

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS AQUOSOS SOBRE A GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO PICÃO-PRETO E ALFACE

ALLELOPATHIC POTENTIAL OF AQUEOUS EXTRACTS ON THE GERMINATION AND DEVELOPMENT OF BLACK JACK AND LETTUCE

Raissa Aparecida de Almeida Zorzi¹

¹Faculdades Integradas de Bauru-FIB, Brasil, Rua José Santiago, quadra 15, Jardim Ferraz.
E-mail: raissa.ap33@gmail.com

Marina Lais Sabião de Toledo Piza²

²Faculdades Integradas de Bauru-FIB, Brasil, Rua José Santiago, quadra 15, Jardim Ferraz.
E-mail: marinalstpiza@gmail.com

Tais Santo Dadazio³

³Faculdades Integradas de Bauru-FIB, Brasil, Rua José Santiago, quadra 15, Jardim Ferraz.
E-mail: tais.dadazio@hotmail.com

RESUMO

Alelopácia representa um fenômeno natural que pode interagir de forma positiva ou negativa com outras plantas, desempenhando um papel crucial na dinâmica dos ecossistemas naturais e agrícolas, dentro deste contexto, os aleloquímicos de muitas espécies podem ser considerados matérias-primas para o desenvolvimento de herbicidas orgânicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extrato aquoso sobre a germinação e crescimento de picão-preto (*Bidens pilosa*) e alface (*Lactuca sativa*). Os testes foram conduzidos em laboratório de microbiologia da FIB, realizado em cinco tratamentos com extratos diferentes, utilizando cinco repetições para a alface e cinco para o picão-preto as caixas gerbox continham 50 sementes de cada espécie, delineamento foi inteiramente casualizado. Foram utilizados os seguintes tratamentos: T1 testemunha utilizando apenas água destilada, T2 capim limão, T3 alecrim, T4 eucalipto e T5 leucena. Os parâmetros avaliados foram o percentual de germinação, altura de planta, comprimento de folhas, comprimento de raiz, massa total das plântulas, massa foliar e massa radicular, as análises foram realizadas através do teste de Tukey a 5%, utilizando-se o software Sisvar. Os resultados demonstraram alelopatia com nível inibitório mais elevado para o alecrim e sequencialmente o extrato de eucalipto. Já o capim limão e a leucena apresentaram alelopatia ao ser comparados com a testemunha, porém, inferior aos outros dois tratamentos.

Palavras-Chave: Alelopácia, Capim-limão, Alecrim, Eucalipto, Leucena

ABSTRACT

Allelopathy represents a natural phenomenon that can interact positively or negatively with other plants, playing a crucial role in the dynamics of natural and agricultural ecosystems. Within this context, the allelochemicals of many species can be considered raw materials for the development of organic herbicides. This study aimed to evaluate the effect of aqueous extract on the germination and growth of *Bidens pilosa* (blackjack) and *Lactuca sativa* (lettuce). The tests were conducted in the microbiology laboratory of FIB, with five treatments using different extracts, and five repetitions for lettuce and five for blackjack. Germination boxes contained 50 seeds of each species, and the design was completely randomized. The tests were conducted with T1 as the control using only distilled water, T2 with lemongrass, T3 with rosemary, T4 with eucalyptus, and T5 with lead tree. The parameters evaluated included

germination percentage, plant height, leaf length, root length, total seedling mass, leaf mass, and root mass. Analyses were performed using Tukey's test at a 5% significance level with the Sisvar software. The results demonstrated higher inhibitory allelopathy levels for rosemary, followed by eucalyptus extract. Lemongrass and lead tree showed allelopathy compared to the control, although, it was inferior to the other two treatments.

Keywords: Allelopathy, Lemon Grass, Rosemary, Eucalyptus, Leucaena

1 INTRODUÇÃO

Qualquer efeito direto ou indireto podendo ser benéfico ou danoso através das interações de uma planta ou micro-organismos sobre outra, por intermédio de compostos químicos liberados no ambiente é chamado de alelopatia (Rice, 1979). O termo alelopatia foi definido por Molisch em 1937 sendo direcionadas às interações bioquímicas que inibem ou estimulam espécies vegetais. As plantas, possuem a capacidade de liberar no meio compostos que podem impedir ou estimular o desenvolvimento e germinação de outras espécies, seja liberando substâncias da raiz, parte aérea ou decomposição do material vegetal (Lorenzi, 2000).

Sabe-se que as plantas daninhas interferem nas culturas seja pela competição direta pelos recursos do meio como água, luz e nutrientes causando reduções na produção, ou ainda de maneira indireta, como hospedeiros alternativos de pragas e doenças e prejudicando a colheita (Carvalho, 2013). Dentre elas destaca-se o picão-preto (*Bidens pilosa*), que se encontra disseminada em todo o Brasil, presente em plantas anuais e perenes, que compete com a cultura causando grandes perdas econômicas, e também hospeda pragas e doenças (Ferreira; Souza; Faria, 2006).

Tradicionalmente seu controle é realizado de maneira química, no entanto, há vários genótipos de *Bidens* spp. resistentes a herbicidas, tornando essa espécie ainda mais problemática (Vidal; Fleck, 1997), não somente pelos danos causados, mas também pela dificuldade de controle. Assim, se faz necessário o estudo de outras técnicas para controle dessa daninha, como possíveis plantas com potencial alelopático.

Para determinar o efeito alelopático de uma espécie sobre outra, tem-se utilizado extratos aquosos e a água como solvente, em testes em casa-de-vegetação ou estufas (França *et al.*, 2008). Além disso, algumas plantas mostram-se mais sensíveis que outras, como a alface (*Lactuca sativa L.*), que é conhecida como planta bioindicadora, uma vez que apresenta um uniforme e rápida germinação, e sua sensibilidade permite expressar os resultados de testes até mesmo com baixas concentrações das substâncias alelopáticas (Gabor; Veatch, 1981; Ferreira; Áquila, 2000).

Muitos estudos tem sido conduzidos nessa linha para manejo do picão-preto, com diferentes extratos, como o eucalipto (Souto; Gonzales; Reigosa, 1994); mucuna (Balbinot-Junior, 2004); leucena (Peron; Bonini, 2012) e a escova-de-garrafa (*Callistemon vimina*) (Ribeiro *et al.*, 2019).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extrato aquoso sobre a germinação e crescimento de picão-preto (*Bidens pilosa*) e alface (*Lactuca sativa*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em condições controladas no laboratório de Microbiologia da FIB, Faculdades Integradas de Bauru, localizada na cidade de Bauru/SP. Para o estudo foi utilizado sementes de alface (*Lactuca sativa L.*) e picão-preto (*Bidens pilosa*).

Inicialmente foram coletadas folhas de capim limão (*Cymbopogon citratus*), alecrim (*Salvia rosmarinus*), eucalipto (*Eucalyptus*) e leucena (*Leucaena leucocephala*), usadas para obtenção dos extratos aquosos em água destilada, sendo previamente secas em estufa de circulação forçada de ar a 40°C durante 48h, após secas passaram pelo processo de Trituração com o auxílio do liquidificador, para a filtragem uma peneira foi utilizada.

O teste foi realizado em caixas gerbox transparentes (11 x 11 cm) que constituíam as parcelas experimentais, higienizadas antes do seu uso com sabão e água e secas naturalmente, após um dia foi passado álcool 70% para garantia da limpeza.

Em seguida foram forradas com 2 folhas de papel mata borrão, previamente autoclavadas à 120° C por uma hora, e umedecidas com volume de solução na quantidade de 2,5 vezes o peso dos papéis, sendo semeadas 50 sementes de cada espécie. Os gerbox foram mantidos em câmara de germinação do tipo BOD com fotoperíodo 12 horas de luz/escuro e temperaturas 20°C (Brasil, 1992).

Os tratamentos foram implantados em delineamento inteiramente casualizados com cinco repetições para cada tratamento, sendo usado os seguintes tratamentos: T1 testemunha (somente água destilada), T2 capim limão, T3 alecrim, T4 eucalipto e T5 leucena.

A taxa de germinação foi verificada a cada 24 horas durante sete dias possibilitando a avaliação da velocidade de germinação, sendo consideradas germinadas todas as sementes que apresentaram 2 mm de protusão radicular (Brasil, 1992). Também foi a avaliado a altura de plantas, comprimento de folhas, comprimento de raiz, através da régua milimetrada; e massa fresca total, massa fresca foliar e massa fresca radicular em gramas, com o auxílio da balança de precisão.

Ao final do experimento, os dados obtidos estiveram submetidos à análise de variação e a comparação entre as médias que foi realizada pelo teste de Tukey a 5%, utilizando-se o software SISVAR.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentados os dados obtidos nas avaliações de sementes de alface submetidas aos diferentes tratamentos, em todos os parâmetros avaliados a alface praticamente não apresentou germinação e não se desenvolveu quando submetida aos tratamentos T3, que diferiu da testemunha e dos demais tratamentos nos parâmetros PSG e MT.

Corroborando com os resultados desse estudo Dorneles *et al.*, (2015) em seu experimento com extrato de folhas frescas de alecrim, também comprovou a inibição no índice de velocidade de germinação do meloeiro (*Cucumis melo L.*), os efeitos inibitórios do alecrim podem ser correspondentes à presença de taninos, que segundo Souza *et al.*, (2005) é um dos compostos secundários responsáveis pela alelopatia de determinadas espécies vegetais.

Tabela 1: Resultados da análise dos extratos aquosos sobre a germinação e desenvolvimento de sementes de alface (*Lactuca sativa*), avaliado os parâmetros: percentual de sementes germinadas (PSG), altura de planta (AP), comprimento de folhas (CF), comprimento de raiz (CR), massa total (MT), massa foliar (MF) e massa radicular (MR).

TRATAMENTOS	PSG	AP (cm)	CF(cm)	CR(cm)	MT(g)	MF(g)	MR(g)
T1	74,0 a	1,94 a	0,24 a	0,62 a	0,008 a	0,003 a	0,0032 a
T2	36,8 c	0,99 b	0,19 a	0,20 b	0,0034 c	0,004 bc	0,0014 bc
T3	1,2 e	0,0006 d	0,0 b	0,0004 b	0,0004 e	0,000 c	0,0004 d
T4	9,2 d	0,002 d	0,0008 b	0,0408 b	0,002 d	0,001 bc	0,001 cd
T5	49,2 b	0,64 c	0,24 a	0,2 b	0,0046 b	0,002 b	0,0018 b
Média geral	34,08	0,71452	0,13416	0,21224	0,00368	0,00128	0,00156
C.V. (%)	6,33	7,02	27,9	80,38	10,87	39,84	26,4

*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O T4 também apresentou baixa PSG diferindo da testemunha e dos demais tratamentos, com baixos índices de desenvolvimento vegetativo, diferindo dos demais tratamentos e da testemunha para AP, CF, CR, MF e MR, mas não diferindo estatisticamente

do T3. Assim, como nesse ensaio Silva *et al.*, 2023 concluíram que os compostos aleloquímicos provenientes do eucalipto influenciam de forma negativa na germinação da alface, sendo que o extrato da folha do eucalipto é o de maior influência.

Com relação à altura de plantas T3 e T4 não se diferem estatisticamente, tiveram um efeito muito inibitório em relação ao comprimento da planta, a inibição da germinação e do crescimento das plantas ocorre devido os compostos alelopáticos que interferem na divisão celular, na permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas (Pessotto; Pastorini, 2007). Como demonstrado nos resultados de Zotéa *et al.*, 2015, em que o comprimento da parte aérea e da raiz de rúcula expostas ao extrato de folhas de alecrim apresentando resultados semelhantes ao T3.

Assim, é possível afirmar que os tratamentos T3 e T4 apresentaram efeito alelopático na germinação e desenvolvimento da alface, para os demais tratamentos T2 e T5, também houve um efeito inibitório, porém, em menor escala.

O T2 por sua vez ainda apresenta resultados inibitórios significativos, causando reduções na PSG, diferindo estatisticamente da testemunha. Divergindo dos resultados encontrados Lima *et al.* (2009), demonstraram que a solução aquosa de capim-limão sobre sementes de corda-de-viola não influenciou no processo de germinação, entretanto, o tempo e a velocidade média de germinação apresentaram divergências.

Em contrapartida o T5 apresentou a taxa com maior germinação ao ser comparada dentre estes tratamentos, indicando um baixo nível de aleloquímicos, mas diferindo estatisticamente da testemunha. Com relação ao comprimento de raiz todos os tratamentos se diferiram da testemunha demonstrando o efeito de inibição, mesmo que em menor escala, mas não se diferiram estatisticamente entre si apresentando resultados semelhantes.

Como pode ser visto na tabela 2, todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha nos parâmetros avaliados, em menor ou maior escala. O T3 e T4 inibiram por completo a germinação do picão-preto. Bem como comprovado nesse estudo, Fortes *et al.* (2009) constataram que o extrato de capim-limão inibiu a germinação de picão-preto.

Diferindo do encontrado nesse estudo Ferreira *et al.* (2007) não detectaram redução no comprimento radicular da alface e picão-preto quando testaram extratos do eucalipto independentemente das concentrações utilizadas. O T2 e o T5 também causaram reduções significativas na PSG e nos parâmetros vegetativos do picão, diferindo estatisticamente da testemunha. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Souza Filho *et al.* (1997), os quais concluíram que a leucena apresenta potencial alelopático sobre algumas espécies de plantas daninhas que este potencial varia com a espécie de planta receptora do extrato.

Tabela 2: Avaliado os parâmetros: percentual de sementes germinadas (SG), altura de planta (AP), comprimento de folhas (CF), comprimento de raiz (CR), massa total (MT), massa foliar (MF) e massa radicular (MR).

TRATAMENTOS	PSG	AP	CF	CR	MT	MF	MR
T1	73,2 a	2,52 a	0,38 a	0,43 a	0,008 a	0,003 a	0,0032 a
T2	28,6 b	1,15 b	0,178 b	0,2 b	0,0034 b	0,001 b	0,0014 b
T3	0,0 d	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c
T4	0,0 c	0,0 d	0,003 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c
T5	33,2 b	0,518 c	0,174 b	0,14 b	0,0032 b	0,0016 b	0,001 b
Média geral	27	0,8736	0,1464	0,154	0,00292	0,00112	0,00112
C.V. (%)	11,86	16,36	14,63	30,11	13,70	45,53	26,03

*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste te Tukey a 5% de probabilidade.

4 CONCLUSÕES

Os extratos aquosos de alecrim e eucalipto foram os que apresentaram maior efeito inibitório em ambos os tratamentos afetando as sementes de alface e picão-preto mesmo sendo de espécies diferentes, realçando suas teorias de efeito alelopático.

5 REFERÊNCIAS

BALBINOT-JUNIOR, A. A. **Manejo das plantas daninhas pela alelopatia**. Agropecuária Catarinense, Florianópolis, v. 17, n. 1, p. 61-64, 2004. Disponível em: '<https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/rac/article/view/994>'. Acesso em: 16 de set. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNAD/ DNDV/CLAV, 1992. 365 p. Disponível em: 'chrome-extension://efaidnbmnnnibpcapcglclefindmkaj/https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf'. Acesso em: 16 de set. 2023.

CARVALHO, L. B. **Plantas Daninhas**. Editado pelo autor, Lages, SC, 2013 vi, 82p. Disponível em: 'chrome-extension://efaidnbmnnnibpcapcglclefindmkaj/https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/leonardobiancodecarvalho/livro_plantasdaninhas.pdf'. Acesso em: 16 de set. 2023.

CHOU, C. H.; KUO, Y. L. Allelopathic research of subtropical vegetation in Taiwan. III. Allelopathic exclusion of understory by *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v. 12, n. 6, p. 1431-1448, 1986.

DORNELES, K. R.; POZZEBON, B. C.; ETHUR, L. Z.; ZEIST, A. R. Efeito alelopático de extratos de plantas medicinais e condimentares em meloeiro (*Cucumis melo* L.). *Ciência e Natura*, v. 37, n. 2, p. 212-217, 2015.

FERREIRA, M. C.; SOUZA, J. R. P.; FARIA, T. J. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. *Ciência agrotécnica*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1054-1060, 2007. Disponível em: ‘chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.scielo.br/j/cagro/a/Z8prcXK8nJP8C7nqjyWkKSB/?format=pdf&lang=pt’. Acesso em: 16 de set. 2023.

FERREIRA, M. C.; SOUZA, J. R. P.; FARIA, T. J. Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, n. 4, p. 1054-1060, 2007.

FORTES, A.M.T.; MAULI, M.M; ROSA, D.M. PICCOLO, G. MARQUES, D.S.; REFOSCO, R.M.C. Efeito alelopático de sabugueiro e capim-limão na germinação de picão-preto e soja. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 31, n. 2, p. 241-246, 2009.

FRANÇA, A. C.; SOUZA, I. F.; SANTOS, C. C.; OLIVEIRA, E. Q.; MARTINOTTO, C. Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão preto. *Ciência agrotécnica*, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1374-1379, 2008. Disponível em: ‘chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.scielo.br/j/cagro/a/Q346MLzqCYNY6gYgKPpxdwQ/?format=pdf&lang=pt’. Acesso em: 16 de set. 2023.

LIMA, G. P.; FORTES, A. M. P.; MAULI, M. M.; ROSA, D. M.; MARQUES, D. S. Alelopacia de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e sabugueiro (*Sambucus australis*) na germinação e desenvolvimento inicial de corda-de-viola. *Publ, UEPG Extract Earth Science, Agr. Sci, Eng.*, Ponta Grossa, v. 15, n. 2, p.121-127, 2009. Disponível em: ‘<https://revistas.uepg.br/index.php/exatas/article/view/992/1358>’. Acesso em: 16 de set. 2023.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000. 383 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination in selecting and evaluating for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madson, v. 1, n. 1, p. 176-177, 1962. Disponível em: ‘[https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1017323](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1017323)’. Acesso em: 16 de set. 2023.

PERON, F.; BONINI, E. A. Utilização de leucena (*Leucaena leucocephala*) como alternativa de controle de picão preto (*Bidens pilosa* L.). *Anais Eletrônico...VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica*, 2012.

PESSOTTO, G. P.; PASTORINI, L. H. Análise da germinação de alface (*Lactuca sativa* L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sob a influência alelopática do funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, supl. 2, p. 990-992, 2007.

RIBEIRO, J. P. O.; ESPÍRITO SANTO, A.; MELO, A. M.; SOUSA, A. C. G.; FERREIRA, L. C.; DA SILVA, A. F.; PARRELLA, N. N. L. D. Efeito alelopático do extrato aquoso das folhas de *Callistemon viminalis* (Sol. ex Gaertn.) Sobre a germinação de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 270-277, 2019. Disponível em: ‘chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/39990/joao_paulo_oliveira_et_all.pdf?sequence=2&isAllowed=y’. Acesso em: 16 de set. 2023.

RICE, EL.. Allelopathy. New York: Academic Press. 1979. 353p.

SILVA, N. E.; DIAS, A. J. S.; SILVA, F. F.; SILVA, N. E. Ação dos aleloquímicos presentes no eucalipto e sua influência no plantio de alface. **Revista multidisciplinar de educação e meio ambiente**, v. 4, n. 3, 2023. Disponível em: ‘file:///C:/Users/Usuario/Downloads/acao-dos-aleloquimicos-presentes-no-eucalipto-e-sua-influencia-no-plantio-de-alface.pdf’. Acesso em: 16 de set. 2023.

SIMOES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 4 edição, Porto Alegre: UFRGS, p. 821, 2002.

SOUTO, C.; GONZALEZ, L.; REIGOSA, M. J. Comparative analysis of *allelopathic* effects produced by four forestry species during decomposition process in their soils in Galicia (NW. Spain). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 11, p. 3005-3015, 1994. Disponível em: ‘<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24241931/>’. Acesso em: 16 de set. 2023.

SOUSA, S. M.; SILVA, P.S.; VICCINI, L. F. Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (*lemon grass*) aqueous extracts in vegetal test systems. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.82, n.2, p.305-311, 2010.

SOUZA FILHO, A. P. S.; RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 165-170, 1997.

SOUZA, S. A. M.; CATTELAN, L. V.; VARGAS, D. P.; PIANA, C. F. B.; BOBROWSKI1, V. L.; ROCHA, B. H. G. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul sobre a germinação de sementes de alface. **Publicação UEPG Ciências Biológicas e Saúde**, v. 11, n. 3/4, p. 29-38, 2005.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Three weed species with confirmed resistance to herbicides in Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 37., 1997, Orlando. **Abstract...** Orlando: Weed Science Society of America, 1997. p. 100.

ZOTÉA, K. E. M.; FREITAS JUNIOR, E.; SIMÃO, S. S.; SIMONI, P. F.; ROSSI, A. A. P. Extratos de alecrim são alelopáticos a germinação de *Eruca sativa* L.? **Enciclopédia bioesfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 3711, 2015. Disponível em: ‘chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.conhecer.org.br/enciclop/2015c/agrarias/EXTRATOS%20DE%20ALECRIM.pdf’. Acesso em: 16 de set. 2023.