	0,00	0,00	0,0
8	1	1	1	1	1	1	1	80,00	80,00	80,0

Fonte: Autores (2021).

Tabela 4- Matriz de planejamento 2³ da espécie *A. squamosa* em relação ao comprimento da raiz das sementes de *L. sativa*.

COEFICIENTES DE CONTRASTE										
Ensaio	1	2	3	12	13	23	123	Comprimento da raiz (mm)		Média
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	13,46	19,45	16,5
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	17,20	19,92	18,6
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1,59	1,82	1,7
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	16,73	12,03	14,4
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	5,65	4,99	5,3

COEFICIENTES DE CONTRASTE										
Ensaio	1	2	3	12	13	23	123	Comprimento da raiz (mm)		Média
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	18,24	23,86	21,1
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	0,00	0,00	0,0
8	1	1	1	1	1	1	1	4,77	4,89	4,8

Fonte: Autores (2021).

Tabela 5- Matriz de planejamento 2³ da espécie *A. squamosa* em relação ao comprimento da parte aérea das sementes de *L. sativa*.

COEFICIENTES DE CONTRASTE										
Ensaio	1	2	3	12	13	23	123	Comprimento da parte aérea (mm)		Média
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	15,07	18,07	16,6
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	23,30	16,72	20,0
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	5,73	7,16	6,4
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	27,16	24,46	25,8
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	10,35	6,95	8,7
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	18,89	21,22	20,1
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	0,00	0,00	0,0
8	1	1	1	1	1	1	1	8,22	12,33	10,3

Fonte: Autores (2021).

Os seguimentos obtidos neste trabalho apresentaram condições favoráveis a germinação e ao desenvolvimento inicial, sendo assim, devem ser considerados resultados aos quais representariam premissas que estimulem a inibição. A exemplo, considere um extrato aquoso favorecendo em 10% (supostamente tabelado) uma maior germinação, quando comparado ao extrato etanólico. Isso indica que deve-se optar pelo uso do extrato etanólico, que não levaria a esse favorecimento. A interpretação dos resultados usada nesta análise (referente ao percentual de germinação) será a mesma para a interpretação dos resultados sobre o comprimento da raiz e parte aérea. A seguir, serão discutidos os resultados expostos na Tabela 6 acerca da difusão de sementes de alface.

Tabela 6- Resultados dos efeitos principais e interações da espécie *A. squamosa* em relação a germinação das sementes de *L. sativa*.

Resultados dos Efeitos e Interações	
Média	
63,916 ± 1,61	
Efeitos e Interações	Efeitos Principais
1 (parte da planta)	44,168 ± 3,23
2 (Solvente de extração)	-20,833 ± 3,23
3 (Concentração do extrato)	-17,500 ± 3,23
Interações de Dois Fatores	
12	20,833 ± 3,23
13	17,500 ± 3,23
23	-7,50 ± 3,23
Interações de Três Fatores	
123	-2,500 ± 3,23

Fonte: Autores (2021).

Nota-se que o efeito principal 1 (parte da planta) foi o que mais influenciou para uma maior germinação das sementes de *L. sativa* (Tabela 6), de modo que, há uma difusão 44,2% maior ao utilizar o extrato da semente de *A. Squamosa*. Desta forma, o uso do extrato foliar é indicado para inibir essa germinação comparativamente. A interação 12 (parte da planta e solvente de extração) proporcionou uma melhor condição de germinação das sementes receptoras com cerca de 20,8%, ou seja, o extrato aquoso da semente leva a uma maior germinação comparada ao extrato etanólico da folha, devido a este estímulo observado pelas sementes da espécie, recomenda-se o uso do extrato etanólico foliar para um possível resultado de inibição na espécie receptora. Na maioria das espécies, o efeito alelopático é mais evidente quando utilizados extratos de folhas (SOUZA FILHO *et al.*, 1997; SOARES; VIEIRA, 2000; GATTI *et al.*, 2004;). Esses resultados diferem com o trabalho realizado por Inoue *et al.* (2009), onde o extrato aquoso das sementes de *Annona crassiflora* espécie do mesmo gênero da *A. Squamosa* foi responsável por inibir significativamente a germinação de *Brachiaria brizantha* (espécie de planta infestante) quando comparada as outras partes da planta utilizadas. Ao comparar as partes de *Annona crassiflora* (folhas, ramos e sementes), verificou-se que extratos provenientes das sementes apresentaram maior potencial aleloquímico (SANTANA *et al.*, 2007). No trabalho de Andreani Junior *et al.*, (2018) o extrato aquoso foliar de *Annona muricata* não mostrou efetividade na germinação de nenhuma das espécies receptoras. Já no trabalho de Matsumoto (2009), o extrato aquoso foliar de *Annona Glaba* inibiu significativamente a germinação de *Lactuca sativa* e *Sesamum indicum*.

O fato do extrato das sementes neste trabalho não apresentarem uma inibição maior em relação ao extrato das folhas, pode estar possivelmente relacionado ao fato que um dado composto químico tem efeito inibitório ou estimulante, dependendo da concentração do mesmo no ambiente (GOLDFARB *et al.*, 2009). Aparentemente, a maior parte, senão todos os compostos orgânicos que são inibitórios em alguma concentração, são estimulantes quando presentes em outras concentrações (RICE, 1984). Outro fator que supostamente explicaria a diferença dos resultados obtidos neste trabalho com outros citados anteriormente é a espécie receptora utilizada, pois diferenças de sensibilidade entre espécie-alvos são comuns em trabalhos verificando alelopatia (DELACHIAVE *et al.*, 1999; HOFFMANN *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008).

As propriedades físico-químicas do solvente têm influência sobre a quantidade de compostos extraídos do material, em geral, os compostos fenólicos (classe comumente associada a alelopatia) são mais facilmente extraídos em solventes orgânicos menos polares que a água (HAMINIUK *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2008). Muitos processos biológicos podem estar diretamente relacionados com a solubilidade das substâncias orgânicas, uma vez que essas podem ser apolares ou fracamente polares e portanto lipossolúveis, ou se apresentar polares - com possibilidade de formação das ligações de hidrogênio - o que as tornam altamente solúveis na fase aquosa (MARTINS; LOPES; ANDRADE, 2013). Corroborando com as citações acima, no trabalho de Novaes *et al.*, (2016) os extratos etanólicos das folhas e cascas de quatro espécies da família *annonaceae* (*Xylopia aromatica*, *Duguetia furfuracea*, *Annona coreacea* e *Annona crassiflora*) conseguiram inibir a germinação das espécies receptoras que foram o alface, tomate e cebola. Já no trabalho de Hirata *et al.*, (2018) o extrato aquoso das folhas de *Annona muricata* foi responsável por inibir as sementes de *Megathyrsus maximus* e reduzir a porcentagem de germinação das sementes de *Bidens pilosa* L.

A interação 13 (parte da planta e concentração de extrato) promoveu resultado semelhante ao efeito principal 3 (também com 17,5%), porém, a mesma indicou que o uso de um extrato das sementes em concentração 100% obteve melhores resultados de germinação analoga à uma extração utilizando folhas e uma concentração à 50%, sendo assim, adotando resultados que indiquem um efeito inibitório, o uso de extratos das folhas a uma concentração 50% podem apresentar inibição frente a espécie receptora. Nos resultados dos bioensaios de germinação de *Brachiaria brizantha*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* realizado com extratos hidroalcolólicos das folhas de *Annona coreacea* indicaram que independente da concentração utilizada as mesmas apresentaram efeito inibitório sobre a germinação das sementes em relação à testemunha (SILVA *et al.*, 2009). Já nos achados de Adesipo *et al.*, (2017) o extrato metanólico da parte aérea da espécie *Annona senegalensis* foi responsável pela inibição nas sementes das espécies-alvo, o resultado mostrou que quanto maior a concentração do

extrato, maior a concentração do percentual de inibição da germinação da semente.

Neste sentido, o percentual de germinação das sementes de *L. sativa* sofreu inibição com o uso do extrato da espécie *A. squamosa*, com um índice de germinação entre 60-65% (Tabela 6), isso pode estar relacionado ao fato da mesma apresentar em sua composição substâncias como os flavonoides e algumas de suas subclasses (flavonas, flavononas e flavonóis) e também os taninos (BRITO *et al.* 2008). Os flavonoides são os compostos naturais mais presentes nas plantas e apresentam efeitos alelopáticos capazes de inibir a germinação e o crescimento de plantas (HOAGLAND; WILLIAMS, 2004; BAIS *et al.*, 2006; BUER; DJORDEVIC, 2009; FRANCO *et al.*, 2016). Essas, entre outras substâncias pertencem a classe dos compostos fenólicos, que são as substâncias químicas mais comumente associadas com o efeito alelopático (TAIZ; ZEIGER, 2013; SHAHIDI; NACZK, 1995; LARCHER, 2000).

A seguir têm-se as discussões dos resultados expostos na Tabela 7 em relação ao comprimento da radícula das sementes de *L. sativa*.

Tabela 7- Resultado dos efeitos principais e interações da espécie *A. squamosa* em relação ao comprimento da raiz das sementes de *L. sativa*.

Resultados dos Efeitos e Interações	
Média	
10,288 ± 0,62	
Efeitos e Interações	Efeitos Principais
1 (parte da planta)	8,835 ± 1,23
2 (solvente de extração)	-10,118 ± 1,23
3 (concentração de extrato)	-4,975 ± 1,23
Interações de Dois Fatores	
12	-0,083 ± 1,23
13	1,445 ± 1,23
23	-0,65 ± 1,23
Interações de Três Fatores	
123	-5,368 ± 1,23

Fonte: Autores (2021).

Observa-se que o efeito principal 2 (solvente de extração) foi o que mais influenciou no desenvolvimento da raiz (Tabela 7), cerca de 10,1 mm, o mesmo indica que o etanol ao ser utilizado como solvente extrator apresentou um maior crescimento da raiz em comparação ao se utilizar a água, sendo assim, é indicado o uso do solvente aquoso para um melhor efeito inibitório. No trabalho de Borella *et al.*, (2010), os extratos aquosos das folhas (frescas e secas) de *Rolinnia sylvatica* (Annonaceae) foram capazes de inibir significativamente

o comprimento da radícula das plantulas de *Raphanus sativus* L. corroborando com o resultado aqui encontrado.

A interação 13 (parte da planta e concentração do extrato) foi a única entre as interações a apresentar resultados relevantes, uma vez que, esta interação aponta o uso das sementes e uma concentração de extrato menos diluída, ou seja 100%, como estimuladora no aumento de 1,45 mm da raiz das sementes de alface, sendo assim, é recomendado o uso das folhas como parte da planta e um extrato mais diluído (50%) das mesmas para uma possível diminuição de 1,45 mm de comprimento. Estes resultados diferem dos achados por Inoue *et al.*, (2010) que, ao avaliar o extrato metanólico das sementes de *Annona crassiflora*, observou que em maiores concentrações o extrato foi capaz de inibir o crescimento da raiz das sementes de *Brachiaria brizantha*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*.

A interação entre os três fatores (123) se mostrou relevante, estima-se que, ao se utilizar as folhas como parte da planta, o etanol como solvente de extração e uma concentração de extrato a 50%, estaria estimulando um adiantamento de 5,37 mm da raiz, sendo assim, é recomendado o uso de um extrato aquoso das sementes a uma concentração 100% para uma possível inibição. Os resultados de Macedo Martins (2012) não corroboram com os encontrados neste trabalho, onde foi observado que, o extrato etanólico das folhas de *Xylopia sericea* (Annonaceae) conseguiu reduzir o crescimento da raiz das sementes de *Allium cepa* a partir do aumento da concentração do extrato.

Finalizando, a seguir serão discutidos os resultados expostos na Tabela 8 em relação ao comprimento da parte aérea das sementes de *L. sativa*.

Tabela 8- Resultado dos efeitos principais e interações da espécie *A. squamosa* em relação ao comprimento da parte aérea das sementes de *L. sativa*.

Resultados dos Efeitos e Interações	
Média	
13,477 ± 0,61	
Efeitos e Interações	Efeitos Principais
1 (parte da planta)	11,121 ± 1,22
2 (solvente de extração)	-5,689 ± 1,22
3 (concentração de extrato)	-7,464 ± 1,22
Interações de Dois Fatores	
12	3,699 ± 1,22
13	-0,281 ± 1,22
23	-3,53 ± 1,22
Interações de Três Fatores	
123	-4,264 ± 1,22

Fonte: Autores, (2021).

O efeito principal 1 (parte da planta) foi o mais influente, o uso das sementes ocasionaram um aumento no comprimento da parte aérea das sementes de alface em cerca de 11,1 mm maior que ao se utilizar as folhas, sendo assim, ao se utilizar folhas como parte da planta, a parte aérea das sementes de alface poderiam sofrer uma redução de 11,1 mm. Os resultados de Silva *et al.* (2015), corroboram com os encontrados aqui, onde ao avaliar o extrato hidrometanólico e frações das folhas da espécie *Annona nutans*, conseguiram inibir o desenvolvimento do hipocótilo das sementes de *Allium cepa* e *Lactuca sativa*.

A interação 12 (parte da planta e solvente de extração) foi a mais significativa, mostrou que ao se utilizar um extrato de sementes em solvente aquoso ocasionaria um aumento de 3,7 mm maior que ao se utilizar uma extração de folhas em solvente etanólico, diante disso, recomenda-se o uso de folhas em solvente etanólico para uma possível redução na parte aérea da espécie receptora. No trabalho de Inoue *et al.*, (2009), os extratos aquosos de partes da espécie *Annona crassiflora* (sementes, folhas e ramos) afetaram o desenvolvimento da parte aérea de *Brachiaria brizantha*, porém, os extratos provenientes das folhas apresentaram efeito menos significativo quando comparado as outras partes da planta, apresentando resultados diferentes dos encontrados aqui.

A interação 23 (solvente de extração e concentração de extrato) também se mostrou relevante, observa-se que utilizando o solvente etanólico e uma concentração menos diluída (50%) ocasionou um aumento em cerca de 3,5 mm maior quando comparado a utilização de solvente aquoso e uma concentração 100%, sendo assim, o uso de um solvente aquoso em concentração 100% ocasionaria uma redução de 3,5 mm no comprimento da parte aérea das sementes de alface. Estes, corroboram com os resultados encontrados por Borella *et al.*, (2010), ao avaliar os extratos aquosos das folhas (secas e frescas) de *Rolinnia sylvatica* (Annonaceae), os extratos em altas concentrações reduziram significativamente o comprimento do hipocótilo das plântulas de *Raphanus sativus* L.

A interação entre três fatores (123) apresenta resultado relevante, a utilização de um extrato etanólico das folhas a uma concentração diluída (50%) promove um aumento de 4,3 mm maior que a utilização de um extrato aquoso das sementes a uma concentração 100%, com isto, é recomendado o uso de um extrato aquoso das sementes a uma concentração 100% para se obter uma redução no comprimento da parte aérea das sementes de alface. Discordando apenas na parte da planta utilizada, os resultados de Islam *et al.*, (2018) ao avaliar extratos de 55 espécies de plantas dentre elas *Annona muricata* e *Miliusa roxburghiana* pertencentes a família annonaceae, os extratos aquosos em altas concentrações a partir das folhas das espécies foram capazes de inibir significativamente o comprimento da parte aérea de *Raphanus sativus*.

CONCLUSÕES

As folhas da espécie *A. squamosa* podem apresentar efeito inibitório na germinação das sementes de *Lactuca sativa*, quando o solvente de extração utilizado for etanol (interação 12) e quando a concentração do extrato for mais diluída (50%, interação 13). Os efeitos principais 2 e 3 indicam que o solvente aquoso e uma concentração 100%, respectivamente, podem favorecer a inibição da espécie-alvo.

Estima-se que, o extrato aquoso apresentou melhor efeito inibidor do crescimento da raiz, em comparação com o extrato etanólico (fator 2), podendo ser utilizado quando a parte da planta for as sementes de *A. squamosa* e a concentração do extrato for 100% (interação 123), a interação 13 apontou que as folhas como parte da planta e uma concentração mais diluída podem apresentar redução no desenvolvimento das raízes.

A interação 23 se mostrou promissora, indicando o uso de um solvente aquoso em concentração 100% como inibidor do aumento do comprimento da parte aérea, estes parametros interagindo com as sementes como parte da planta poderiam acentuar ainda mais esse efeito inibidor (interação 123). O efeito principal 1 aponta que ao utilizar folhas como parte da planta também poderia haver uma diminuição no comprimento da parte aérea, assim como o uso de um solvente etanólico aliado a essa parte da planta (interação 12).

REFERÊNCIAS

ADESIPO, A. *et al.* Inhibitory Effect of Methanolic Extract of *Annona senegalensis* against Seed Germination and Seedling Growth of Four Selected Seeds. *JOURNAL of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, v. 21, n. 4, p. 82-87, 2017.

ALMEIDA, L. F. R. *et al.* In vitro allelopathic potential of *Leonurus sibiricus* L. leaves. *Journal of Plant Interactions*, v. 3, n. 1, p. 39-48, 2008.

ANDREANI JUNIOR, R.; OTERO, M.; SILVA, M. Efeito de extratos vegetais aquosos sobre a germinação de plantas daninhas. *Enciclopédia Biosfera*, v. 15, n. 27, 2018.

BAIS, H. P., *et al.* The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, v. 57, p. 233-266, 2006.

BAJWA, A. A. *et al.* Biologia e manejo de duas importantes plantas daninhas Conyza: uma revisão global. *Ciência Ambiental e Pesquisa de Poluição*, v. 23, n. 24, p. 24694-24710, 2016.

BAQUE, M. A. *et al.* Produção de biomassa e compostos úteis a partir de raízes adventícias de plantas medicinais de alto valor agregado usando biorreator. *Biotechnology Advances*, v. 30, n. 6, p. 1255-1267, 2012.

BESSA, T.; TERRONES, M. G. H.; SANTOS, D. Q. Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus*. **Rev. Floresta Amb.**, v. 17, p. 52-55, 2010.

BHOWMIK, P. C.; INDERJIT. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. **Crop Prot.**, v. 22, p. 661-671, 2003.

BORELLA, J.; TUR, C. M.; PASTORINI, L. H. Atividade alelopática de extratos aquosos de folhas de *Rollinia sylvatica* sobre a germinação e crescimento inicial do rabanete. **Revista Biociências**, v. 16, n. 2, 2010.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Germinação: do básico ao aplicado. **Artmed**, 2004.

BRITO, H. O. *et al.* Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 89, n. 3, p. 180-184, 2008.

BUER, C. S. & DJORDJEVIC, M. A. Architectural phenotypes in the transparent test a mutants of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 751-763, 2009.

COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, v. 63, p. 524-554, 2007.

CORDEAU, S. *et al.* Bioherbicidas: mortos na água?: uma revisão dos produtos existentes para o manejo integrado de ervas daninhas. **Crop Protection**, v. 87, n. 1, p. 44-49, 2016.

DELACHIAVE, M. E. A.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Efeitos alelopáticos de losna (*Artemisia absinthium* L.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 265-9, 1999.

FERREIRA, A. G. Interferência: Competição e Alelopatia.. In: Ferreira, A.G. & Borghetti, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre, **Artmed Editora**, p. 251-262, 2004.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **R. Bras. Fisiol. Vegetal**. 12 (edição especial): 175-204, 2000.

FRANCO, D. M., *et al.* Seasonal variation in allelopathic potential of the leaves of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 157-165, 2016.

FUJII, Y.; HIRADATE, S. Allelopathy, new concepts and methodology. **Science Publisher, Inc.** Enfield, NH, USA, p. 382, 2005.

GALVÃO, R. O. **Aplicação de um planejamento fatorial na recuperação da liga metálica (FeSiMn) de escória empregando-se a mesa oscilatória Wilfley**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GATTI, A. B., *et al.* Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasileira**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GOLDFARB M.; PIMENTEL L. W.; PIMENTEL N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, p. 23-28, 2009.

HAMINIUK, C. W. I., *et al.* Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2862-2866, 2014.

HEAP, I. 2020. **The International Herbicide-Resistant Weed Database**. Conectados. Disponível em: www.weedscience.org acesso em: 25 de fevereiro de 2021.

HIRATA, D. B. *et al.* Efeito alelopático do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* e extrato de *Annona muricata* na germinação de *Bidens pilosa* e *Megathyrus maximus*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 712-728, 2018.

HOAGLAND, R. E. & WILLIAMS, R. D. Bioassays-useful tools of the study of allelopathy. In: MACIAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CUTLER, H. G. (Eds.) **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**. Boca Raton, CRC Press. p. 315-41, 2004.

HOFFMANN, C. E. F. *et al.* Atividade alelopática de *Nerium Oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca Sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 6, n. 1, p. 11-21, 2007.

INDERJIT, *et al.* The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. **Trends Ecol Evol.**, v. 26, p. 655-662, 2011.

INOUE, M. H. *et al.* Potencial alelopático de *Annona crassiflora*: efeitos sobre plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 28, n. 3, p. 489-498, 2010.

INOUE, M. H. *et al.* Extratos aquosos de *Xylopiá aromática* e *Annona crassiflora* sobre capim-marandu (*Brachiaria brizantha*) e soja. **Sci. Agr.**, v. 10, n. 3, p. 245-250, 2009.

ISLAM, A. K. M. M. *et al.* Explorando 55 espécies de plantas medicinais tropicais disponíveis em Bangladesh por sua possível potencialidade alelopática. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 63, n. 1, pág. 99-107, 2018.

LARCHER, W. Ecofisiologia Vegetal. São Carlos, **Rima Artes e Textos**. p. 531, 2000.

LEAL, U. A. S., SILVA, G. N., KARAM, D. Otimização Dinâmica Multiobjetivo da Aplicação de Herbicida Considerando a Resistência de Plantas Daninhas. **Biomatemática**, v. 22, p. 1-16, 2012.

MACEDO MARTINS, F. M. **Estudo da Influência de Fatores Ambientais na Composição Química e Atividades Biológicas de *Xylopiá sericea* St. HiII**. 2012.

Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical (Ecologia), Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus – ES, 2012.

MACÍAS, F. A. *et al.* Allelopathy - a natural alternative for weed control. **Pest Manag Sci.**, v. 63, p. 327–348, 2007.

MACÍAS, F. A. *et al.* The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. **J Crop Prod.**, v. 4, p. 237–255, 2001.

MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Em Alelopatia: interações químicas entre espécies. YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Chapecó: **Moderna**, 2001.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. D. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química nova**, v. 36, n. 8, p. 1248 – 1255, 2013.

MATSUMOTO, R. S. **Influência das inundações na distribuição de espécies arbóreas ao longo do Rio Massaguaçu (Caraguatatuba, São Paulo, Brasil), e potencial alelopático de *Annona glabra* L.** 2009. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2009.

MONTGOMERY, D. C. Introdução ao Controle Estatístico da Qualidade. 4ª ed. **Rio de Janeiro: Editora LTC**, p. 95-108, 2004.

NOVAES, P.; TORRES, P. B.; DOS SANTOS, D. Y. A. C. Biological activities of Annonaceae species extracts from Cerrado. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 1, p. 131-137, 2016.

OLIVEIRA, A. K. M. *et al.* **Alelopatia e seu potencial na formulação de bioherbicidas.** Reitoria da Universidade Anhanguera Uniderp, p. 89-104, 2017.

OLIVEIRA, M. N. S., *et al.* Efeitos alelopáticos de extratos aquoso e etanólico de jatobá do cerrado. **Unimontes Científica**, v. 4, n. 2, p. 143-152, 2008.

RICE, E. L. Allelopathy. **Academic Press**, London, 1984.

RODRIGUES, M. I., IEMMA, A. F., Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos, 2. ed. Campinas: **Casa do Pão Editora**, 2009.

ROMAN, E. E. *et al.* Como funcionam os herbicidas da biologia à aplicação. São Paulo: **Berthier**, 2007.

SANTANA, D. C. *et al.* Potencial alelopático de extratos aquosos de *Annona crassiflora*: efeitos sobre *Brachiaria brizantha* e *Glycine max*. **Rev. Bras. de Agroecologia/out**, v. 2, n. 2, p. 877, 2007.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, E. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 1-2, p. 129-137, 2000.

- SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster, **Technomic**. p. 331, 1995.
- SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, v. 1, p. 55-56, 2007.
- SILVA, B. A. S., *et al.* Investigação da Atividade Alelopática de *Annona coreacea* e *Annona dioica* sobre *Brachiaria brizantha*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 1, 2009.
- SILVA, N. L. *et al.* Constituintes químicos e atividade fitotóxica das folhas de *Annona nutans*. **Quim. Nova**, v. 38, n. 5, p. 640-644, 2015.
- SOARES, G. L. G., VIEIRA, T. R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. "Grand rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 180-197, 2000.
- SOUZA FILHO, A. P. S. *et al.* Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 165-170, 1997.
- SOUZA FILHO, A. P. S. *et al.* Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta daninha**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; PEREIRA, A. A. G.; BAYMA, J. C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 25-32, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5ª ed. Porto Alegre, **Artmed**. p. 954, 2013.
- TU, W. S. *et al.* Isolation, characterization and bioactivities of a new polysaccharide from *Annona squamosa* and its sulfated derivative. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 287-296, 2016.
- WESTON, L. A.; DUKE, S. O. Weed and crop allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, p. 367-389, 2003.