



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**Instituto de Química**  
**Programa de Pós-Graduação em Química**

POTENCIAL HERBICIDA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA  
DO EXTRATO METANÓLICO DA RAIZ E CAULE do *Cenchrus*  
*echinatus* (TIMBETE)



ORIENTADOR: PROF. DR. SÉRGIO ANTÔNIO LEMOS DE MORAIS

ALUNO: DOUGLAS QUEIROZ SANTOS.

**UBERLÂNDIA - MG**  
**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**DOUGLAS QUEIROZ SANTOS**

POTENCIAL HERBICIDA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA  
DO EXTRATO METANÓLICO DA RAIZ E CAULE do *Cenchrus*  
*echinatus* (TIMBETE)

**Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia para a obtenção do título de Mestre em Química sob orientação do Prof. Dr. Sérgio Antônio Lemos de Moraes; No programa de Pós-Graduação em Química.**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

---

S237p Santos, Douglas Queiroz, 1980-  
Potencial herbicida e caracterização química do extrato  
metanólico da raiz e caule do *Cenchrus echinatus*  
(TIMBETE) / Douglas Queiroz Santos. - 2007.

103 f. : il.

Orientador: Sérgio Antônio Lemos de Barros.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia  
Programa de Pós-Graduação em Química.  
Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses. I. Barros, Sérgio Antônio  
Lemos de. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa  
de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

---

Elaborado pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de Catalogação e Classificação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
Instituto de Química  
Programa de Pós Graduação em Química- MESTRADO  
E-mail: [cpgquimica@ufu.br](mailto:cpgquimica@ufu.br) - Fone: 3239-4385

**ALUNO(A): DOUGLAS QUEIROZ SANTOS**

**NÚMERO DE MATRÍCULA: 5052404**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:**

***“Potencial Herbicida e Caracterização Química do Extrato  
Metanólico de Raiz do Cenchrus echinatus (TIMBETE)”***

**ORIENTADOR:**

**PROF. DR. SÉRGIO ANTÔNIO LEMOS DE MORAIS**

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada na Sala 1B 204 no Campus Santa Mônica, no dia 17 de agosto de 2007, às 14h30 horas, tendo como Banca Examinadora:

**NOME:**

**ASSINATURA:**

Prof. Dr. Sérgio Antônio Lemos de Moraes  
(Instituto de Química / UFU)

Prof. Dr. Francisco José Torres de Aquino  
(Instituto Química / UFU)

Prof. Dr. Antônio Flávio Alcântara  
(Departamento de Química / UFMG)

Uberlândia, 17 de agosto de 2007.

“Cada um de nós compõe a sua história,  
e cada ser em si, carrega o dom de ser capaz, e ser feliz”

Renato Teixeira

*AGRADECIMENTO*

*A minha família  
pelo carinho e incentivo constantes,  
apesar da distância.*

## Sumário

1 - Introdução .....	15
2 - Revisão da Literatura .....	15
2. 1 – Histórico e Conceitos .....	15
2. 2 - Conceitos de Planta daninha .....	18
2.2. 1 - Características de uma planta para ser considerada daninha .....	18
2.2. 2 - Prejuízos causados pela presença de plantas daninhas (UFLA, 2004) .....	20
2. 3 - Competição x Alelopatia.....	21
2. 4 - Metabólitos Secundários .....	21
2. 5 - Natureza dos aleloquímicos .....	24
2. 6 - Liberação dos Aleloquímicos.....	26
2. 7 - Fatores que afetam a liberação de aleloquímicos.....	30
2. 8 - Atuação dos aleloquímicos.....	31
2. 9 - Os Herbicidas no Controle de Plantas Daninhas.....	36
2. 10 - Métodos utilizados em pesquisa sobre alelopatia .....	38
2.10. 1 - Germinação de sementes em laboratório: .....	38
2.10. 2 - Germinação em casa de vegetação ou canteiro:.....	39
2. 11 - Distribuição e ocorrência de Plantas do Cerrado estudadas neste trabalho .....	40
2.11. 1 - <i>Panicum maximum</i> (Capim-colonião).....	40
2.11. 2 - <i>Lolium perene</i> (azevém-perene).....	41
2.11. 3 - <i>Amaranthus hypochondriacus</i> (Caruru).....	41
2.11. 4 - <i>Trifolium alexandrinum</i> (Bersim) .....	43
2.11. 5 - <i>Physalis ixocarpa</i> (Tomate Verde) .....	42
2.11. 6 - <i>Cenchrus echinatus</i> (Timbete) .....	44

3 - Objetivos .....	46
4 - Materiais e Equipamentos .....	46
5 - Metodologia .....	48
5. 1 - Local e data dos experimentos: .....	48
5. 2 - Obtenção de extratos: .....	48
5. 3 – Preparo das soluções: .....	48
5. 4 – Fracionamento do extrato metanólico: .....	50
5. 5 - Germinação: .....	51
5. 6 - Identificação qualitativa de metabólitos secundários presentes no extrato.....	52
6 - Resultados e Discussão .....	54
7 - Conclusões .....	77
8 - Apêndice .....	79
9 - Referências Bibliográficas .....	93

## Índice Remissivo para Figuras

Figura 1. Liberação de aleloquímicos no meio ambiente.....	27
Figura 2. <i>Panicum maximum</i> .....	40
Figura 3. <i>Lolium perene</i> .....	44
Figura 4. <i>Amaranthus hypochondriacus</i> .....	42
Figura 5. <i>Trifolium alexandrinum</i> .....	43
Figura 6. <i>Physalis ixocarpa</i> .....	43
Figura 7. <i>Cenchrus echinatus</i> .....	46
Figura 8. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Panicum maximum</i> , em placas de Petri. ....	55
Figura 9. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> , em placas de Petri.....	56
Figura 10. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> , em placas de Petri.....	57
Figura 11. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Physalis ixocarpa</i> , em placas de Petri. ...	58
Figura 12. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Physalis ixocarpa</i> , em placas de Petri. ....	58
Figura 13. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Trifolium alexandrinum</i> , em placas de Petri.....	59
Figura 14. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Trifolium alexandrinum</i> , em placas de Petri. ....	59
Figura 15. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Lolium perene</i> , em placas de Petri. ....	60
Figura 16. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Lolium perene</i> , em placas de Petri. ....	61
Figura 17. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> , ensaios <i>in vivo</i> .....	62
Figura 18. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> , ensaios <i>in vivo</i> .....	63

Figura 19. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Lolium perene</i> , ensaios <i>in vivo</i> . .....	67
Figura 20. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Lolium perene</i> , ensaios <i>in vivo</i> . .....	67
Figura 21. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Physalis ixocarpa</i> , ensaios <i>in vivo</i> . .....	64
Figura 22. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Physalis ixocarpa</i> , ensaios <i>in vivo</i> . .....	64
Figura 23. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Trifolium alexandrinum</i> , ensaios <i>in vivo</i> . .....	65
Figura 24. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento de sementes de <i>Trifolium alexandrinum</i> , ensaios <i>in vivo</i> . ....	66
Figura 25. Efeitos fitotóxicos das frações do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento da raiz de <i>Panicum maximum</i> . .....	68
Figura 26. Efeitos fitotóxicos das frações de extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no desenvolvimento do caule de <i>Panicum maximum</i> . .....	69
Figura 27. Efeitos fitotóxicos das frações do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> no processo de germinação de <i>Panicum maximum</i> . .....	69
Figura 28. Efeitos fitotóxicos das frações do extrato metanólico de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> na produção de biomassa de <i>Panicum maximum</i> . .....	70
Figura 29. Cromatograma do extrato diclorometanólico. ....	73

## Índice Remissivo para Tabelas

Tabela 1 - Solventes usados no fracionamento do extrato metanólico.....	51
Tabela 2 - Identificação qualitativa dos metabólitos secundários do extrato de raiz de <i>Cenchrus echinatus</i> .....	72
Tabela 3 - Tabela dos Compostos identificados no extrato diclorometanólico.....	74
Tabela 4 - Fórmula Estrutural dos compostos identificados no extrato diclorometanólico	75

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**CG-EM** Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas

**IV** Infra-vermelho

## Resumo

Foi estudado o potencial alelopático do extrato metanólico da folha, raiz, caule e espinho de timbete com o propósito de avaliar sua eficiência em relação a inibição na germinação de sementes de *Panicum maximum* (capim-colonião), *Lolium perene* (azevém-perene), *Amaranthus hypochondriacus* (caruru), *Trifolium alexandrium* (bersim) e *Physalis ixocarpa* (tomate verde) em placa petri e casa de vegetação, e a posterior caracterização dos compostos alelopáticos responsáveis pela inibição. Foram realizados testes de germinação, com fotoperíodo de 10 hs e por 7 dias e utilizando soluções dos extratos nas concentrações de 25, 50, 100, 150 e 200 ppm. Com o fracionamento do extrato metanólico da raiz de *Cenchrus echinatus*, as frações diclorometano e a mistura acetato de etila:metanol (1:1) apresentaram o maior conjunto de inibição sobre as sementes de *Panicum maximum* com os parâmetros: desenvolvimento da raiz, caule, germinação e produção de biomassa. O extrato metanólico da raiz e caule tiveram uma maior inibição para a espécie *Amaranthus hypochondriacus* e a espécie *Trifolium alexandrium* foi a menos afetada, e o extrato metanólico da raiz de *Cenchrus echinatus* apresentou maior eficiência quando comparado com o de caule, os resultados para o extrato da raiz onde a ação inibitória alcançou até 100%. Na identificação qualitativa dos metabólitos secundários presentes no extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* deram positivo para alcalóides, glicosídeos cardiotônicos e triperpenos e/ou esteróides.

Os extratos ativos foram analisados através da técnica de Cromatografia a Gás acoplada à espectrometria de Massas, identificando  $\beta$ -pineno, limoneno, cineol, *cis*-ocimeno, linalol, *trans*-geraniol, *cis*-alfa-bergamoteno, *trans*-alfa-bergamoteno, germacreno D, gama-cadineno, 1,10,*di*-*epi*-cubenol, *epi*-alfa-cadinol, octadecatrienal e ácido palmítico.

**Palavras-chave:** atividade alelopática, extrativos voláteis, extrato metanólico

## Resumen

Se estudió el potencial alelopático del extracto metanólico de hojas, raíz, tallo y espinas de timbete, con el propósito de evaluar su eficiencia en relación a inhibición de germinación de semillas de *Panicum maximum*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Trifolium alexandrium* y *Physalis ixocarpa* en placas petri y casa de invernadero, y posterior caracterización de los compuestos alelopáticos responsables por la inhibición. Fueron realizados ensayos de germinación con foto-período de 10 horas, durante 7 días, usando soluciones de los extractos en concentraciones de 25, 50, 100, 150 e 200 ppm. Después del fraccionamiento cromatográfico del extracto bruto de la raíz, las fracciones obtenidas con solventes diclorometano y con la mezcla acetato de etilo/metanol (1:1) presentaron los mejores resultados de inhibición de las semillas de *Panicum maximum* para los parámetros: Crecimiento de raíz, tallo, porcentaje de germinación y producción de biomasa. El extracto metanólico de la raíz y tallo presentaron mayor inhibición para la especie *Amaranthus hypochondriacus* y la especie *Trifolium alexandrium* fue menos afectada. El extracto metanólico de la raíz de *Cenchrus echinatus* presentó mayor eficiencia cuando comparado con el extracto de tallo, obteniendo valores de inhibición de hasta 100%. Análisis cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de raíz de *Cenchrus echinatus* mostraron resultados positivos para alcaloides, glicosidos cardiotónicos y triperpenos y/o esteróides.

**Palabras-clave:** actividad alelopática, extractivos volátiles, extracto metanólico.

## 1 - Introdução

Desde a antiguidade, sabe-se que algumas espécies vegetais podem prejudicar o crescimento de outras que estão em suas proximidades. Durante muito tempo, esse fato foi considerado como um fenômeno inexplicável (Rodrigues *et al.*, 1992).

O primeiro registro sobre a capacidade das plantas interferirem no desenvolvimento de outras plantas vizinhas foi descrito por Theophrastus (300 a.C.), um discípulo de Aristóteles, propondo que a leguminosa *Cicer arietinum* exauria o solo. Em 1832, o botânico De Candolle sugeriu que o cansaço da terra na agricultura era decorrente de exudatos liberados pelas plantas da própria cultura (Rice, 1984).

Lee e Monsi (1963), citados por Almeida (1988), referem a um documento japonês de autoria de Banzan Kumazawa, escrito à cerca de 300 anos, no qual descreve que a chuva e o orvalho arrastavam para o solo produtos químicos contidos nas folhas de pinheiro (*Pinus densiflora*), os quais prejudicavam as culturas localizadas embaixo da copa destas árvores.

Hoy e Stickney (1881), citados por Chou (1999), relataram que uma espécie de noqueira afetava o crescimento de plantas situadas ao seu redor. Schreiner e Reed (1907; 1908), citados também por Chou (1999), identificaram no solo um ácido orgânico liberado pelas raízes de plantas que inibiam o crescimento de algumas culturas.

## 2 - Revisão da Literatura

### 2.1 – Histórico e Conceitos

Somente em 1937, o pesquisador alemão Hans Molisch estudou o efeito do etileno no crescimento das plantas e cunhou a palavra "alelopatia", proveniente da união de duas palavras gregas "allelon" e "pathos", que significam respectivamente "mútuo" e "prejuízo". Apesar do significado etimológico da palavra alelopatia, Molisch define que o termo engloba tanto efeitos benéficos quanto prejudiciais entre uma planta e outra (Einhellig, 1995).

Ao termo alelopatia ainda vem sendo acrescentados conceitos como os criados por Grummer (1955) citado por Einhellig (1995) que sugerem uma classificação de interações de acordo com a natureza dos agentes doador e receptor das substâncias químicas, propondo então os termos: antibiótico - para substâncias produzidas por microorganismos

e que afetam outros microorganismos; marasminos -para as substâncias produzidas por plantas superiores e que atuam em microorganismos; fitocidas - para os elaborados por microorganismos e que atuam nas plantas e colinos- quando o doador e o receptor são plantas.

Em 1969 Muller criou o termo interferência - englobando coletivamente todas as interações que se desencadeiam entre os indivíduos de uma comunidade, reunindo os termos de alelopatia e competição (Einhellig, 1995).

Em 1971 Wittaker e Feeny cunharam o termo aleloquímico (allelochemicals) como sendo agentes químicos de importância essencial para a adaptação de espécies e organização das comunidades, Chou e Waller (1980) usaram aleloquímica (allelochemicals) para descrever todas interações bioquímicas entre organismos tanto inter quanto intra-especificamente (Chou, 1999).

Rice (1974), na primeira edição de seu livro "Allelopathy", limita o termo alelopatia como sendo apenas uma interação prejudicial. Putnan e Duke (1978) consideram que o termo alelopatia talvez seja tecnicamente errôneo, uma vez que significaria somente 'prejuízo mútuo'. No entanto, Rice (1984), na segunda edição de seu livro com o mesmo título, revisou seu conceito e abrangeu a definição original do termo, o qual inclui também o efeito benéfico.

Putnan e Duke (1978) introduziram ao conceito de alelopatia, os termos de 'planta doadora', como aquela que libera substâncias químicas e interfere na germinação e/ou crescimento de outra planta, que seria a 'planta receptora'.

Recentemente, Fuerst e Putnan (1983) reclassificaram estes termos em: fitoinibidores — como sendo as substâncias alelopáticas produzidas por plantas superiores e que inibem outras plantas (substituindo colino) e saproinibidores — as de origem microbiana e tóxicas para plantas superiores (substituindo fitocidas).

Quando a substância liberada causa somente efeitos prejudiciais, recebe também o nome de fitotoxina. Essas substâncias podem ser produzidos em qualquer parte das plantas e a sua concentração varia de espécie para espécie e, numa mesma espécie, de acordo com a parte da planta e o seu estágio de desenvolvimento, (Rodrigues *et al.*, 1992).

As substâncias químicas liberadas pelas plantas ou microorganismos no ambiente e que causam efeitos benéficos ou deletérios sobre outras plantas ou microorganismos são denominados de substâncias alelopáticas, agentes aleloquímicos ou simplesmente aleloquímicos, ou produtos secundários (Carvalho, 1993).

Recentemente, Miller (1996) classificou o efeito alelopático em dois tipos: autotoxicidade, que ocorre quando plantas de uma espécie liberam substâncias químicas que interferem na germinação e/ou crescimento de plantas da mesma espécie; e heterotoxicidade, quando uma planta produz substâncias que são tóxicas para germinação e/ou crescimento de plantas de outras espécies.

O processo de autotoxicidade vem sendo observado tanto em ambientes naturais como em ecossistemas manipulados, causando inúmeras implicações, tanto ecológicas como econômicas, como declínio de produções agrícolas e problemas na regeneração de algumas áreas naturais.

Para Seigler (1996) o processo de autotoxicidade tem a função positiva de manter espaçamento entre indivíduos para prevenir o desenvolvimento de predadores, de bactérias ou fungos patogênicos, assim como promover a polinização cruzada entre indivíduos.

Segundo Singh *et al*, (2003) as espécies que possuem o mecanismo de autotoxicidade podem regular suas populações no espaço e no tempo, evitando competição intra-específica, favorecendo sua própria perpetuação e tendo uma melhor distribuição geográfica. No entanto, não há evidência que estas espécies sejam favorecidas pela seleção natural. Várias espécies de coníferas são exemplos de espécies que possuem o mecanismo de autotoxicidade.

Como interferência é um termo muito amplo, o dividiu em três tipos distintos: alelospolia -ou competição, onde organismos provocam a retirada ou redução de fatores do ambiente, como água, luz, nutrientes; alelomeção - ou interferência indireta, onde as alterações são causadas no ambiente por organismos, com reflexos nos seres vizinhos, como a escolha alimentar seletiva de um herbívoro; e alelopatia -interferência causada por substâncias químicas produzidas por certos indivíduos e que no ambiente afetam outros indivíduos da comunidade (Pires e Oliveira, 2001).

A Sociedade Internacional de Alelopatia define a Alelopatia como: “A ciência que estuda qualquer processo envolvendo, principalmente, metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento de sistemas biológicos com efeitos positivos e negativos”.

## 2.2 - Conceitos de Planta daninha

Conceito ecológico - planta que coloniza e domina o estágio inicial de uma sucessão vegetal numa terra perturbada pelo homem. Planta que se adapta com maior facilidade às condições edafoclimáticas criadas pelo homem.

Conceito biológico - planta com características específicas que facilita sua sobrevivência e dispersão (UFLA, 2004).

### 2.2.1 - Características de uma planta para ser considerada daninha

- ✓ Nenhuma exigência para germinar
- ✓ Rápido crescimento
- ✓ Alta capacidade de florescimento
- ✓ Alta produção de sementes
- ✓ Habilidade de dispersão
- ✓ Adaptação às práticas de manejo

As plantas daninhas são dotadas de certas características que lhe são peculiares e que interferem na estratégia de seu manejo. Para se manejar bem estas plantas há necessidade de se conhecer mais profundamente tais características (UFLA, 2004).

A germinação e crescimento em condições adversas são mais típicos ou menos típicos em função da espécie. Importante lembrar que todas germinam e desenvolvem melhor em condições mais amenas, porém, certas espécies são capazes de se desenvolver onde outras não seriam capazes. Exemplo: tiririca (*Cyperus* spp) que é classificada como uma espécie de ambiente indiferente, cresce melhor em ambiente favorável, porém, o ambiente não é tão limitante como seria para outras espécies, principalmente as plantas cultivadas. Assim, seu manejo será voltado em dar condições mais favoráveis para a cultura e menos favorável para a planta daninha.

A alta capacidade de florescimento expressa a necessidade e capacidade das espécies de se multiplicarem. Quaisquer que sejam as condições, a maioria das espécies daninhas florescem e produzem sementes em abundância. Uma espécie cultivada, sob tais condições não floresce ou floresce de maneira deficiente, comprometendo a produção de sementes e conseqüentemente a multiplicação da espécie. O manejo da planta daninha neste caso é o seu controle antes mesmo que ela produza sementes viáveis. O controle de sua

descendência também resolve mas, com mais custos e outros prejuízos.

A alta produção de sementes juntamente com a dormência, conferem às espécies daninhas a capacidade de perpetuação da espécie e capacidade competitiva.

Até mesmo o tamanho e forma da semente, muitas vezes coincidem com aquelas sementes das plantas cultivadas e assim são disseminadas junto com a cultura. A disseminação através da água (canais de irrigação e drenagem) e sementes de culturas contaminadas com sementes de plantas daninhas são duas formas mais significantes de disseminação principalmente à longa distância.

Adaptação às práticas de manejo: mais do que qualquer planta cultivada, as espécies silvestres são providas de variações genéticas dentro de uma mesma população. Isto faz com que qualquer que seja a prática de manejo adotada, aquela população, através de seus indivíduos, se adapta e se torna tolerante àquela prática. Quanto mais heterogênea for uma população, maior será a chance e velocidade de adaptação à nova prática de manejo. Por isso, no sistema atual de manejo de plantas daninhas, é fator primordial a rotação ou integração de métodos de controle. Como um exemplo desta adaptação, pode-se citar o uso contínuo de um mesmo herbicida numa mesma área, levando uma população que antes era susceptível e agora tornou-se tolerante ao mesmo herbicida, fato este denominado de seleção de ecotipo resistente.

Um outro exemplo, ainda referente ao uso contínuo de um mesmo herbicida numa mesma área é a seleção de espécies resistentes: muitas vezes, dentro de uma comunidade de espécies, existe umas poucas que são resistentes ao herbicida. Esta(s) espécie(s) tem a vantagem sobre as susceptíveis que são eliminadas pelo herbicida, e assim se multiplicam e dominam a área.

Ainda como um terceiro exemplo do uso contínuo deste herbicida, é a seleção de espécies susceptíveis que apresentam um hábito de crescimento rasteiro e assim são protegidas por outras espécies de hábito de crescimento ereto. O herbicida atinge primeiro as de porte ereto que formam o fenômeno denominado “guarda chuva” para as de porte rasteiro que se desenvolvem livres das primeiras.

Finalmente como um último exemplo de adaptação das plantas daninhas às práticas de controle, pode-se citar o uso de roçadeira para o controle de espécies perenes. A roçadeira elimina a parte aérea e estimula o desenvolvimento da parte subterrânea, com isso estas espécies se tornam mais competitivas e dominam a área com o tempo.

## 2.2. 2 - Prejuízos causados pela presença de plantas daninhas (UFLA, 2004)

1. Produção mais baixa
  - a) Efeitos químicos
  - b) Efeitos competitivos
2. Menos eficiência de uso da terra
  - a) Custos mais elevados (pois têm que serem controladas)
  - b) Valor da terra decresce (devido a sua presença)
  - c) Custo de colheita elevado
  - d) Cultura danificada pelo cultivo
  - e) Estrutura do solo destruída
3. Custo mais elevado de proteção contra insetos e doenças
  - a) Abrigo de pragas e doenças
  - b) Migração da praga para a cultura após o final do ciclo da planta daninha.
4. Qualidade de produto mais baixa
  - a) Sementes de plantas daninhas
  - b) Restos vegetais de planta daninha em feno e algodão
  - c) Odor de planta daninha no leite
  - d) Sementes de plantas daninhas na lã
  - e) Plantas daninhas tóxicas diminui crescimento
  - f) Aumenta teor de umidade das sementes colhidas
5. Manejo da água
  - a) Problemas para irrigação e drenagem
  - b) Recreação e pesca
  - c) Odor e sabor em suprimentos de água
6. Saúde do homem
  - a) Irritação da pele – urtiga
  - b) Tóxica – cuscuta, mamona
  - c) Alergia – semente de capim gordura

### 2. 3 - Competição x Alelopatia

Em uma comunidade natural diversos mecanismos ecológicos acontecem concomitantemente e, devido à complexidade que envolve estes mecanismos, torna-se difícil distingui-los. Este fato não é diferente quanto aos processos de alelopatia e competição, tanto que alguns autores preferem defini-los conjuntamente através do termo "interferência".

No entanto, é importante distinguir os processos de alelopatia e de competição, que são considerados mecanismos opostos, uma vez que a competição envolve a redução ou a retirada de algum fator do ambiente necessário a outra planta no mesmo ecossistema, tal como água, luz e nutrientes (Rice, 1984).

Como é um fenômeno que ocorre largamente em comunidades de plantas, a alelopatia é um dos mecanismos por meio dos quais determinadas plantas interferem no desenvolvimento de outras, alterando-lhes o padrão e a densidade (Smith, 1989). A alelopatia acontece pela introdução ou liberação de elementos no ambiente.

Fuerst e Putnam (1986), Liu e Lovett (1993), Weidenhamer (1996), Inderjit, (1997) e Inderjit e Mallik (2002) vêm desenvolvendo trabalhos que propõem metodologias que possam diferenciar ou separar os processos de alelopatia e competição.

Pela complexidade dos fenômenos alelopáticos, com múltiplas variáveis possíveis, há autores que afirmam que a separação não seria natural (Inderjit e Del Moral, 1997). Assim, competição e alelopatia poderiam operar simultaneamente ou em seqüência na natureza e seria quase impossível, em alguns casos, separá-las (Einhelling, 1996).

Foi observado que, para uma certa quantidade de aleloquímicos, o aumento da densidade de plantas diminuía o efeito alelopático, embora tenha aumentado o efeito de competição. Isto porque cada planta dividiu com suas companheiras os efeitos fitotóxicos, de forma que houve atenuação dos efeitos (Weidenhamer *et al.*, 1989). Este é um exemplo claro que alelopatia e competição são fenômenos distintos na natureza, embora possam estar bastante interrelacionados.

### 2. 4 - Metabólitos Secundários

São conhecidos cerca de 10 mil metabólitos secundários com ação alelopática (Almeida, 1988). Certos esteróides, ácidos graxos de cadeia longa e lactonas insaturadas

vêm revelando-se como herbicidas naturais, os quais estariam livres dos efeitos prejudiciais que são causados pelos herbicidas sintéticos.

Todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie, até mesmo na quantidade do metabólito de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles têm suas sínteses desencadeadas por eventuais vicissitudes a que as plantas estão expostas (Ferreira, 2000, citado por Mano, 2006).

A resistência ou tolerância aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos é mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que outras, como por exemplo *Lactuca sativa* (alface) e *Lycopersicon esculentum* (tomate), por isso mesmo muito usadas em biotestes de laboratório.

Pelo menos 25% dos produtos medicinais humanos foram originados da natureza ou são derivados sintéticos de substâncias naturais.

Ao contrário das substâncias do metabolismo primário, que fazem parte da atividade celular de praticamente todos os seres vivos, as substâncias do metabolismo secundário não estão envolvidas em funções vitais das plantas.

As interações planta-animal, assim como as interações planta-planta e planta-microorganismos são mediadas por substâncias químicas. As substâncias do metabolismo secundário funcionam para as plantas como sinais por meio das quais elas atraem ou repelem os seres que as rodeiam. Elas exalam substâncias que podem ser repelentes ou atraentes; armazenam toxinas e utilizam recursos para adaptação a alterações climáticas, entre outros.

Os produtos do metabolismo secundário ou produtos naturais podem ser produzidos por plantas, microorganismos, insetos e outros animais e muitos deles são extraídos e usados como remédios, corantes, perfumes, inseticidas, entre outros usos ou constituem um modelo que o homem utiliza para sintetizar em laboratório substâncias com as mais diversas propriedades.

A natureza, de forma geral, tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Dentre os diversos reinos da natureza, o reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamento, cosméticos, alimentos e agroquímicos (Phillipson e Anderson, 1998).

Durante muito tempo, acreditou-se que os metabólitos secundários fossem produzidos sem uma função específica, simplesmente como produtos finais das reações. A

cada dia descobre-se um pouco mais sobre a função dessas substâncias, sua utilidade para o desenvolvimento fisiológico das plantas e seu papel como mediadores das interações entre as plantas e outros organismos.

Segundo Rice (1984), Os aleloquímicos, que são produtos do metabolismo secundário, podem ser relacionados nas seguintes categorias principais:

- Ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia linear, aldeídos alifáticos e cetonas; exemplos: ácidos cítrico e acético; metanol e acetaldeído.
- Lactonas insaturadas simples: Várias lactonas simples são fortes inibidoras da germinação de sementes; exemplos: cumarinas (psoraleno e umbeliferona).
- Ácidos graxos de cadeia longa e poliacetilenos: esteárico, mirístico.
- Naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas, apenas uma quinona foi identificada como tóxica para outras plantas. É a juglona e este composto é liberado pelas folhas e frutos da Black walnut trees. Exemplos: juglona, tetraciclina. (Putnam e Tang 1986);
- Fenóis simples, ácido benzóico e derivados: ácido gálico, vanílico e hidroquinona.
- Ácido cinâmico e derivados.
- Flavonóides: alguns flavonóides têm sido descritos na alelopatia. Alguns pesquisadores acreditam que este grupo químico pode conter um número de substâncias alelopáticas importantes. Exemplo: florizina.
- Taninos hidrolisáveis e condensados: o grupo dos taninos incluem os compostos hidrolisáveis e condensados. Os primeiros são ésteres de açúcar do ácido gálico enquanto os segundos são complexas misturas de vários ácidos fenólicos. Os taninos hidrolizáveis inibem germinação das sementes, fixação do nitrogênio e o crescimento da planta. Exemplos: ácidos elágico e gálico. (Putnam e Tang 1986);
- Terpenóides e fitoesteróis: os monoterpenos que são os encontrados em maior quantidade nos óleos de plantas também fazem parte do principal grupo de inibidores. Exemplos: cineol, cânfora, limoneno e ergosterol.
- Aminoácidos e polipeptídeos; alcalóides e cianoidrinas: Os alcalóides são compostos cíclicos contendo nitrogênio em seus anéis ou cadeias laterais. São particularmente importantes inibidores do tabaco, café e sementes de cacau. Exemplos: cafeína, cocaína.
- Sulfetos e glicosídeos: ex: alilisotiocianato.
- Purinas e nucleosídeos.

## 2. 5 - Natureza dos aleloquímicos

Ao longo dos anos tem-se comprovado que as plantas produzem substâncias químicas com propriedades alelopáticas que afetam algumas espécies de plantas (especificidade). Tais substâncias são distribuídas em concentrações variadas nas diferentes partes da planta e durante o seu ciclo de vida (periodicidade).

Quando essas substâncias são liberadas em quantidades suficientes, causam efeitos alelopáticos que podem ser observados na germinação, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas e, ainda, no desenvolvimento de microorganismos (Carvalho, 1993; Goto *et al.*, 2001; Seal *et al.*, 2004; Barney *et al.*, 2004).

Harborne (1997) sugere que os metabólitos secundários têm função defensiva, ajudando no crescimento da planta que os produz. E ainda, que estes compostos possuem função ecológica de defender a planta contra herbívoros. Atuam também como atrativos para polinizadores, feromônio, além da ação alelopática (Harborne, 1991).

As substâncias químicas que possuem atividade alelopática são produtos secundários produzidos pelas plantas e são chamados de aleloquímicos, substâncias alelopáticas, fitotoxinas ou apenas produtos secundários.

Os aleloquímicos estão presentes em todos os tecidos das plantas, incluindo folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caule e sementes (Putnan e Tang, 1986; Seal *et al.*, 2004; Barney *et al.*, 2004; Xian *et al.*, 2006; Xuan *et al.*, 2006; Noguchi, 2003) . Para Friedman (1995) todos os órgãos da planta têm potencial para armazenar aleloquímicos, mas a quantidade e o caminho pelos quais são emitidos difere de espécie para espécie.

Um dos principais questionamentos é se os aleloquímicos são produzidos pela planta com função específica ou são simples subprodutos do metabolismo celular das plantas. Autores citados por Pires e Oliveira (2001), como Muller e Whittaker, defendem que as substâncias com atividade alelopática se encontram em maior quantidade nos vacúolos das células das plantas onde ficariam depositadas a fim de evitar sua própria autotoxicidade. Swain, citado por Pires e Oliveira (2001), defende também que os aleloquímicos são produzidos com função específica e, assim, sua síntese obedece a leis definidas geneticamente.

Fischer (1991) demonstrou que a ação alelopática muitas vezes deriva dos monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Fato comprovado também por outros autores como Halligan (1975), Asakawa *et al.*, (1980), Bhatt e Sabata (1989), Fischer *et al.* (1989 e

1990), Hiradate et al. (1999), Macias et al. (2000), Nishimura et al., (2000) e Goto *et al.*, (2001).

Além dos estudos com terpenos, já foram descritas outras classes de compostos secundários com atividade alelopática como os fenóis (McPherson *et al.*, 1971; Tang e Young, 1982; Pellissier, 1994; Inderjit, 1996; Huang *et al.*, 2000; Quayyum *et al.*, 2000; Olofsdotter, 2002; Singh *et al.*, 2003), alcalóides (Wu *et al.*, 1997; Aerts *et al.*, 1991) e taninos (Rice e Pancholy, 1974; Rawat *et al.*, 1998), dentre outros.

É importante destacar que os efeitos benéficos dos metabolitos secundários de uma planta não devem ser desvinculados do conceito de alelopatia, uma vez que essas substâncias podem ter efeito inibitório ou estimulante, dependendo da concentração do mesmo no meio ambiente (Volk *et al.*, 2005; Rigano *et al.*, 2006; Cunico *et al.*, 2006; Alías *et al.*, 2005).

Ademais, vale a pena ressaltar que o efeito alelopático depende de um composto que é adicionado ao ambiente (Weidenhamer *et al.*, 2004). Nesse sentido, uma planta na pastagem pode afetar o crescimento da outra, sem que ocorra o efeito alelopático, mediante competição por fatores do ambiente, tais como água, luz e nutrientes (Rodrigues *et al.*, 1992; Hulot *et al.*, 2004; Vasilakoglou *et al.*, 2005).

As influências exercidas pelos aleloquímicos podem apresentar características benéficas, tais como, prevenir a decomposição e interferir na dormência das sementes ou estimular o crescimento das plantas. Também podem agir de modo prejudicial no desenvolvimento de um organismo ou em uma sucessão de plantas remanescentes (Almeida 1988, M.M e Vidal, 2004). Sabe-se também que estas substâncias exercem papel importante na proteção dos organismos contra as pragas (Viator *et al.*, 2006).

Os aleloquímicos produzidos por uma planta podem ser tóxicos para os insetos que delas se alimentam, pode ser usado como agente polinizador ou atuarem como atraentes ou repelentes. A natureza destas substâncias é percebida pelos insetos através dos quimio-receptores de que dispõem, e com os quais conseguem discriminá-las mesmo em concentrações muito baixas, distinguindo-se plantas que lhes são tóxicas das que são inócuas (Wilson, 1970, Dayn e Duke 2000, Ladyhensakaya et. al, 1987 ).

Um único organismo produz diversos aleloquímicos que desencadeiam várias interações. Muitas são as expectativas para isolar, identificar e quantificar todas as estruturas químicas destas substâncias, pois, ainda existem dúvidas a respeito de sua atuação. Existem muitas dificuldades em identificar se o efeito alelopático causado é relativo a algum aleloquímico específico, já que os sintomas observados são determinados

pelo conjunto de seus efeitos, tornando-se difícil, mesmo depois de identificados, qual deles provocam tais sintomas (Almeida, 1988).

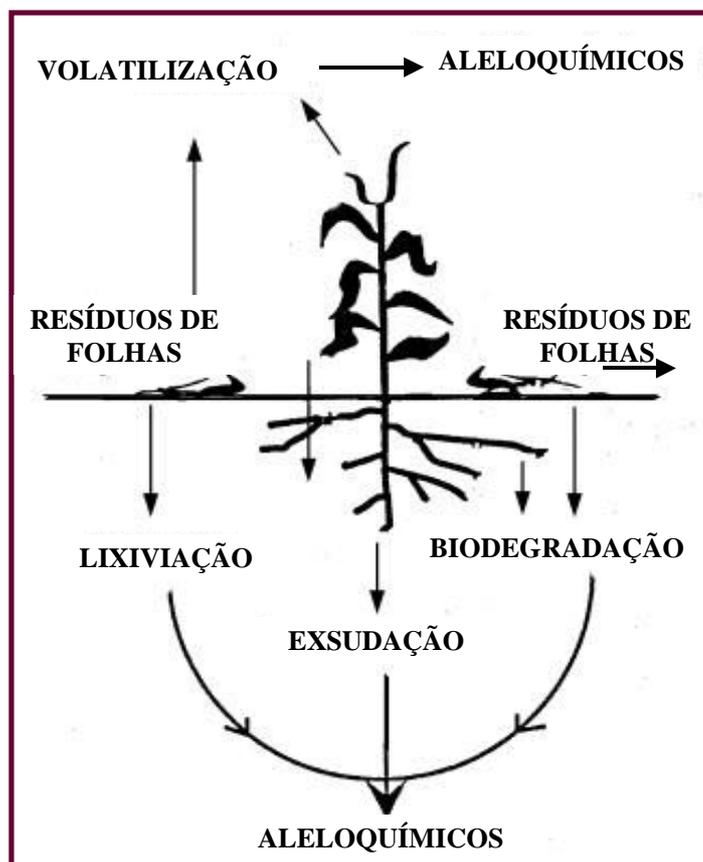
Alguns efeitos são mais expressivos do que outros, podendo ser diagnosticados com mais clareza. No entanto, substâncias químicas diferentes podem apresentar algumas semelhanças na inibição dos diversos estágios de desenvolvimento de uma planta (Buss. et. al 2003).

Como exemplo de complexidade de produção destas substâncias, pode-se citar a vinca rósea na qual foram identificados mais de 100 substâncias alelopáticas. Esses produtos secundários que são formados nas células apresentam ainda dúvidas como são exatamente biossintetizados (Swain, 1997).

Os tecidos de muitas plantas possuem altas concentrações de glicosídeos cianogênicos tais como: amidalina, durrina e elinamarina. Quando estes compostos são hidrolisados podem liberar o ácido cianídrico que inibe, assim como a amônia, o etileno e o óleo de mostarda, a germinação, o crescimento radicular de diversas plantas. Em algumas plantas das regiões desérticas, ocorre a liberação da cânfora e do cineol que impedem o desenvolvimento de algumas espécies anuais (Putnam, 1985).

## 2. 6 - Liberação dos Aleloquímicos

Os aleloquímicos podem ser liberados no ambiente através de processos ecológicos como, a volatilização, a lixiviação, exsudação radicular e a decomposição de resíduos de plantas no solo, conforme ilustrado pela Figura 1, abaixo (Rice, 1984).



Fonte: [www.agriculturasensitiva.com/image005.jpg](http://www.agriculturasensitiva.com/image005.jpg)

Figura 1. Liberação de aleloquímicos no meio ambiente.

A volatilização é comum em plantas aromáticas e os aleloquímicos volatilizados são de difícil detecção ou identificação. Geralmente, destacam-se os terpenos e etileno dentre outros. Estes compostos podem ser liberados facilmente pelas folhas ou outras partes da planta e podem afetar diretamente o crescimento ou desenvolvimento de plantas que se encontram próximas. Segundo Durigan e Almeida (1993) diversas espécies de *Salvia*, *Eucalyptus* e *Artemisia* elaboram produtos voláteis tóxicos como o canfeno, dipenteno,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno que inibem o desenvolvimento de outras plantas.

Segundo Souza (1988) as fitotoxinas voláteis podem ser absorvidas diretamente pela cutícula das plantas vizinhas, na forma de vapores ou serem condensadas pelo orvalho. Ao chegarem ao solo podem ser absorvidas pelas raízes, adsorvidas pelas partículas e/ou se dissolverem no solo.

O processo de lixiviação consiste na remoção de substâncias químicas das plantas vizinhas pela ação da água através da chuva, orvalho ou neblina. No solo estas substâncias podem sofrer degradação ou ação de microorganismos.

A exsudação radicular tem sido pouco estudada, mas é muito importante especialmente quando associada ao efeito de microorganismos no solo, que podem ter efeito direto com as raízes de outras plantas ou simplesmente ficar acumulada no solo, (Robson, 1972 citado por Reigosa *et al.*, 1999).

O processo de decomposição de produtos vegetais é decorrente do rompimento de tecidos de células ou extravasamento de conteúdo celular. No entanto, a atividade destes produtos no solo é normalmente transitória, uma vez que está sujeita à adsorção pelos colóides, degradação, inativação ou transformação pelos microorganismos (Almeida, 1988).

Além da atividade proveniente de compostos simplesmente liberados pelas plantas, os quais não sofrem quaisquer transformações, sempre há a possibilidade de microorganismos modificarem compostos não tóxicos para tóxicos, como no caso da 'amedalina' em resíduos de pêsego (Rice, 1984). Também para o mesmo autor, é possível que microorganismos sintetizem inibidores, como na produção da substância 'patutina' pelo microrganismo *Penicillium urticae* que cresce em resíduo de palha de trigo (*Triticum aestivum*). Essas mudanças podem acrescentar uma nova forma de atuação dos aleloquímicos de uma planta.

Todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar compostos alelopáticos, embora as plantas cultivadas e suas variedades comerciais tenham perdido muito essa capacidade. Essa característica era mais comum nos precursores silvestres das atuais plantas cultivadas, que se adaptaram para competir com outras plantas, garantindo não só a formação de estandes puros, como também a defesa contra insetos (Bansal e Bhan, 1993).

Resultados experimentais obtidos por vários autores mostram que todas as partes das plantas podem conter compostos alelopáticos. Em bioensaios, esses compostos já foram encontrados nas folhas, caules aéreos, rizomas, raízes, flores, frutos e sementes de diversas espécies, mas as folhas e as raízes são as fontes mais importantes de aleloquímicos (Rodrigues *et al.*, 1992; Weston, 1996).

As substâncias alelopáticas são produzidas pelas plantas durante todo seu ciclo de vida. Tais substâncias estão organizadas em diversas famílias de compostos, sendo distribuídas por todas as partes da planta de maneira não uniforme, em quantidades e concentrações variadas.

A maior parte dos aleloquímicos voláteis pertencem à família dos terpenóides. Estes compostos podem ser liberados continuamente pelas plantas, tendo sua liberação acentuada em condições de alta temperatura (Nascimento e Lopes, 2003, Einhellig, 1995).

Uma pequena quantidade de inúmeros produtos químicos é exudada pelas raízes, alguns dos quais com características alelopáticas. É difícil precisar com clareza se as substâncias alelopáticas encontradas no solo são provenientes exclusivamente das raízes ou produzidas pelos microorganismos, ou ainda se são liberadas pela decomposição dos resíduos orgânicos, onde incluem as células mortas desprendidas das raízes (Almeida, 1988 e Einhellig *et al.*, 1995). Entre os compostos exudados, podem ser citados o ácido oxálico, a amidalina, a cumarina e o ácido trans-cinâmico (Souza, 1988).

Tratando-se das substâncias que sofrem decomposições, ainda devem ser consideradas as substâncias produzidas pelos microorganismos envolvidas nos processos, muitas das quais são poderosas toxinas (Einhellig, 1996).

Deve-se salientar que no meio aquático os aleloquímicos movimentam-se com muito maior velocidade do que no solo.

As plantas terrestres estão fixadas ao solo de onde retiram, além de água, a maior parte dos nutrientes minerais. Para estas plantas, os aleloquímicos provêm de restos de plantas vizinhas (advindos de folhas, flores, frutos e pólen que formam a serrapilheira) e de compostos lixiviados pela ação da chuva sobre as copas e troncos. Podem vir também dos exudados das raízes.

Os aleloquímicos são transformados pela ação dos microorganismos e por vários organismos que vivem no estrato superior do solo (minhocas, insetos, fungos e etc.). Na serrapilheira em degradação e na camada superficial do solo logo abaixo dela, onde convivem comunidades multivariadas, há por parte dos microorganismos uma grande demanda de nitrogênio. A relação entre o C de matéria carbonada e nitrogênio é aproximadamente C:N 30:1 (Reinhardt *et al.*, 1999).

Isto pode levar a uma deficiência temporária de nitrogênio disponível para as plantas devido à alta atividade e quantidade de microorganismos que utilizam este elemento para seu próprio metabolismo, formando uma cadeia de eventos que pode ser resumida da seguinte maneira: moléculas orgânicas → alta atividade de microorganismos → privação temporária de nitrogênio → crescimento limitado das plantas (Dakshini *et al.*, 1999). Isto não é efeito alelopático.

De outra parte, os aleloquímicos podem influir sobre a atividade destes decompositores, especialmente sobre bactérias dos gêneros *Nitrosomonas*, que oxidam amônia a nitrito, e *Nitrobacter*, que oxidam nitrito a nitrato (Rice, 1984). Finalmente, deve-se mencionar que metabólitos secundários inertes sob o ponto de vista alelopático podem ser ativados pela ação dos decompositores, tornando-os ativos (Waller *et al.*, 1999).

Em alguns casos o efeito sinérgico é um dos grandes responsáveis do elevado potencial de inibição. Isto é confirmado quando à medida que se fraciona um extrato. O poder de inibição decresce pela separação dos compostos alelopáticos.

Os aleloquímicos são introduzidos no meio ambiente com um vasto número de outros metabólitos secundários como misturas e é provável que efeitos sinérgicos aumentem as atividades observadas (Putnam e Tang, 1986).

Um exemplo de sinergismo ocorre com as frutas. Muitos dos ácidos contidos nos sucos de fruta como por exemplo, os ácidos málico e cítrico, presentes na maçã, uva e frutas cítricas em geral, são inibidores da germinação de sementes. Estes ácidos misturados agem sinérgicamente para reduzir a germinação mais do que ocorreria se cada substância atuasse sozinha. Um importante papel dos ácidos na fruta provavelmente é o de prevenir a germinação da semente dentro da fruta (Putnam, 1985).

## 2. 7 - Fatores que afetam a liberação de aleloquímicos

As substâncias alelopáticas são liberadas pelas plantas no ambiente quando as folhas ou outras partes da planta caem ao solo. Estas substâncias podem ser também decompostas quimicamente pelas condições climáticas e por microorganismos. Tais modificações dão origem a produtos secundários que podem ser efetivos, influenciando direta ou indiretamente as espécies adjacentes (Almeida, 1988).

Essa liberação será influenciada também por temperaturas baixas ou altas, sendo que em temperaturas elevadas aumentam a volatilização e, conseqüentemente, aumentam o efeito inibitório. Tais mudanças metabólicas são importantes mecanismos de defesa da planta, induzindo a maior produção de aleloquímicos e, conseqüentemente, alterando as estratégias de manejo nas culturas (Einhellig, 1995, 1996).

A liberação de aleloquímicos pela volatilização é mais comum nas plantas aromáticas, como por exemplo, o mentrasto, losna-do-campo, losna-brava e eucalipto. As substâncias aleloquímicas volatilizadas podem ser absorvidas diretamente pelas plantas circunvizinhas, ficarem condensadas no orvalho ou entrarem no solo permanecendo no estado volátil sendo adsorvidos pelas partículas ou solubilizando-se na água. Entre as substâncias químicas que são liberadas por uma planta aromática, não ficam descartadas as possibilidades de algumas destas não exercerem efeitos alelopáticos sobre outras vegetações (Almeida, 1998).

A produção de aleloquímicos pelas plantas pode ser regulada por fatores como a temperatura, intensidade luminosa, disponibilidade de água, nutrientes, textura do solo e microorganismos, (Chou, 1999), além da radiação ultravioleta, doenças e ataque de insetos (Einhelling, 1996; Xuan *et al.*, 2003)).

Einhelling (1996) enfatiza, através de um modelo triangular, que condições ambientais (ou seja, estresse) modificam a taxa de produção dos aleloquímicos e podem aumentar a concentração destes compostos, e assim proporcionar uma maior inibição nas plantas receptoras, o que se caracteriza por um importante mecanismo de defesa das plantas.

Hall *et al.* (1982) observaram que *Helianthus annuus* produziu maior quantidade de ácido clorogênico quando em condições de baixa disponibilidade nutricional. Kong *et al.*, (2002) verificou também que o efeito alelopático de *Ageratum conyzoides* sobre várias outras espécies foi aumentado quando estas foram colocadas em condições de estresse de nutrientes e competição.

Alguns trabalhos realizados utilizando plantas de tabaco demonstraram que quando foram expostas diretamente sobre luz vermelha, produziram mais alcalóides e menos ácidos fenólicos do que aquelas expostas à luz vermelha distante (Kasperbauer *et al.*, 1970).

Observações feitas em culturas de girassol demonstraram que a combinação de estresse hídrico com deficiência de nitrogênio aumenta em 15 vezes a concentração dos ácidos clorogênico e isoclorogênico nas plantas (Del Moral, 1972). Em diversas espécies de vegetações, o teor de compostos fenólicos e escopolina são aumentados quando a quantidade de boro, cálcio, magnésio, nitrogênio, fósforo, potássio, ou enxofre estão deficientes no solo (Putnam, 1985).

Os taninos e seus derivados que estão presentes nas folhas das espécies arbóreas, como no carvalho e em outras plantas, tiveram a sua concentração aumentada com a idade. Esta maior concentração destes compostos explica o por que das plantas mais novas terem maior suscetibilidade às doenças e mais atrativas para os insetos (Feeny, 1970).

## 2. 8 - Atuação dos aleloquímicos

Nas plantas, as substâncias alelopáticas desempenham as mais diversas funções, sendo responsáveis pela prevenção da decomposição das sementes, interferem na sua

dormência e também na das gemas e influenciam as relações com outras plantas, com microorganismos, com insetos e até com animais superiores, incluindo o homem (Durigan e Almeida, 1993).

A ação de vários aleloquímicos está envolvida na inibição e modificação do crescimento ou desenvolvimento das plantas. Os aleloquímicos podem ser seletivos em suas ações e as plantas podem ser seletivas em suas respostas, por este motivo torna-se difícil sintetizar o modo de ação destes compostos, (Seigler, 1996). No entanto, alguns autores (Rice, 1984; Einhelling, 1996; Inderjit e Dakshini, 1995; Chou, 1999; Reigosa *et al.*, 1999; Vokou *et al.*, 2003; Chon *et al.*, 2003) listaram inúmeros mecanismos de ação dos aleloquímicos, que afetam vários processos fisiológicos das plantas, como por exemplo, os processos de respiração, fotossíntese (Hernandez-Terrones *et al.*, 2003(a)(b)), atividade enzimática, relações hídricas, abertura dos estômatos, disponibilidade de mineral e, ainda, a divisão e alongamento celular, estrutura e a permeabilidade de membranas e paredes das células (Goto *et al.*, 2001; Feo *et al.*, 2002; Basile *et al.*, 2002; Tsanuo *et al.*, 2003; Angelini *et al.*, 2003; Qiming *et al.*, 2006; Nishida *et al.*, 2005; Hilt, 2006)

Einhellig (1996 e 1995) propõe um modelo hipotético para explicar a ação dos aleloquímicos fenólicos nas plantas. Segundo este autor, o modelo pode ser aplicado aos demais aleloquímicos e sintetiza o modo de atuação destas substâncias nas plantas. De acordo com este modelo, a atuação dos aleloquímicos começa com as alterações nas membranas celulares, o que acarretaria conseqüentemente alterações na disponibilidade de água e íons, seguido das funções dos estômatos, com mudanças nas taxas de respiração e de fotossíntese, além da síntese protéica e de pigmentos.

Todas estas mudanças afetariam diretamente a divisão celular culminando na inibição do desenvolvimento e crescimento das plantas. Segundo Einhelling, no entanto, são precisos mais trabalhos que comprovem a sequência da ação dos aleloquímicos nas plantas diante da grande variabilidade dos compostos alelopáticos.

Para Einhelling (1996) a inibição tipicamente alelopática resulta da ação combinada de grupos de aleloquímicos que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos. Entretanto, muitos trabalhos propõem o isolamento do aleloquímico e o estudo sobre sua atuação direta nas plantas. Cameron e Julian (citados por Einhellig, 1995) acharam que 50  $\mu\text{M}$  de ácido cinâmico e ferúlico reduziram a síntese protéica em plântulas de alface. Monoterpenos voláteis, principalmente o cineole e a cânfora reduziram a divisão celular e resultaram no aumento do diâmetro das células radiculares, provocando uma desorganização no núcleo celular de várias espécies (Gross, 1975).

A maioria dos trabalhos relata que os compostos alelopáticos agem como inibidores da germinação e do crescimento (Juan Jiménez-Osornio *et al.*, 1996; Viles e Reese, 1996; Rawat *et al.*, 1998; Vacarini *et al.*, 1999). Porém, alguns trabalhos demonstraram que estes compostos podem atuar como promotores de crescimento (Hasegawa citado por Yamada *et al.*, 1996, Yamada *et al.*, 1995 e Yokotani-Tomita *et al.*, 1998). Aparentemente, a maior parte, se não todos os compostos orgânicos que são inibitórios em alguma concentração, são estimulantes em menores concentrações (Rice, 1984).

O conhecimento dos efeitos alelopáticos e dos mecanismos de ação de várias substâncias são importantes para se entender as interações entre plantas, tanto nos ecossistemas naturais como nos agrícolas (Rodrigues *et al.*, 1992). Via de regra, os efeitos dos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos na planta.

A grande diversidade dos compostos que causam alelopatia indicam diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais de um rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (Einhellig, 1995).

São poucas as informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas. A grande dificuldade que se apresenta é que essas substâncias afetam mais de uma função e provocam efeitos colaterais difíceis de serem distinguidas dos principais. Rice (1984) menciona que os efeitos podem ocorrer sobre: a regulação do crescimento (divisão celular, síntese orgânica, interação com hormônios, efeito sobre enzimas, metabolismo respiratório); a abertura estomatal e fotossíntese; a absorção de nutrientes; a inibição da síntese de proteínas e as mudanças no metabolismo lipídico.

Dentre os fatores que determinam a eficácia das substâncias alelopáticas após liberação por organismos, estão a união química com a matéria orgânica do solo, com a argila, as suas concentrações no ambiente, a duração da atividade, a decomposição por microorganismos, a ação sinérgica entre os aleloquímicos e/ou aumento de atividade por outros fatores como o estresse (Rice, 1984).

A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (defensivos agrícolas). A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário, porque na evolução das plantas representaram alguma vantagem contra a ação de microorganismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (Waller *et al.*, 1999).

Os efeitos alelopáticos são mais comuns em comunidades de plantas vizinhas, onde se interagem de forma fisiológica e bioquímica, inibindo o crescimento ou a emergência de

outras (Muller, 1969). Esses processos concedem uma participação especial de substâncias secundárias, as quais estão sempre presentes em conjunto com as substâncias orgânicas do solo.

Em nível do organismo da planta, o aleloquímico atua como um regulador exógeno do crescimento, desenvolvimento e no nível de micropopulação de plantas, atua como regulador da renovação (Grakhov e Didyk, 1996, Neave e Dawson, 1989).

A forma de atuação das substâncias alelopáticas sobre outras plantas não é totalmente específica ou conhecida. Algumas pesquisas têm mostrado que os aleloquímicos interferem no metabolismo, reduzindo a oferta de energia e conseqüentemente impedindo o desenvolvimento normal destes organismos.

Uma mesma substância ao sofrer degradações no solo, pode dar origem a diferentes substâncias químicas com diversas características de toxicidade, induzindo nas plantas diferentes sintomas de atrofia de crescimento, clorose, inibição de desenvolvimento das raízes primárias e incremento das secundárias, abscisão prematura das folhas, retardamento da maturação, inibição da germinação das sementes e deficiência de reprodução (Almeida, 1988).

É importante destacar que as interações que ocorrem são muito complexas, pois os produtos químicos presentes no meio podem vir diretamente de um simples organismo de planta ou surgirem como resultado dos processos de decomposição e formação do húmus no solo (Rodrigues *et al*, 1992).

A maneira como os aleloquímicos atuam nas plantas tem despertado o interesse de muitos pesquisadores. No entanto, este processo ainda encontra-se pouco esclarecido. Sabe-se, porém, que o modo de atuação destas substâncias nos cloroplastos é bastante semelhante aos herbicidas convencionais inibidores da fotossíntese. A dificuldade de se entender este processo é porque, na maior parte dos casos, os aleloquímicos afetam mais de uma função nas plantas, provocando efeitos colaterais difíceis de se distinguirem dos principais (Almeida, 1988).

Outro aspecto que deve ser considerado é que nem sempre os extratos obtidos de vegetais podem ser considerados como material experimental adequado, pois as substâncias contidas neles não disponíveis na natureza (Rodrigues, 1992).

O sintoma alelopático percebido com maior freqüência pelas plantas é a assimilação de nutrientes, que normalmente vem associado à deficiência de outras funções, como a permeabilidade da membrana celular e a respiração. Os compostos da família dos flavonóides estão entre os que mais afetam a assimilação de nutrientes, apresentando

atividades superiores aos ácidos fenólicos neste tipo de inibição (Ladyzhenskaya et al., 1987, Manthe et al., 1992).

Os ácidos fenólicos atuam com mais eficiência na permeabilidade da membrana celular. Como exemplo, o ácido salicílico em pH baixo reduz o teor de ATP nos tecidos das raízes, aumentando a permeabilidade aos íons. Em particular o íon potássio, que é perdido consideravelmente por esses tecidos das plantas (Blum, 1999).

Algumas substâncias alelopáticas da família das lactonas, flavonóides, terpenos voláteis e quinonas podem alterar a produção de ATP em diversas plantas, impedindo o processo respiratório nas mitocôndrias de culturas como aveia, abóbora e milho (Putnam, 1985).

Ácidos ferúlicos, cumarinas e quinonas impedem a incorporação de carbono nas proteínas das sementes e dos embriões de rosas e das algas. Estes efeitos afetam diretamente no crescimento dos tecidos das plantas (Almeida, 1988).

Pesquisas realizadas com vários aleloquímicos demonstraram que os ácidos clorogênico e caféico são inibidores da atividade enzimática da fosforilase na batata. Foi também constatado que os taninos inibem a atividade enzimática da peroxidase, catalase, amilase e várias outras enzimas em diversas plantas. A secreção radicular de algumas culturas impede a atividade da catalase e a peroxidase na ançarinha-branca (*Chenopodium album*) e no caruru (*Amaranthus ssp*) (Almeida, 1988).

Muitos aleloquímicos são conhecidos como inibidores fotossintéticos, desacopladores ou aceptores de elétrons, como por exemplo, os compostos da família dos flavonóides que atuam na inibição do transporte de elétrons e no mecanismo da fotofosforilação nos cloroplastos. Compostos cumáricos e fenólicos reduzem a fotossíntese por diminuírem o conteúdo de clorofilas, sendo que os compostos cumáricos induzem ainda o fechamento dos estômatos (Elio *et al.*, 2004). Não se sabe ainda em qual das etapas do transporte de elétrons estes compostos interferem, pois o mecanismo da fotossíntese é muito complexo, com diversas etapas dependentes de elétrons.

O efeito visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os estudos sobre o efeito de aleloquímicos sobre a germinação e/ou desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de efeitos ocorridos em nível molecular e celular inicialmente. Ainda há relativamente poucas informações sobre estes mecanismos.

O modo de ação dos aleloquímicos pode ser dividido em ação direta e indireta. Nesta última podem ser incluídas alterações nas propriedades do solo, de suas condições

nutricionais e das alterações de populações e/ou atividade dos microorganismos. O modo de ação direto ocorre quando o aleloquímico liga-se às membranas da planta receptora ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo.

De acordo com Rizvi (1992) os aleloquímicos podem afetar: 1- estruturas citológicas e ultra-estruturais; 2- hormônios, tanto alterando suas concentrações quanto o balanço entre os diferentes hormônios; 3- membranas e sua permeabilidade; 4- absorção de minerais; 5- movimento dos estômatos, síntese de pigmentos e fotossíntese; 6- respiração; 7- síntese de proteínas; 8- atividade enzimática; 9- relações hídricas e condução; 10- material genético, induzindo alterações no DNA e RNA.

## 2.9 - Os Herbicidas no Controle de Plantas Daninhas

A indústria dos herbicidas e a pesquisa do controle das plantas daninhas nos últimos 50 anos tem sido direcionada exclusivamente a herbicidas sintéticos (Kropff e Waller, 2000). Por razões práticas os herbicidas se dividem em herbicidas não seletivos ou pré-emergentes e seletivos ou pós-emergentes. Os herbicidas de amplo raio de ação são muito efetivos contra todas as plantas exceto para as variedades resistentes (Mohr e Schopfer, 1995).

O desenvolvimento de herbicidas geneticamente projetados tem promovido a expansão de seu uso. Porém, os sintéticos têm resultados em plantas daninhas resistentes e isso tem aumentado a preocupação sobre o impacto que estes promovem à saúde humana e ao meio ambiente. Essas preocupações estão voltando a atenção para alternativas de tecnologias para o controle das plantas daninhas baseadas em produtos naturais (Macías *et al.*, 1995).

A resistência de plantas daninhas é um processo que ocorre em resposta às aplicações repetidas de herbicidas que apresentam o mesmo mecanismo de ação. Um dos métodos de controle da resistência de plantas daninhas é a rotação de culturas, que permite o controle de diferentes ocasiões durante a estação. Outra opção utilizada é a mudança de aplicação de herbicidas com diferentes mecanismos de ação ou através de misturas dos mesmos (Putnam e Tang, 1986).

O uso indiscriminado e excessivo de herbicidas é resultado de uma visão equivocada do processo agrícola, que gera, como consequência, a crescente resistência de pragas, microorganismos fitopatogênicos e ervas daninhas aos produtos sintéticos, aumentando a dependência de insumos químicos por parte de produtores e impulsionando

a indústria à descoberta e formulação de novos princípios ativos, formando um ciclo vicioso de alto custo econômico e ambiental, contaminação e degradação de solos e águas, desertificação, salinização, redução da biodiversidade e desequilíbrios ecológicos, levando finalmente a insustentabilidade dos sistemas de produção agrícola.

Para o combate de plantas daninhas, a alelopatia é considerada uma estratégia de controle em três aspectos:

- como fator que afeta as mudanças na composição das espécies de plantas daninhas;
- interferência das plantas daninhas no crescimento e rendimento da colheita;
- como possível ferramenta no manejo das plantas daninhas.

Existem muitas razões para o interesse em se obter compostos naturais como herbicidas. Compostos naturais são usualmente mais ecológicos e seguros toxicamente do que compostos sintéticos.

Fitotoxinas podem também agir como inibidores competitivos imitando substratos naturais, intermediários de reação ou outras moléculas necessárias para o funcionamento celular.

Apesar de algumas fitotoxinas naturais possuírem uma estrutura mais complexa do que os herbicidas sintéticos, existe um nível de similaridade entre alguns produtos naturais e alguns herbicidas comerciais.

A maneira mais óbvia de um aleloquímico poder ser utilizado como herbicida é aplicá-lo da mesma forma que o sintético. Muitos destes compostos são ativos o suficiente para matar uma planta em uma concentração milimolar, como demonstrado nos testes de placa de Petri. Sua atividade herbicida é geralmente muito menor no solo. A maioria dos herbicidas comerciais modernos são ativos em concentrações milimolares tanto no solo quanto aplicado como spray foliar; ou seja, são milhares de vezes mais ativos do que a maioria dos aleloquímicos reportados na literatura (Reigosa e Pedrol, 2002).

Os herbicidas sintéticos têm uma grande variedade estrutural com diferentes mecanismos de ação. Cada vez é mais difícil descobrir novas estruturas que sirvam de modelo para a síntese de herbicidas comerciais e que sejam benignos para outras formas de vida. As estratégias modernas para o descobrimento de novos agroquímicos estão direcionadas nos produtos naturais porque oferecem um impacto reduzido sobre o meio ambiente, têm novos sítios de interação e possuem especificidade.

Somente alguns aleloquímicos são possíveis de serem lançados no mercado. Isso se explica por várias razões: Muitas fitotoxinas naturais que têm potencial como herbicidas são extremamente caras para síntese, além de possuírem uma complicada estrutura

química, com múltiplos centros assimétricos, tornando-se economicamente inviável (Reigosa e Pedrol, 2002).

## 2. 10 - Métodos utilizados em pesquisa sobre alelopatia

Para verificar efeitos alelopáticos, os testes de germinação, em geral, são menos sensíveis do que aqueles que avaliam o desenvolvimento das plântulas, como por exemplo massa ou comprimento da radícula ou parte aérea.

Porém, a quantificação experimental é muito mais simples, pois para cada semente o fenômeno é discreto, germina ou não germina. Nesse contexto, substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns.

Assim, a avaliação da normalidade das plântulas é um instrumento valioso. Quando os ensaios são realizados em placa de petri ou caixas tipo gerbox, a extensão da radícula, que deve ser no mínimo 50% do tamanho da semente (ou diásporo), é o critério usual para germinação.

Usando rolo de papel ou solo, a visualização da radícula não é o critério utilizado para contabilizar a germinação. Para testes alelopáticos, recomenda-se o critério morfológico de germinação, ou seja, emergência da radícula, como primeira abordagem, devendo ser seguido por testes de germinação em solo ou areia. Justamente por ser mais fácil a tomada de dados, existe extensa literatura apontando efeitos alelopáticos sobre a germinação (Rice, 1984; Putnam e Tang, 1986).

### 2.10. 1 - Germinação de sementes em laboratório:

Os testes de germinação a serem realizados são simples, no entanto, há uma série de cuidados que devem ser tomados para que se possa ter respostas reproduzíveis. Os testes podem ser realizados em laboratório a temperatura ambiente, porém, como a temperatura influi sobre a germinação, o controle desta é desejável. O uso da temperatura entre 22 e 28 °C é o procedimento mais comum. Outro cuidado é que as placas não sequem. A colocação de duas ou três folhas de papel filtro ou absorvente no fundo da placa diminui o problema. Colocar algodão sob o papel ou fina camada de esponja neutra desinfestada pode ser uma boa alternativa. O uso de ágar-gel é também uma possibilidade interessante, mas, neste caso, o gel deve ser de boa qualidade para que este não acrescente mais fontes de

interferência. Deve ser evitado o alagamento das placas para que as sementes não “boíem”. O uso de películas plásticas vedando as tampas das placas ou caixas gerbox também auxilia. Por último, a colocação de uma ou mais vasilhas com água no interior da câmara pode evitar problemas de ressecamento das placas. Deve-se alertar que a evaporação dos extratos tornam-nos mais concentrados, o que pode falsear os resultados. As sementes teste podem ser de espécies que se encontrem no “local a campo”. Como as espécies nativas, amiúde, possuem algum tipo de dormência, o uso de sementes de espécies cultivadas, de boa qualidade, é aconselhável. Tomate e alface são duas espécies em que as “sementes” (alface é um aquênio) são facilmente encontradas e bastante sensíveis a vários aleloquímicos. A germinação deve ser verificada diariamente ou até de 8 em 8 horas, para contabilizar as sementes germinadas. O critério deve ser do aparecimento da curvatura geotrópica da radícula ou o seu tamanho ser no mínimo 50% do tamanho da semente, para evitar falsa germinação por expansão do embrião com a embebição (Labouriau, 1983). Muitas vezes, o efeito alelopático apenas retarda o processo germinativo. Tomate e alface, em geral, germinam em 72 horas, dependendo da temperatura. A análise da velocidade, taxa e comportamento da curva acumulada de germinação pode dar indicações importantes sobre o alelopático.

#### 2.10. 2 - Germinação em casa de vegetação ou canteiro:

Areia lavada (que tem menor interação com as substâncias testes) ou solo, ambos esterilizados, são utilizados, mas “fumigações” devem ser evitadas para estudos de alelopatia. Então, ao utilizar substrato natural sem esterilização deve-se assumir que há uma dinâmica de transformações no solo difícil de acompanhar e de reproduzir. A germinação será acompanhada pela emergência da plântula na superfície do substrato, uma vez que a semente é enterrada. Neste caso, se houver dormência regida pela luz, deverá haver um pré-tratamento para sua quebra. Aliás, quaisquer tipos de dormência eventualmente existentes devem ser quebrados antes do teste de alelopatia. Usando-se vasos ou canteiros, dois procedimentos mais usuais são seguidos: 1- adicionar o material que se suspeita tenha o alelopático, incorporando-o ao substrato; 2 - lixiviar o material repetidas vezes, obtendo-se assim um percolado que contém o(s) aleloquímico(s). Quando o aleloquímico é volátil, ele pode ser testado usando-se o procedimento de colocar o material em frascos menores, dentro de um frasco maior, o qual será tampado, após

colocar-se placas forradas com um substrato úmido com as sementes dos bioensaios. Os volátil(eis) liberado(s) poderá(ão) influir, então, na germinação (Chou, 1999).

## 2. 11 - Distribuição e ocorrência de Plantas do Cerrado estudas neste trabalho

### 2.11. 1 - *Panicum maximum* (Capim-colonião)

Conhecido vulgarmente como capim-colonião, esta planta é cientificamente denominada *Panicum maximum*. Têm-se efetuado hibridações artificiais e muitos híbridos tem se apresentado com características peculiares.

No Brasil, as primeiras introduções foram feitas no tempo da escravatura. Através dos anos muitas variedades e cultivares têm sido introduzidos. Hoje, plantas dessa espécie são encontradas em quase todo o território nacional (Figura 2).

As vantagens positivas apresentadas são que se trata de uma das melhores forrageiras para regiões quentes e produz enorme quantidade de massa verde, durante todo o ano.



Figura 2. *Panicum maximum*

Plantas novas chegam a conter 13% de proteínas. As sementes são apreciadas por diversos tipos de pássaros.

As desvantagens são que pela agressividade e resistência esta espécie é considerada infestante em mais de vinte tipos de culturas. A cultura mais afetada é a da cana-de-açúcar.

Existe uma certa semelhança entre plantas novas de coloniãõ e de cana, de modo que uma infestação pode passar despercebida até que se inicie a formação de panículas.

Os prejuízos são de competição direta e de colheita, pois um canavial infestado é muito difícil de ser colhido.

O *Panicum maximum* é bastante resistente ao sombreamento, ocorre também em culturas de café e de cítricos. Pode também ser hospedeira alternativa do vírus da “folha branca” do arroz.

Pode acumular grande quantidade de glucosídeos cianogênicos nas inflorescências, com efeito tóxico muito rápido. Animais intoxicados podem morrer sem que haja tempo de se notarem sintomas.

#### 2.11. 2 - *Amaranthus hypochondriacus* (Caruru)

Pertencente à família Amaranthaceae e o tipo taxonômico Terófito.

- ✓ Erva com caules eretos ou suberetos, robustos, 3-25 dm de altura, normalmente ramosos, às vezes vermelho-tingidos. Folhas delgadas-pecioladas; lâminas lanceoladas, ovadas ou rombiforme-ovadas, normalmente agudas, 3-15 cm de comprimento.
- ✓ Flores em espigas paniculadas, 2-6 cm de comprimento e 6-12 mm de diâmetro; brácteas e bractéolas 2 vezes o tamanho dos sépalos ou menos, lanceoladas ou ovadas com ápices espinhosos. Sépalos normalmente 5, os masculinos estreito-oblongos até ovados, os femininos oblongos, 1,5-2 mm de comprimento subigualando o fruto.
- ✓ Fruto subgloboso, deiscente transversalmente, às vezes ruguloso; semente 1 mm de diâmetro, fulgente.

É nativo da América do Norte, mas foi introduzido em grande parte do mundo, principalmente em regiões tropicais e temperadas. Muitas espécies se distribuem extensamente como ervas daninhas. Espécie seletiva higrófito até mesófito, heliófito, característica e exclusiva da subsera, encontrando-se de preferência nas roças de solos úmidos e férteis como coivaras ou recentemente amanhados para as culturas do milho, feijão, batatinha etc. de permeio às quais, forma colônias, por vezes, bastante densas. Sua propagação é efetuada principalmente através do estrume do gado. Além de sua vasta difusão pelos terrenos de cultura, também é encontrada freqüentemente nas proximidades das habitações rurais, fazendas, hortas, terrenos baldios, estrumeiras, bem como não raro, ainda se fixa nas fendas das calçadas e nas proximidades dos muros nas cidades. Como

espécie mesófito e parcialmente tolerante à sombra, não raro é observada ainda nas capoeirinhas dos primeiros estágios, onde não chega a formar os agrupamentos densos dos terrenos de cultivo e hortas (Figura 3).

Possui importância como planta ornamental e medicinal, com propriedades adstringentes, anti-sépticas, regulador menstrual, diurético e tônico. Sua floração ocorre o ano todo.



Figura 3. *Amaranthus hypochondriacus*

### 2.11. 3 - *Physalis ixocarpa* (Tomate Verde)

Pertence à família das Solanaceae.

Possui troncos herbáceos. Alguns possuem rizomas curtos a alongados; as folhas são ovadas a lineares e, geralmente alternos. As flores são solitárias nos ápices das folhas, algumas vezes pendentes nos troncos auxiliares, as quais se escondem em meio as folhas. As pétalas são geralmente amarelas com um ponto roxo escuro perto da base de cada pétala. O cálice é unido, cujos lóbulos possuem mais da metade do seu tamanho. O androceu tem 5 estames, com os filamentos unidos à base do tubo da corola. As anteras são ovados-oblongos e descendentes por réguas laterais (Figura 4). Encontrado principalmente na América Latina.



Figura 4. *Physalis ixocarpa*

#### 2.11. 4 - *Trifolium alexandrinum* (Bersim)

Pertence à família Fabaceae.

Possui aproximadamente 30-60 cm de altura. As hastes se originam e ascendem ramificados da base. As folhas são alternadas. Partes adnatas dos estipulos são oblongos, membranosos, com nervos verdes (Figura 5).

A sua polinização cruzada é realizada por insetos. O Bersim é cultivado principalmente em terras irrigadas, subtropicais. Cresce em solos bem adubados, contanto que não estejam encharcados. Tolerante a concentrações relativamente altas de sal. Encontrado no Egito, Estados Unidos e sul da Europa.

Sua propagação é dada somente pela semente e é usado como pastagens em meses frios.



Figura 5. *Trifolium alexandrinum*

### 2.11. 5 - *Lolium perene* (azevém-perene)

Espécie pertencente à família Poaceae (Gramineae). Apresenta o tipo fisionômico “Hemicriptófito”. Planta perene, de 40-60 cm de altura, com colmos ascendentes e folhas com lâminas planas, 2-4 mm de largura, as jovens com colmos estéreis conduplicadas. Inflorescências muitas vezes curvadas, 15-25 cm de comprimento, laxas. Espiguetas compridas, 6-10-floras. Glumas mais curtas que o lema próximo. Lemas oblongo-lanceolados, 5-7 mm de comprimento inermes ou quase.

Sua distribuição abrange quase toda a Europa, Cáucaso, Ásia Mediterrânea e norte da África. No Brasil, abrange desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul; desenvolveu-se como planta espontânea nos campos naturais, campos manejados, banhados dos campos e terrenos de cultivo (Figura 6).

É cultivada como forrageira, principalmente em regiões temperadas do mundo; especial para prados temporários ou permanentes, muito apreciada por bovinos, eqüinos, caprinos e ovinos, mas que algumas pessoas julgam imprópria para a engorda do gado vacum. Sua época de floração no Brasil é de novembro a fevereiro.



Figura 6. *Lolium perene*

### 2.11. 6 - *Cenchrus echinatus* (Timbete)

O gênero *Cenchrus* é constituído por 23 espécies, sendo *Cenchrus echinatus*, comumente conhecido por timbete ou capim-carrapicho, a mais importante, com maior ocorrência na região dos Cerrados (Embrapa, 2001).

Espécie pertencente à família Poaceae. Plantas anuais ou bienais, sem rizomas; colmos herbáceos, decumbentes a eretos, 10-70 cm. Bainhas foliares quilhadas, pilosas a glabras; lâminas 6-17×0,7-1,3 cm, pilosas a glabras; lígula ca. 1 mm, não circundada por tricomas. Panícula compacta a laxa, 2,8-8×0,5-2 cm, verde ou arroxeadada; ráquis ereta ou flexuosa; involúcro espinescente, 10-12×8-11 mm, com pubescência variável; setas 1-7 mm, flexíveis, retrorso-escabras, às vezes antrorso-escabras na base, não ultrapassando a espiguetas; cerdas unidas até acima da metade do involúcro, 5-12 mm, retrorso-escabras, achatadas, rígidas, dispostas em uma única série, sem sulco longitudinal. Espiguetas 1-6 por involúcro; gluma inferior ca. 1 mm, 1-nervada; gluma superior 3,5-5 mm, 5-nervada. Cariopse(fruto) castanha, ca. 3×2 mm; embrião mais de 2/3 do comprimento da cariopse.

Reprodução por sementes. Folhas alternadas dísticas, lanceoladas típicas; glabras; paralelinérveas. Flores em cachos ou ráceros, aperiandadas, hermafroditas (Figura 7). Planta nativa na América tropical (Estados Unidos, América Central, Antilhas e América do Sul). Introduzida nas Ilhas do Pacífico, Filipinas e Austrália. Planta invasora, comum em todo o território brasileiro. Presente em áreas alteradas, beira de estradas ou outros locais sem a vegetação nativa. Coletada com flores e frutos durante todo o ano.

É uma gramínea altamente competitiva com as culturas em água, nutrientes e luz. Espécie infestante em culturas anuais e perenes, além de terrenos baldios e beirada de estradas. É infestante do elenco daquelas que mais dificultam as colheitas, pelo fato de seus frutos serem espinescentes. Invadem culturas de algodão, amendoim, arroz de sequeiro, café, cana-de-açúcar, feijão, frutíferas, fumo, mandioca, milho, pastagem, soja e sorgo. Indica campos agrícolas muito decaídos, erodidos e adensados. Surge também em pastagens onde o pisoteio foi intenso em época adversa. Quando o solo é afogado, desaparece.



Figura 7. Detalhes das diversas partes do *Cenchrus echinatus*

### 3 - OBJETIVOS

Visando descobrir o potencial fitotóxico do extrato metanólico bruto do *Cenchrus echinatus* (timbete), os objetivos deste trabalho são:

- 1 - Comprovar a atividade alelopática do extrato bruto metanólico mediante a avaliação do seu efeito inibitório na germinação de sementes e desenvolvimento de raiz e parte aérea (caule) de diversas plantas.
- 2 - Realizar o fracionamento cromatográfico do extrato bruto da raiz de timbete e realizar os bioensaios do item 1 com as frações obtidas.
- 3 - Identificar os compostos químicos presentes nas frações ativas responsáveis pelo comportamento inibitório. Esta identificação será feita através de ensaios químicos e através de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas.

### 4 - MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- ✓ Triturador;
- ✓ Bomba de pressão reduzida;
- ✓ Vaporador rotativo Marca: Fisaton;
- ✓ Balança Eletrônica (marca: Gehaka BG 200);
- ✓ Equipamento CG-EM SHIMADZU QP 5000
- ✓ Papel de filtro;

- ✓ Placas de Petri;
- ✓ Funil de porcelana;
- ✓ Funil de placa porosa;
- ✓ Erlenmeyer;
- ✓ Béquer de vidro;
- ✓ Espátulas metálicas e plásticas;
- ✓ Tubos de ensaio de vidro;
- ✓ Colunas de vidro com gotejador (medida: 1 a 1,5 m);
- ✓ Pinça metálica;
- ✓ Micropipetas graduadas (100 L marca: Rainin);
- ✓ Colunas de vidro com gotejador (medida: 1 a 1,5 m);
- ✓ Agitador de tubos (marca: Phoenix AP56);
- ✓ Germ Box (dimensões: 11x 11 cm);
- ✓ Câmara Germinadora ;
- ✓ Timbete;
- ✓ Sementes de *Panicum Maximum*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Trifolium alexandrinum* e *Physalis ixocarpa*;
- ✓ Reagentes para Testes Fitoquímicos (reagente de Mayer, Wagner, Dragendorff, Baljet, Kedde, Raymond-Marthoud, Liebermann-Burchard, Salkowski e Citrobórico Borntrager);
- ✓ Solventes: Metanol, Acetato de Etila, Diclorometano, Hexano, Peróxido de Oxigênio (marcas: Synth, Quimex, Isofar);
- ✓ Celite (marca: Reagen);
- ✓ Carvão Ativo (marca: Synth);
- ✓ Sílica para cromatografia (marca: Vetec 60G F254);

## 5 - METODOLOGIA

### 5. 1 - Local e data dos experimentos:

Porções de diferentes partes da planta (caule, raiz, folha e espinho) previamente identificada como *Cenchrus echinatus* (timbete) foram coletadas separadamente no município de Uberlândia-MG, para posterior lavagem e secagem em estufa a 45 °C, até atingir massa constante. O material seco foi triturado e peneirado (malha de 0,5 mm aproximadamente) até obtenção de um pó homogêneo.

### 5. 2 - Obtenção de extratos:

Para obtenção do extrato foram usadas 300,00 g de amostra em 1,0 litro de metanol (para cada parte da planta). Obteve-se um rendimento de 2,7%. Após um período de agitação, que pode variar de 4 a 12 horas, durante sete dias, a mistura foi filtrada em funil de placa porosa e os filtrados obtidos foram concentrados por destilação a pressão reduzida, com auxílio de um vaporador rotativo.

### 5. 3 – Preparo das soluções:

Deste extrato foram preparadas soluções aquosas de concentrações 25, 50, 100, 150 e 200 ppm. Estas soluções foram utilizadas para ensaios de germinação em placas de petri e em casa de vegetação.

⇒ Reagente de Mayer (teste para alcalóides):

Misturaram-se 1,36 g de  $\text{HgCl}_2$  em 60 mL de água e 5 g de KI em 10 mL de água destilada. Diluiu-se para 100 mL.

⇒ Reagente de Wagner (teste para alcalóides):

Dissolveram-se 1,27 g de iodo e 2 g de iodeto de potássio em 5 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL com água.

⇒ Reagente de Dragendorff (teste para alcalóides):

Solução A: dissolveu-se 1,7 g de nitrato de bismuto(III) e 20 g de ácido tartárico em 80 mL de água destilada.

Solução B: dissolveu-se 16 g de iodeto de potássio em 40 mL de água.

Reagente: misturaram-se partes iguais de A e B.

⇒ Reagente de Baljet (teste para glucosídeos cardiotônicos):

Solução A: 1 g de ácido pícrico em 100 mL de etanol.

Solução B: 10 g de NaOH em 100 mL de água destilada.

Reagente: misturaram-se partes iguais de A e B.

⇒ Reagente de Kedde (teste para cardenólidos):

Solução A: Ácido 3,5- dinitrobenzóico a 3% em metanol.

Solução B: KOH a 5,7% em água destilada.

Reagente: misturaram-se partes iguais de A e B.

⇒ Reagente de Raymond-Marthoud (lactônicos dos cardenólidos):

Dissolveu-se 1 g de *m*-dinitrobenzeno em etanol, completando-se o volume a 100 mL.

⇒ Reagente de Liebermann-Burchard (teste para glucosídeos cardiotônicos):

Misturou-se 10 mL de anidrido acético e duas gotas de ácido sulfúrico concentrado.

⇒ Reagente de Salkowski (esteróides):

Ácido sulfúrico concentrado.

⇒ Reagente citrobórico:

Dissolveu-se 5 g de ácido bórico e 5 g de ácido cítrico em etanol e completou-se o volume da solução a 100 mL.

⇒ Solução de cloreto férrico:

Preparou-se uma solução 10% de cloreto férrico em água destilada.

⇒ Gelatina:

Preparou-se uma solução 1% de gelatina Merck em água destilada.

⇒ Gelatina-sal:

Dissolveram-se 1 g de gelatina Merck e 10 g de cloreto de sódio em água destilada completando-se o volume da solução a 100 mL.

⇒ Solução salina:

Dissolveu-se 10% de cloreto de sódio em água destilada.

⇒ Reagente de Bornträger (teste para antraquinonas):

Preparou-se uma solução de NaOH a 5% em água destilada.

#### 5. 4 – Fracionamento do extrato metanólico:

O extrato metanólico primeiramente foi incorporado à sílica gel em proporções equivalentes. A incorporação foi conduzida até que o extrato obtivesse aspecto de um pó homogêneo. Para este procedimento utilizou-se o evaporador rotativo a pressão reduzida e temperatura que não excedeu a 40 °C. Após este procedimento, a mistura foi colocada em um sistema de filtragem constituído por uma coluna cromatográfica empacotada com sílica gel como fase estacionária. Com este fracionamento obteve-se um total de sete frações com aspectos e cores diferentes. A relação dos solventes e as frações obtidas estão representadas na Tabela 1.

Em seguida foram realizados os ensaios de germinação em placas de Petri, utilizando soluções aquosas de concentração 200 ppm destas sete frações. As soluções aquosas das frações foram preparadas utilizando 0,0200 g da amostra, primeiramente diluída em 0,1 mL de solvente N,N-dimetilformamida, e o volume completado para 100 mL com água.

Tabela 1 – Proporção dos eluentes usados no fracionamento do extrato metanólico

Fração	n-Hexano (%)	Diclorometano (%)	Acetato de etila (%)	Metanol (%)
1	100	0	0	0
2	0	100	0	0
3	0	0	100	0
4	0	0	90	10
5	0	0	70	30
6	0	0	50	50
7	0	0	0	100

#### 5. 5 - Germinação:

Anterior à realização dos testes de germinação, foi realizada a quebra de dormência das sementes de *Panicum maximum*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Trifolium alexandrinum* e *Physalis ixocarpa*, pré-selecionadas e esterilizadas durante 2 minutos com hipoclorito de sódio, numa solução a 10 % v/v.

Nos ensaios para a verificação do potencial fitotóxico, foram utilizadas, em triplicata, concentrações de zero (controle), 25, 50, 100 e 150 ppm do extrato para os bioensaios feitos nas placas de Petri, e concentrações de zero (controle), 50, 100, 150 e 200 ppm do extrato para os bioensaios feitos em condições de casa de vegetação, em H<sub>2</sub>O bidestilada e deionizada. As placas de Petri com papel de filtro foram previamente esterilizadas e cada parcela experimental foi constituída por 15 sementes. A terra utilizada também foi esterilizada e cada parcela experimental foi constituída por 10 sementes.

As placas foram transferidas para um germinador onde permaneceram por período de 6 a 8 dias, a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 10 horas. Os testes que foram feitos em condições de *casa de vegetação* tiveram o mesmo período de germinação. Uma vez que estes foram realizados com o objetivo de estarem o mais próximo possível das condições reais de cultivo, foram realizados a temperatura ambiente e fornecimento de luz solar, com fotoperíodo de aproximadamente 11 horas.

Desta forma foi realizada a medição (comprimento) da parte aérea e da radícula.

## 5. 6 - Identificação qualitativa de metabólitos secundários presentes no extrato.

Os metabólitos secundários foram identificados pelo reconhecimento de grupos funcionais, usando diferentes reativos (os grupos funcionais foram caracterizados de acordo com os procedimentos descritos por Ugaz, 1994):

### a. Alcalóides

Levou-se à secura 30,00 mL de extrato metanólico da planta, adicionaram-se 5,00 mL de HCl (10%) e esquentou-se por 10 minutos. Esfriou-se, filtrou-se, dividiu-se o filtrado em três tubos de ensaios e colocaram-se algumas gotas dos reativos de reconhecimento: Dragendorff, Mayer e Wagner. Uma leve turbidez ou precipitado (respectivamente roxo a laranja, branco a creme e marrom) evidencia a possível presença dos mesmos.

### b. Glucosídeos Cardiotônicos

A 10,00 mL de extrato metanólico da planta adicionaram-se 5,00 mL de solução de acetato de chumbo a 10% e 4,00 mL de água destilada. Esquentou-se a mistura em banho-maria durante 10 minutos. Filtrou-se. O filtrado foi adicionado em 20,00 mL de clorofórmio e agitado. Separou-se a fase clorofórmica em 6 tubos de ensaio, levando à secura. Adicionou-se:

- Ao primeiro tubo, 1,00 mL de Reativo de Baljet. Coloração roxa, laranja-roxeada ou violeta são glucosídeos cardiotônicos.
- Ao segundo, 1,00 mL de Reativo de Kedde. Coloração rosa ou azul-violeta ao visível indicam cardenólidos. Os bufadienólidos não reagem. A cor se atenua em poucos minutos.
- Ao terceiro, 1,00 mL de Reativo de Raymond-Marthoud. Coloração roxa, laranja-roxeada ou violeta indicam a presença de anéis lactônicos dos cardenólidos.
- no quarto, realizou-se a reação de Keller-Kiliani (ácido acético glacial, uma gota de cloreto férrico a 5% em metanol e ácido sulfúrico concentrado). Colorações intensas.
- no quinto, realizou-se a reação de Liebermann-Burchard (1,00 mg da amostra/ algumas gotas de ácido acético + 3,00 mL anidrido acético/ ácido sulfúrico (50:1, v/v)). Coloração verde, azul esverdeado, roxo a azul.
- no sexto, realizou-se a reação de Salkowski para a determinação de núcleo esteroidal. Coloração amarelo-roxo sangue.

c. Cumarinas voláteis

Em um tubo de ensaio colocou-se 2,00 mL de extrato metanólico da planta, tampou-se com papel de filtro impregnado com solução diluída de NaOH e levou-se a banho de água a 100° C por alguns minutos. Removeu-se o papel de filtro e examinou-se sob luz UV, fluorescência amarela indicaria a presença de cumarinas.

d. Flavonóides

Colocou-se em um tubo, 2,00 mL do extrato metanólico, alguns fragmentos de Mg e agregou-se, pelas paredes do tubo, algumas gotas de HCl diluído. Observou-se a coloração, que varia para as diferentes estruturas.

e. Taninos

Evaporaram-se 5,00 mL do extrato metanólico e dissolveu-se o resíduo em 10,00 mL de água destilada. Filtrou-se. A 3,00 mL do extrato aquoso, adicionou-se 1 ou 2 gotas de solução de cloreto férrico a 10%. Coloração azul indica possível presença de taninos hidrolizáveis, e coloração verde de taninos condensados.

f. Saponinas

Evaporaram-se 5,00 mL do extrato metanólico e colocou-se água fervendo. Esfriou-se, agitou vigorosamente e deixou em repouso de 15 a 20 minutos. Classifica-se a presença de saponinas pela formação de espumas.

g. Triterpenos e/ou esteróides

Levou-se à secura 10,00 mL do extrato metanólico da planta, adicionaram-se 10,00 mL de clorofórmio, filtrou-se, dividiu-se o filtrado em duas porções. Em cada um dos tubos realizou-se as reações de Liebermann-Burchard e Salkowski.

h. Derivados antracênicos livres: quinonas

Colocou-se em um tubo de ensaio 0,20 g do extrato e adicionaram-se 5,00 mL de clorofórmio e agitou-se. Deixou-se em repouso por 15 minutos. Recolheu-se a fase clorofórmica e dividiu-a em dois tubos de ensaio. No primeiro tubo, colocou-se 1,00 mL de solução aquosa de NaOH a 5%. Coloração roxa em fase aquosa indica a presença de antraquinonas (Reação de Borntraeger). No segundo tubo, adicionou-se 1,00 mL de solução de acetato de magnésio a 5 % em metanol. Coloração roxa indica a presença de antraquinonas livres.

Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foi feita num aparelho da marca Shimadzu, modelo GC17A/QP5000. Foi usada uma coluna capilar DB-5 de 30 m, 0,25 mm de d.i. e 0,25 µm de filme. O programa de temperatura foi de 60-240 °C (3 °C min<sup>-1</sup>), 240 °C (20 min). A energia de impacto foi de 70 eV e foram captados os fragmentos de 40 a 650 u. Um µl de amostra, dissolvido em diclorometano, foi injetado.

A identificação dos compostos foi feita por meio das bibliotecas de espectros de massas da Wiley (229) e por índices de Kovat (Adams, 2001).

## 6 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, foram realizados testes de germinação com os extratos metanólicos de folhas e espinhos do timbete. Através destes testes, constatou-se que estes dois extratos não apresentaram nenhuma ação inibitória sobre o *Panicum maximum*.

Em seguida, foi realizado um bioensaio com o extrato metanólico de caule *Cenchrus echinatus* em sementes de *Panicum maximum*, utilizando placas de Petri como meio de germinação.

Os trabalhos foram iniciados em colaboração com discentes de Iniciação Científica do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (Radi e Hernández-Terrones, 2005). Na Figura 8 estão os resultados obtidos da germinação e desenvolvimento das sementes de *Panicum maximum* em presença do extrato metanólico de caule de timbete. Analisando o gráfico da Figura 8, observa-se que o extrato metanólico de caule mostrou considerável inibição sobre o *Panicum maximum* notavelmente com 100 ppm do extrato. Pode-se notar também que houve um aumento no crescimento da raiz e na germinação na concentração de 25 ppm. Isto se deve ao fato do extrato ter beneficiado o desenvolvimento das sementes nestes dois parâmetros ao invés de prejudicar. No crescimento da parte aérea o extrato apenas inibiu, sem nenhum efeito benéfico. A partir de 50 ppm obteve-se apenas inibição, exceto para a germinação na concentração de 50 ppm onde teve-se o mesmo resultado quando comparado com o controle.

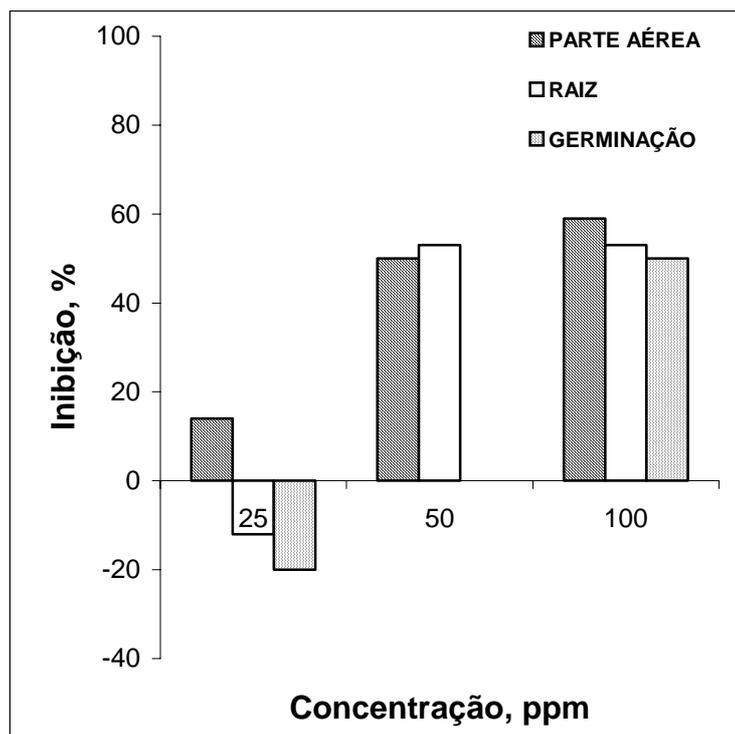


Figura 8 . Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Panicum maximum*, em placas de Petri.

Como os resultados obtidos com o extrato metanólico do caule foram satisfatórios, resolveu-se fazer os testes nas sementes de interesse (*Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Trifolium alexandrinum* e *Physalis ixocarpa*), mesmo sem fazer o teste com o extrato metanólico da raiz com o *Panicum maximum*.

Nas Figuras 9 a 16 são apresentados os resultados das propriedades fitotóxicas dos extratos metanólicos de caule e raiz de timbete no desenvolvimento de sementes de *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Trifolium alexandrinum* e *Physalis ixocarpa* em placas de Petri.

As Figuras 9 e 10 apresentam os resultados da aplicação dos extratos de caule e raiz do timbete na semente de *Amaranthus hypochondriacus*, em placas de Petri.

A Figura 9 mostra que os resultados não foram satisfatórios. O extrato incentivou o crescimento da parte aérea, com o aumento da concentração de extrato. Nos demais parâmetros estudados houve, inicialmente, uma pequena inibição, voltando a aumentar novamente para a raiz, já para germinação ocorreu um decréscimo na inibição. Assim, pode-se dizer que o extrato metanólico de caule de timbete não apresentou uma boa inibição nas sementes de *Amaranthus hypochondriacus*. A parte mais afetada por este extrato foi a raiz.

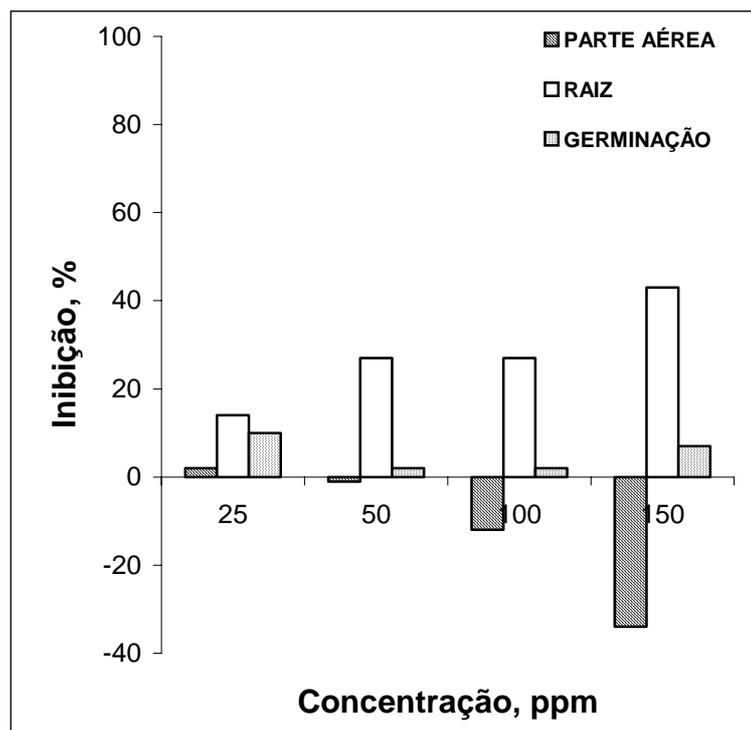


Figura 9. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Amaranthus hypochondriacus*, em placas de Petri.

O mesmo não pode ser dito para o extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus*. A Figura 10 mostra os resultados obtidos na aplicação deste no *Amaranthus hypochondriacus*. Nota-se que todos os parâmetros dispostos neste gráfico foram inibidos, com exceção da raiz na concentração de 25 ppm. Na concentração de 100 ppm, houve total inibição da germinação e, conseqüentemente, da raiz e parte aérea. Estes dados demonstram que a concentração de total inibição está compreendida entre 50 e 100 ppm.

Analisando as Figuras 9 e 10 é visível que o extrato metanólico de raiz de timbete apresentou uma melhor inibição do que o extrato metanólico de caule sobre o *Amaranthus hypochondriacus*.

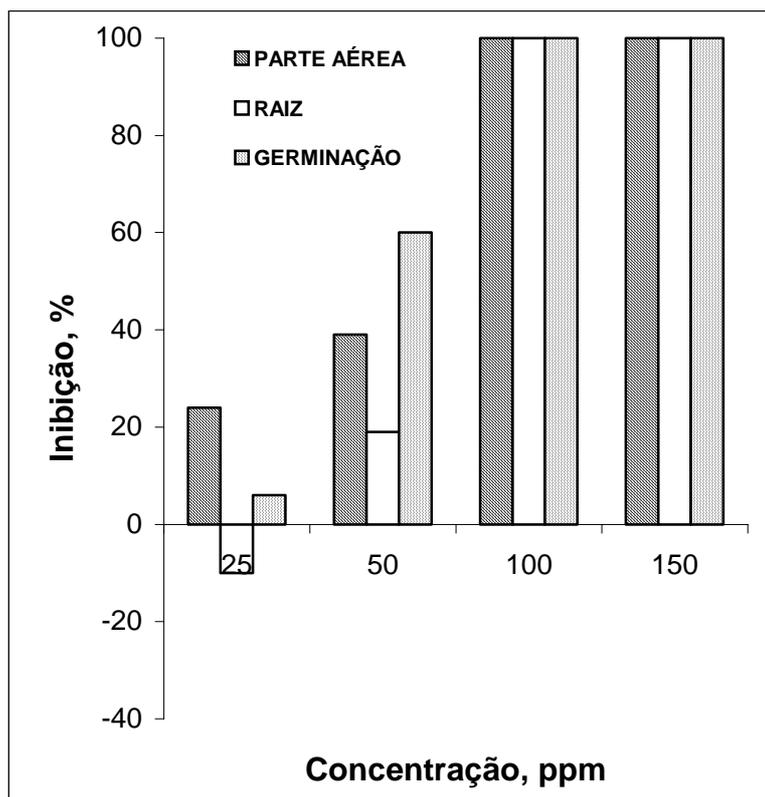


Figura 10. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Amaranthus hypochondriacus*, em placas de Petri.

As Figuras 11 e 12 apresentam os resultados obtidos na aplicação dos dois extratos metanólicos de *Cenchrus echinatus* em estudo nas sementes de *Physalis ixocarpa*, feitas em placas de Petri.

Analisando as duas Figuras simultaneamente, pode-se notar que o extrato metanólico de raiz foi mais eficiente na inibição do que o extrato metanólico de caule.

Na Figura 11, nota-se que os efeitos do extrato metanólico de caule foram variados. A raiz foi a parte mais atingida pelo extrato metanólico de caule e a menos afetada foi a parte aérea, que apresentou um considerável aumento no seu crescimento na concentração de 25 ppm. A raiz apresentou também um leve crescimento nesta concentração, enquanto que a germinação permaneceu quase que constante.

Já na Figura 12, pode-se notar que os efeitos inibitórios do extrato metanólico de raiz foram mais eficientes. Houve discrepância na curva da germinação, que aumentou nas concentrações de 25 e 50 ppm. Houve também um ligeiro aumento na inibição da raiz conforme aumentou a concentração. Já para a concentração de 100 e 150 ppm a inibição na parte aérea praticamente não alterou.

É possível perceber que *Amaranthus hypochondriacus* foi mais afetada que *Physalis ixocarpa*, comparando as Figuras 10 e 12.

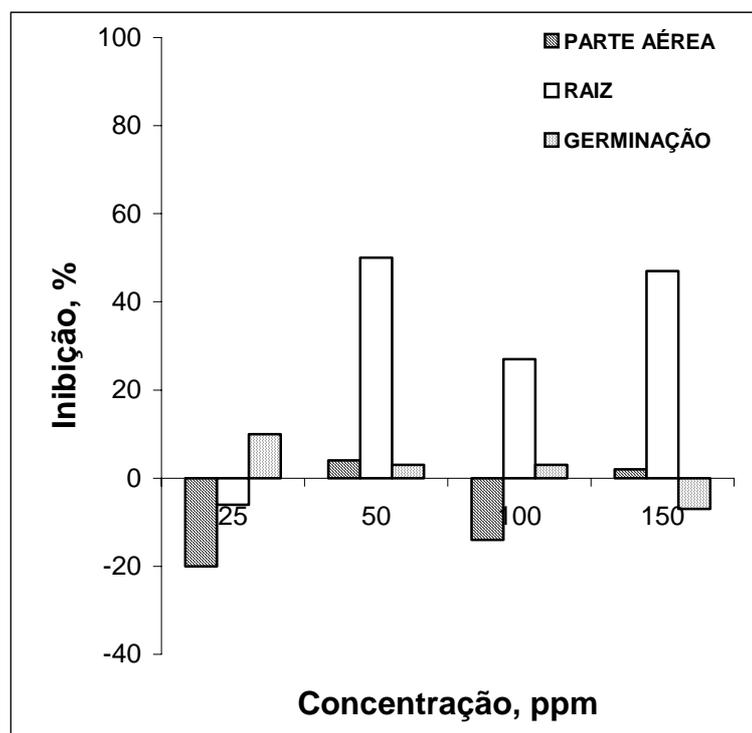


Figura 11. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Physalis ixocarpa*, em placas de Petri.

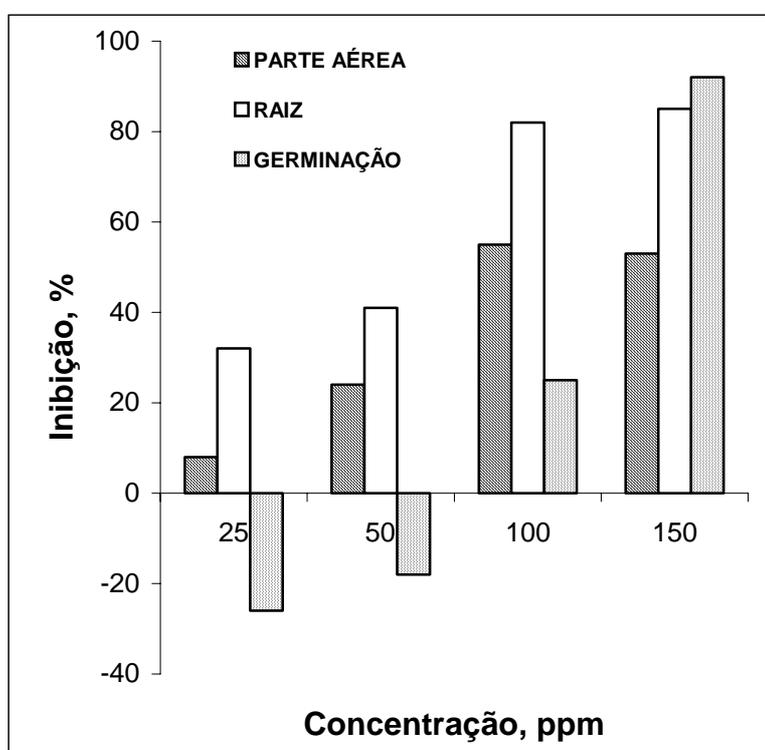


Figura 12. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Physalis ixocarpa*, em placas de Petri.

As Figuras 13 e 14 apresentam os resultados dos extratos *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Trifolium alexandrinum*, sob a ação dos extratos metanólico de caule e raiz, respectivamente.

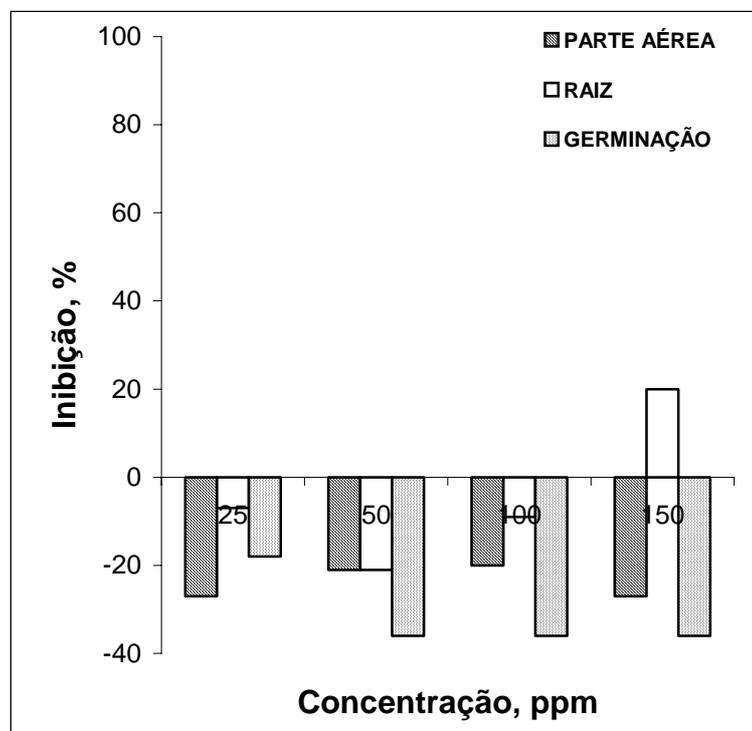


Figura 13. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Trifolium alexandrinum*, em placas de Petri.

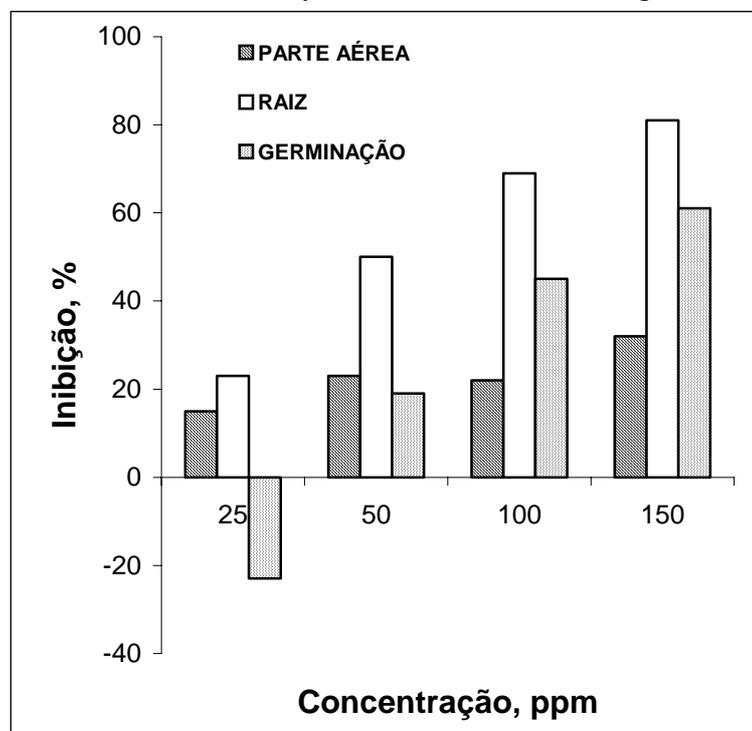


Figura 14. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Trifolium alexandrinum*, em placas de Petri.

Também nesta semente, o extrato metanólico de raiz demonstrou maior poder inibitório do que o extrato metanólico de caule. Como pode ser percebido, na Figura 13, houve uma pequena inibição da raiz na concentração de 150 ppm. Houve um aumento nas demais concentrações, tanto na germinação, quanto no comprimento de raiz e de parte aérea. Isto demonstra que o extrato metanólico de caule apresenta pouco ou nenhum poder de inibição sobre esta semente. Pode-se dizer, até mesmo que o *Trifolium alexandrinum* apresentou a melhor resistência à ação inibitória deste extrato.

No caso da Figura 14, pode-se perceber que o extrato metanólico de raiz inibiu com mais eficiência quando comparado ao caule. Apenas na concentração de 25 ppm houve um aumento na germinação. A parte mais afetada por este extrato continuou sendo a raiz.

Entretanto para todos os parâmetros o aumento na concentração elevou o potencial herbicida deste extrato nesta planta.

Nas Figuras 15 e 16, estão dispostos os resultados da ação dos extratos de caule e raiz, respectivamente, sobre o *Lolium perene*.

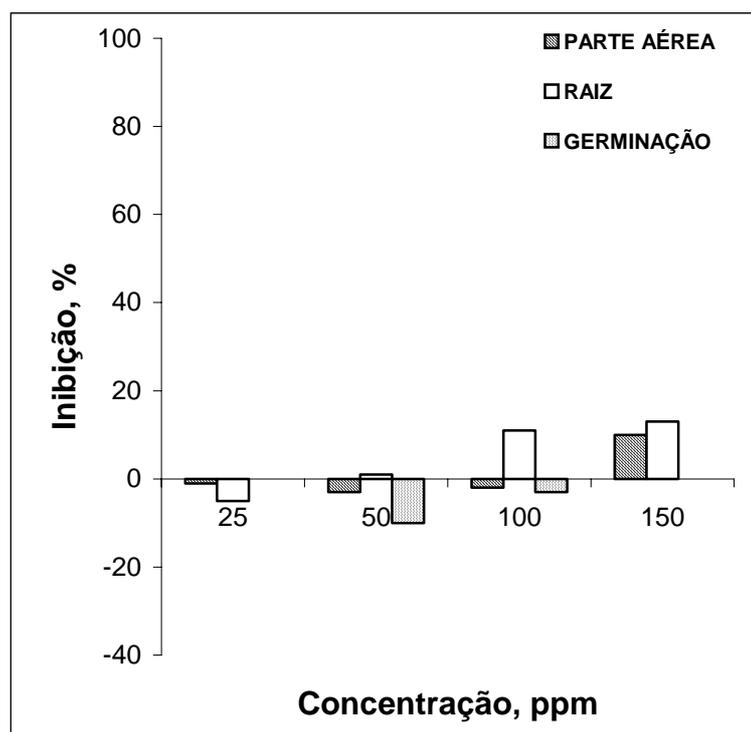


Figura 15. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Lolium perene*, em placas de Petri.

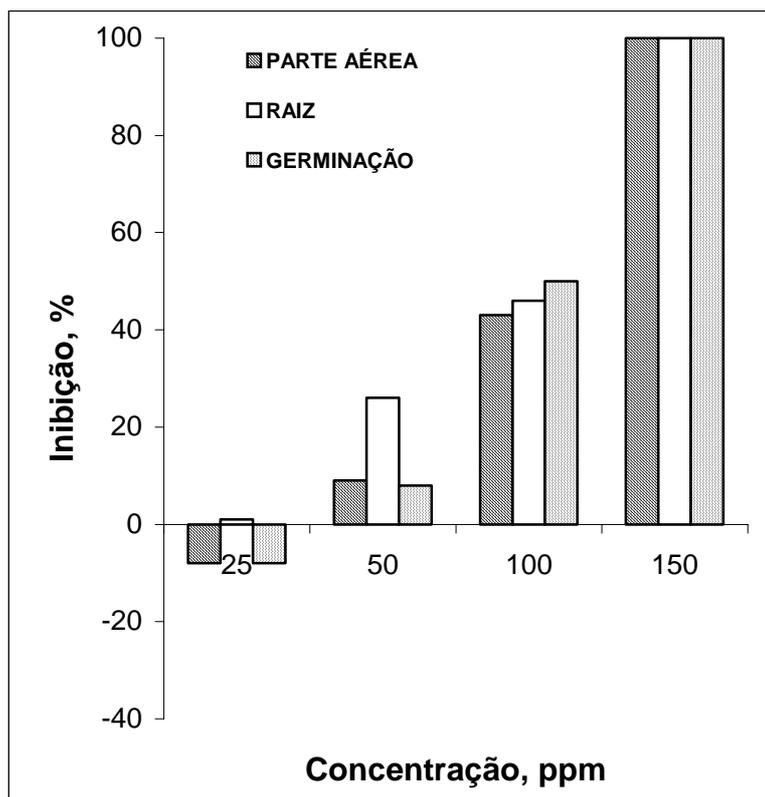


Figura 16. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Lolium perene*, em placas de Petri.

Analizando estas duas Figuras (15 e 16), certifica-se que mais uma vez o extrato metanólico de raiz foi mais eficiente do que o de caule.

Na Figura 15, a parte mais afetada foi o crescimento da raiz, a partir da concentração de 50 ppm e em 25 ppm, houve um crescimento. A germinação não foi inibida em nenhuma das concentrações e apresentou considerável crescimento na concentração de 50 ppm. Já a parte aérea só foi inibida em 150 ppm. Nas demais concentrações, apresentaram um pequeno crescimento.

Portanto o *Lolium perene* apresentou a melhor resistência à ação inibitória deste extrato.

A Figura 16 mostra-nos que o extrato metanólico de raiz apresentou uma boa inibição. Em 25 ppm, houve um ligeiro crescimento tanto da germinação quanto da parte aérea, enquanto que a raiz permaneceu quase que constante. A inibição total ocorreu em 150 ppm. A raiz foi a parte mais afetada por este extrato. Entretanto para todos os parâmetros o aumento na concentração elevou o potencial herbicida deste extrato nesta planta.

De acordo com as análises feitas com relação às Figuras 9 a 16 conclui-se que o extrato metanólico do caule de *Cenchrus echinatus* apresenta uma menor eficiência na inibição em relação ao extrato metanólico de raiz.

O extrato metanólico de caule teve um melhor desempenho nas espécies *Amaranthus hypochondriacus* e *Physalis ixocarpa* (monocotiledôneas) quando comparado com *Trifolium alexandrium* e *Lolium perene* (dicotiledôneas). Entretanto, ambos não foram significativos quando comparados com os resultados do extrato metanólico de raiz.

Para o extrato metanólico de raiz, a inibição foi extremamente significativa apresentando a seguinte ordem crescente de desempenho: *Trifolium alexandrium*, *Physalis ixocarpa*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*.

Os dados apresentados nas Figuras de 17-24 apresentam os resultados das sementes *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Trifolium alexandrium* e *Physalis ixocarpa* cultivadas em condições de *casa de vegetação* (na terra).

As Figuras 17 e 18 apresentam os resultados da aplicação dos extratos de caule e raiz do timbete na semente de *Amaranthus hypochondriacus*, em ensaios *in vivo*.

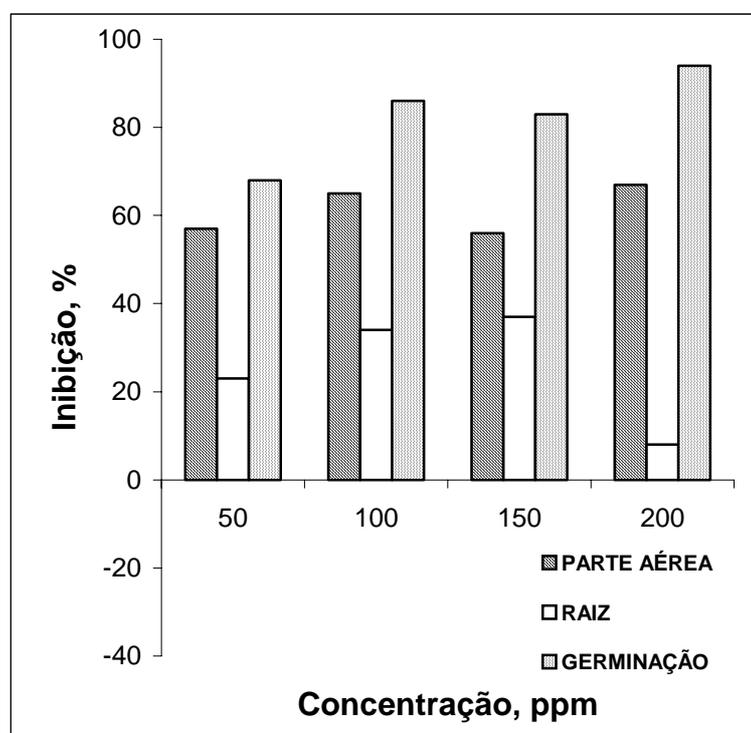


Figura 17. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Amaranthus hypochondriacus*, ensaios *in vivo*.

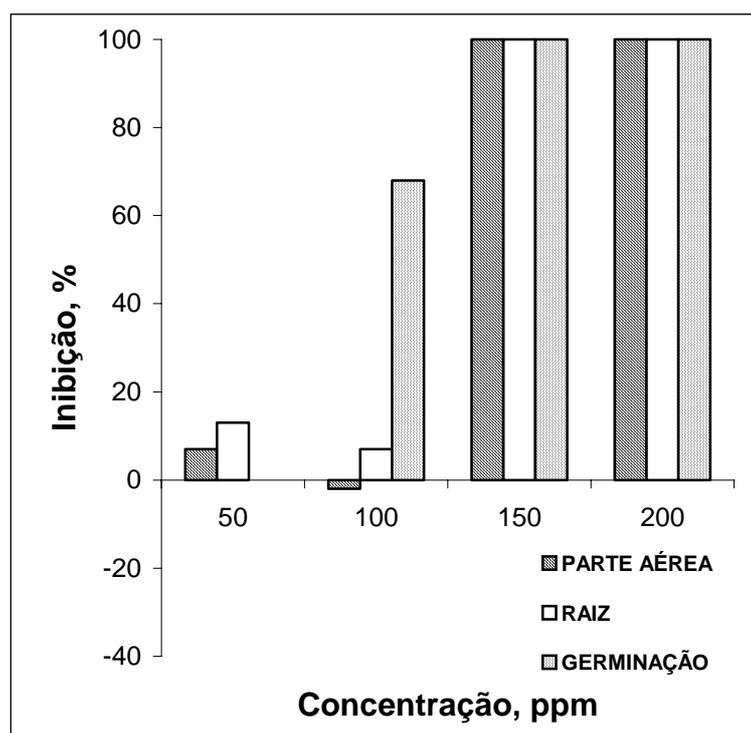


Figura 18. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Amaranthus hypochondriacus*, ensaios *in vivo*.

A Figura 17 mostra que os resultados foram satisfatórios. O extrato inibiu bem, principalmente a germinação, que foi a mais afetada. Já a raiz foi a menos afetada.

A Figura 18 mostra os resultados obtidos da aplicação do extrato metanólico da raiz no desenvolvimento de sementes *Amaranthus hypochondriacus*. Nota-se que todos os parâmetros dispostos neste gráfico foram inibidos a partir de 150 ppm. Na concentração de 100 ppm, a germinação foi a mais afetada, enquanto que a raiz e a parte aérea não apresentaram o mesmo desempenho. Houve inibição total em 150 ppm, indicando que a concentração real de inibição está compreendida entre 100 e 150 ppm.

As Figuras 19 e 20 mostram os resultados do desenvolvimento das sementes de *Physalis ixocarpa*, sob o efeito dos dois extratos em análise.

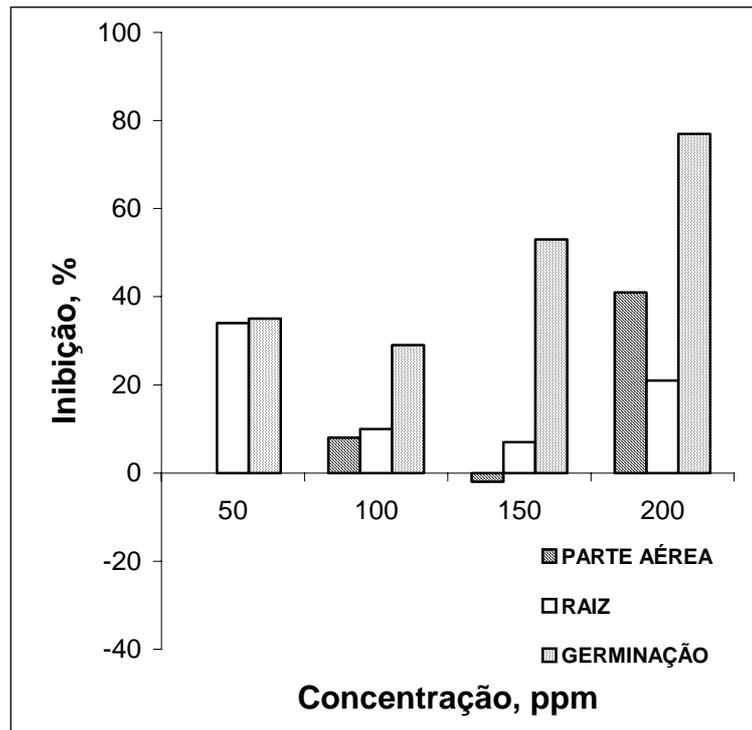


Figura 19. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Physalis ixocarpa*, ensaios *in vivo*.

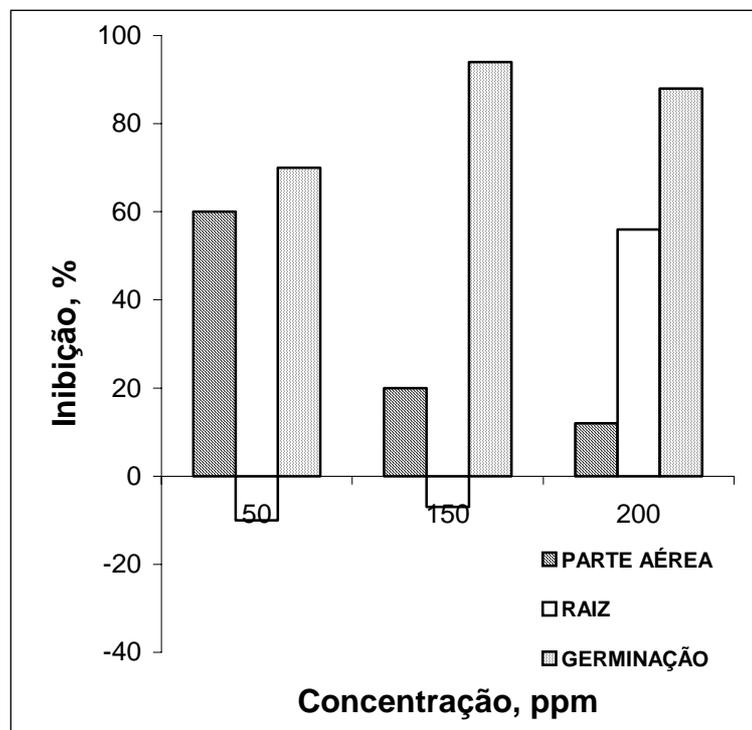


Figura 20. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Physalis ixocarpa*, ensaios *in vivo*.

Na Figura 19, nota-se que os efeitos do extrato metanólico de caule foram variados. A germinação foi a parte mais atingida pelo extrato metanólico de caule. A melhor inibição para a parte aérea e germinação ocorreu em 200 ppm, para a raiz a 50 ppm. A parte aérea permaneceu constante na concentração de 50 ppm.

Já na Figura 20, podemos notar que os efeitos inibitórios do extrato metanólico de raiz foram um pouco mais eficientes. Houve um aumento na inibição da germinação que passou por um máximo por volta de 100 ppm. A inibição da parte aérea decresceu de 50 a 200 ppm e a inibição da raiz só ocorreu a 200 ppm.

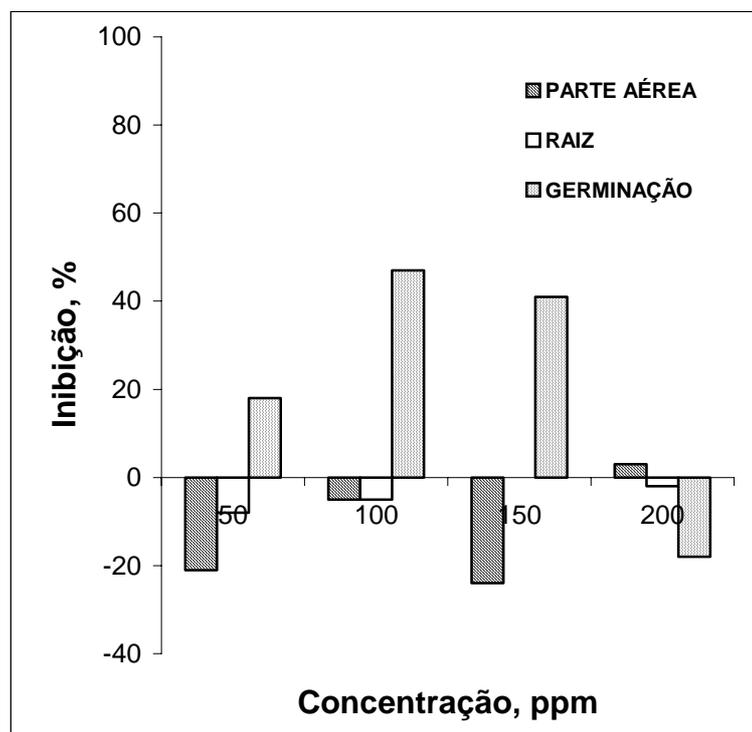


Figura 21. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Trifolium alexandrinum*, ensaios *in vivo*.

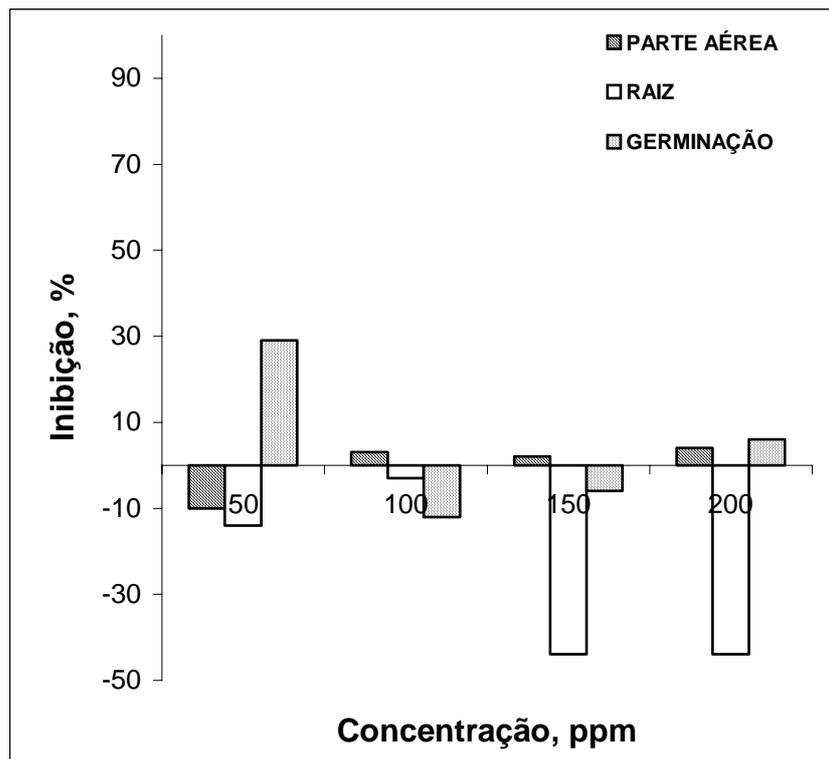


Figura 22. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Trifolium alexandrinum*, ensaios *in vivo*.

Pode-se dizer que nenhum dos dois extratos demonstrou boa inibição com esta semente. Isto leva a pensar que o *Trifolium alexandrinum* apresentou uma certa resistência à inibição pelos extratos.

As Figuras 21 e 22 apresentam os resultados do *Trifolium alexandrinum*, sob a ação dos extratos metanólicos de caule e raiz, respectivamente, em ensaios *in vivo*.

O extrato metanólico de caule apresentou inibição apenas na germinação na concentração de 50, 100 e 150 ppm, conforme mostra a Figura 21.

O extrato metanólico de raiz demonstrou pouco ou nenhum poder inibitório sobre as sementes de *Trifolium alexandrinum*. Como pode-se perceber, na Figura 22, houve uma pequena inibição da germinação na concentração de 50 ppm. Nas demais concentrações, os resultados obtidos oscilaram perto dos resultados do controle (branco). Isto demonstra que o extrato metanólico de raiz não exerceu nenhuma ação inibitória neste teste.

Neste caso, nenhum dos dois extratos apresentou boa inibição.

As Figuras 23 e 24 mostram os resultados do *Lolium perene* em ensaios *in vivo*.

Na Figura 23, a parte mais afetada foi a germinação, enquanto que houve um decréscimo na inibição da parte aérea com o aumento da concentração. Através desta Figura, podemos observar que o extrato afetou muito pouco a semente de *Lolium perene*.

A Figura 24 mostra que o extrato metanólico de raiz apresentou uma boa inibição. A germinação foi a mais inibida, principalmente entre 50 e 200 ppm.

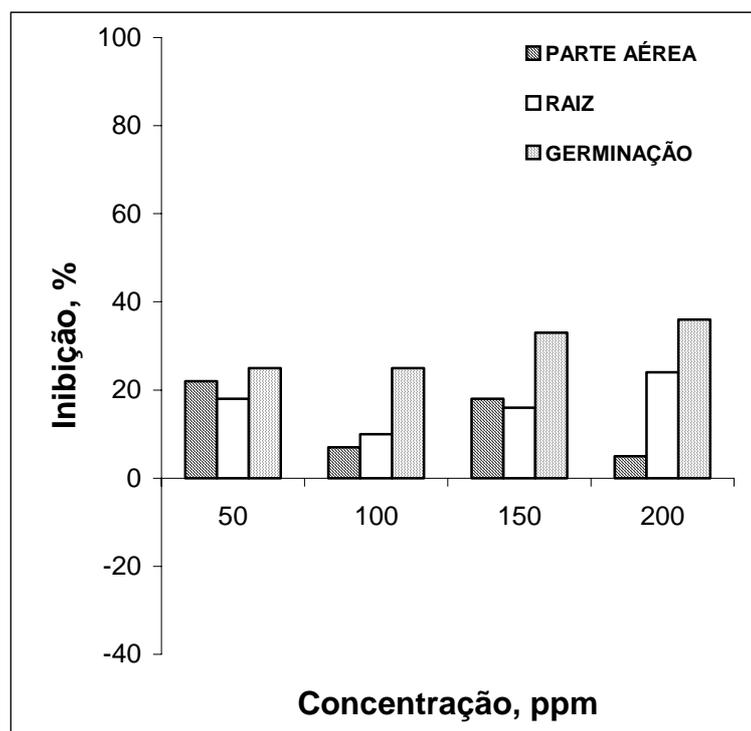


Figura 23. Efeitos da concentração do extrato metanólico de caule de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Lolium perene*, ensaios *in vivo*.

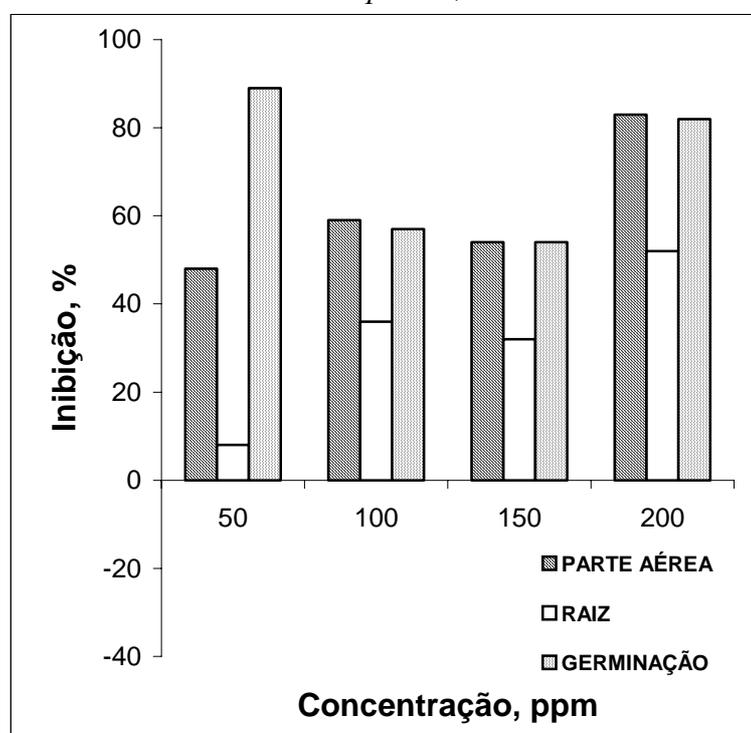


Figura 24. Efeitos da concentração do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento de sementes de *Lolium perene*, ensaios *in vivo*.

De acordo com as análises feitas com relação às Figuras 17 a 24 conclui-se que o extrato metanólico do caule de *Cenchrus echinatus* apresenta uma menor eficiência na inibição em relação ao extrato metanólico de raiz, exceto para a espécie *Trifolium alexandrium*.

O extrato metanólico de caule teve um melhor desempenho nas espécies *Physalis ixocarpa*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Lolium perene* e *Trifolium alexandrium*, respectivamente em ordem decrescente.

Para o extrato metanólico de raiz a inibição foi mais significativa apresentando a seguinte ordem crescente de desempenho: *Trifolium alexandrium*, *Physalis ixocarpa*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, a mesma apresentada com as placas petri.

Considerando-se que o extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* apresentou maior atividade inibitória no processo germinativo e desenvolvimento da planta em todas as espécies estudadas, realizou-se o fracionamento cromatográfico deste extrato para, assim, facilitar a identificação das frações responsáveis por este comportamento inibitório.

As Figuras de 25-28 mostram os resultados dos ensaios fitotóxicos das frações do extrato metanólico da raiz de *Cenchrus echinatus* na concentração de 200 ppm no crescimento da raiz, crescimento do caule e germinação em espécies de *Panicum maximum*, respectivamente.

A Figura 25 mostra que todas as frações tiveram grande efeito inibitório no crescimento da raiz de *Panicum maximum* e que as frações de diclorometano e a mistura acetato de etila com metanol (1:1) apresentaram 100% de inibição.

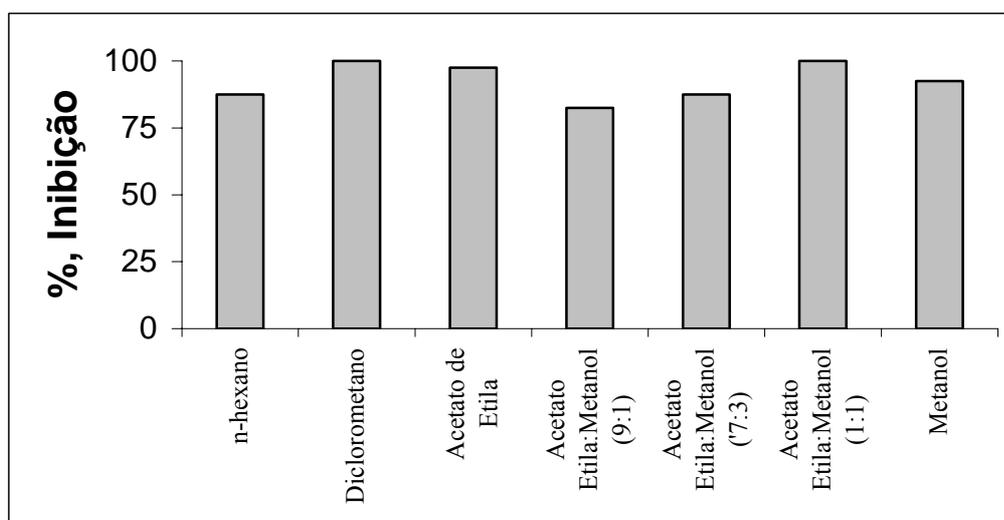


Figura 25. Efeitos fitotóxicos das frações do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento da raiz de *Panicum maximum* na concentração de 200 ppm.

Pode-se observar na Figura 26 que as frações que mais inibiram o crescimento do caule de *Panicum maximum* foram as de diclorometano, acetato de etila e a mistura acetato de etila com metanol (1:1), enquanto que as que menos inibiram foram as de hexano e a mistura acetato de etila com metanol (7:3).

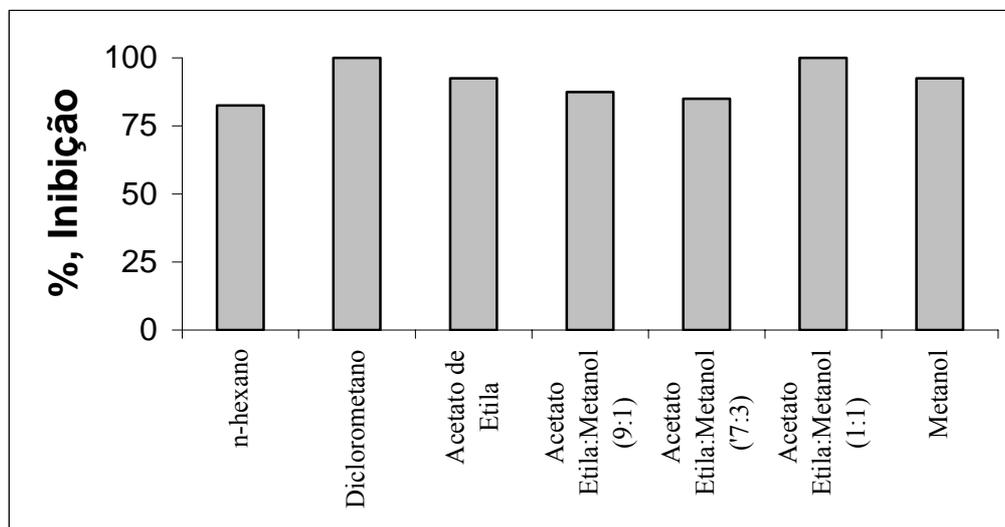


Figura 26. Efeitos fitotóxicos das frações de extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no desenvolvimento do caule de *Panicum maximum* na concentração de 200 ppm.

Já a Figura 27 mostra que as frações que mais apresentaram poder inibitório na germinação de *Panicum maximum* foram as de diclorometano e a mistura acetato de etila: metanol (1:1).

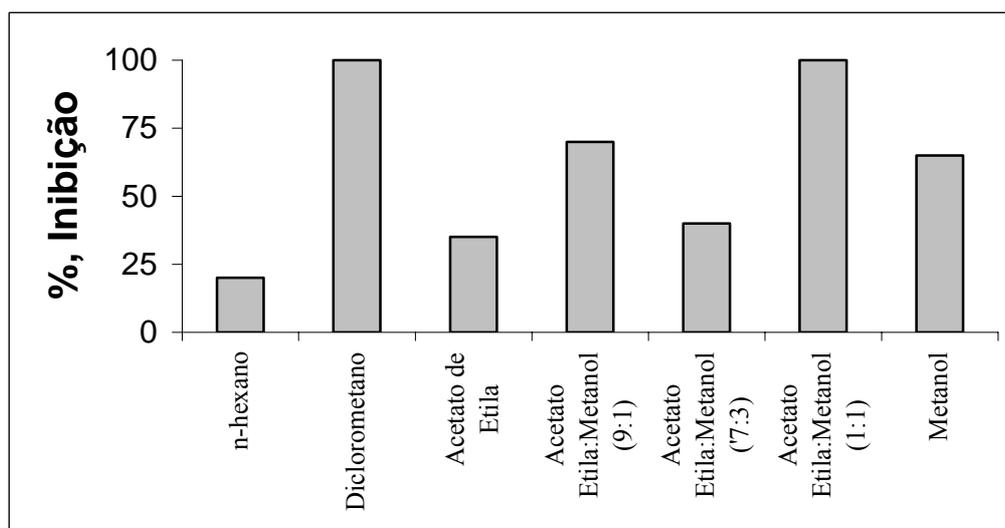


Figura 27. Efeitos fitotóxicos das frações do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* no processo de germinação de *Panicum maximum* na concentração de 200 ppm.

Para a produção de biomassa, observou-se (Figura 28) que as frações com maior poder inibitório foram as de diclorometano e a mistura acetato de etila com metanol (1:1), enquanto que as de hexano e acetato de etila foram as que apresentaram menor poder inibitório.

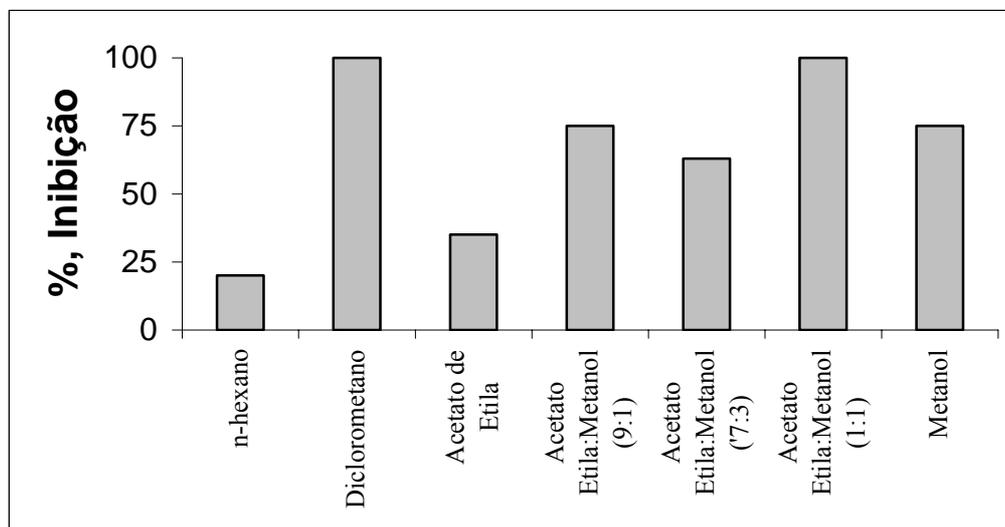


Figura 28. Efeitos fitotóxicos das frações do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus* na produção de biomassa de *Panicum maximum* na concentração de 200 ppm.

De acordo com as Figuras de 25 a 28, as frações diclorometano e a mistura acetato de etila:metanol (1:1) apresentaram o maior conjunto de inibição de acordo com os parâmetros: desenvolvimento da raiz, caule, germinação e produção de biomassa.

As frações diclorometano e a mistura acetato de etila com metanol (1:1) apresentaram uma alta eficiência em uma concentração inferior a utilizada por exemplo pelo Clorpirifós, que é de 240 ppm (Deprá et al., 1989).

Com base nos resultados altamente satisfatórios de inibição dos extratos da raiz foi feita a identificação qualitativa dos metabólitos secundários presentes no extrato metanólico da raiz e a caracterização e identificação dos constituintes voláteis por CG-EM da fração diclorometanólico.

No extrato metanólico da raiz de *Cenchrus echinatus* foi encontrada, através dos ensaios qualitativos, a presença de alcalóides (Tabela 2), que são substâncias formadas por um grupo heterogêneo de substâncias orgânicas, cuja similaridade molecular mais significativa é a presença de nitrogênio na forma de amina (raramente amida). Existem várias classes de alcalóides e todas apresentam alguma ação fisiológica, geralmente no sistema nervoso central, o que tem sido utilizado para o benefício do homem na produção de drogas medicinais, como, por exemplo, a morfina (Vickery & Vickery, 1981). Também

estão presentes Glicosídeos Cardiotônicos que são divididos em dois grupos, um com compostos de cadeia de vinte e três carbonos chamada cardenolídeos, e outro composto de cadeias de vinte e quatro carbonos chamados bufadienolídeos. Suas atividades cardíacas estão associadas a uma cadeia insaturada de lactona e à estereoquímica da molécula. Cardenolídeos são encontrados em várias famílias vegetais, especialmente em Apocynaceae e nas espécies de Digitalis. Enquanto bufadienolídeos são encontrados nas famílias Ranunculaceae e Liliaceae (Vickery & Vickery, 1981).

Estes glicosídeos são usados pela medicina para o tratamento da insuficiência cardíaca e intoxicações que podem ocorrer depois do consumo de chás preparados por partes de plantas ou depois do consumo de flores, folhas ou sementes de plantas que contêm glicosídeos cardiotônicos. Eles atuam em membranas celulares por inibição da enzima ATPase, interferindo na bomba sódio-potássio, levando a um aumento intracelular de sódio e diminuição da concentração de potássio. O resultado é a diminuição da frequência cardíaca e conseqüente aumento na intensidade da força de contração do miocárdio (Vickery & Vickery, 1981). Sintomas gastrointestinais são normalmente os primeiros envolvidos. Estes incluem náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia e anorexia. Sintomas neurológicos são tardios e incluem vertigem, dor de cabeça, tontura, fadiga, debilidade e alucinações. “Overdoses” levam a paradas cardíacas e à morte.

Também foi identificada a presença de triterpenos e/ou esteróides. Os triterpenóides são produtos naturais pertencentes à classe dos terpenos. O seu grande número permite diversas aplicabilidades, devido seu caráter antiinflamatório. Os esteróides formam um grande grupo de compostos solúveis em gordura (lipossolúveis), que têm uma estrutura básica de 17 átomos de carbono dispostos em quatro anéis ligados entre si. Os esteróides são amplamente distribuídos nos organismos vivos e incluem os hormônios sexuais, a vitamina D e os esteróis, tais como o colesterol e a digitalina, presentes na dedaleira. Terapeuticamente, os corticosteróides são utilizados como imunossupressores no tratamento de doenças auto-imunes e na cirurgia de transplantes.

O elevado potencial fitotóxico encontrado principalmente no extrato da raiz na fração diclorometano e a mistura acetato de etila e metanol (1:1) se deve em parte à presença (ação) destes metabólitos secundários, juntamente com os outros constituintes voláteis também encontrados.

Tabela 2 - Identificação qualitativa dos metabólitos secundários do extrato metanólico de raiz de *Cenchrus echinatus*

<b>Classe de Metabólitos Secundários</b>	<b>Teste de Reconhecimento</b>
Alcalóides	+
Glicosídeos Cardiotônicos	+
Cumarinas Voláteis	-
Flavonóides	-
Taninos	-
Saponinas	-
Triterpenos e/ou Esteróides	+
Derivados Antracênicos Livres	-

Legenda: (-) → ausência  
(+) → presença

Com o objetivo de identificar os componentes voláteis que também estão presentes, o extrato diclorometanólico foi analisado por cromatografia à gás acoplada a espectrometria de massas.

A Figura 29 apresenta o cromatograma do extrato diclorometano da raiz de *Cenchrus echinatus*.

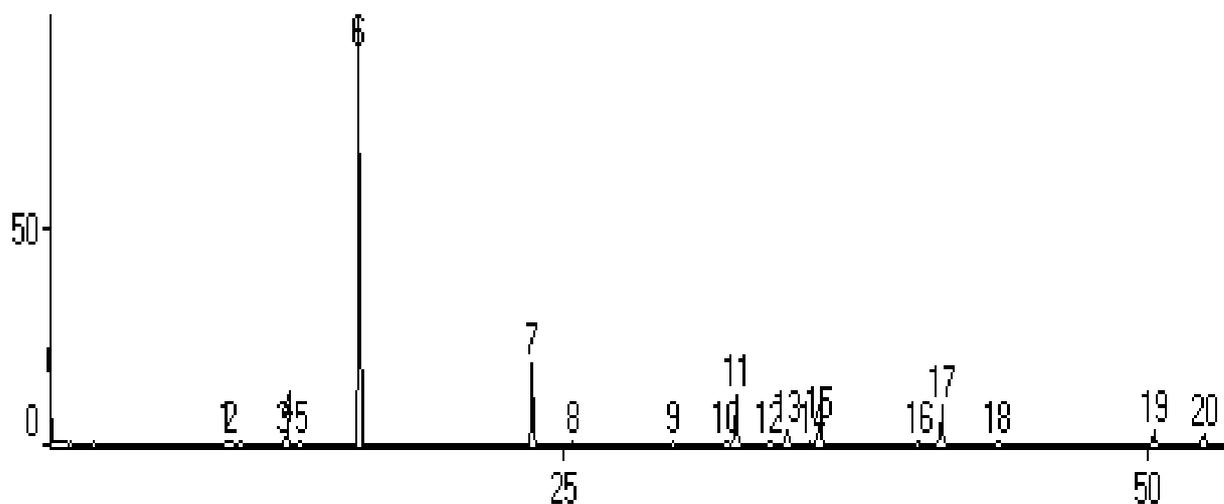


Figura 29. Cromatograma do extrato diclorometanólico da raiz de *Cenchrus echinatus*.

A partir deste cromatograma foram identificados 14 compostos e 6 permaneceram não identificados, conforme mostra a tabela 3. Todos os compostos já são conhecidos na área de produto natural, presentes em inúmeras espécies vegetais utilizadas no controle de pragas agrícolas (Viegas, 2003).

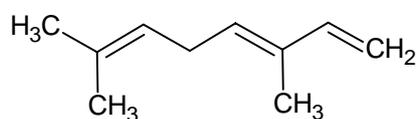
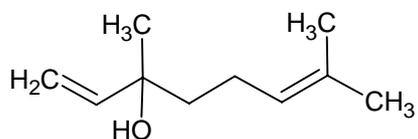
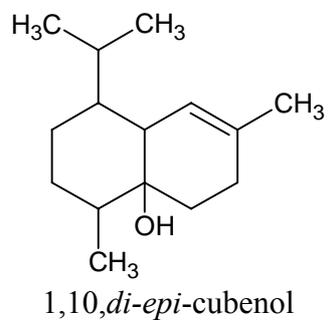
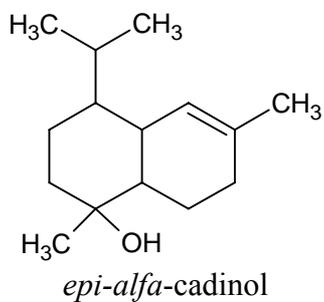
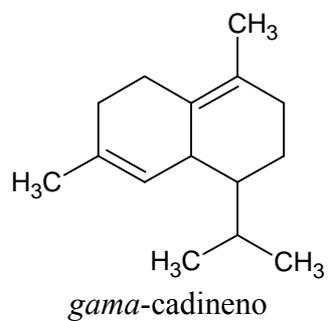
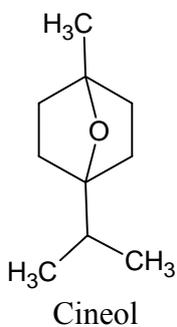
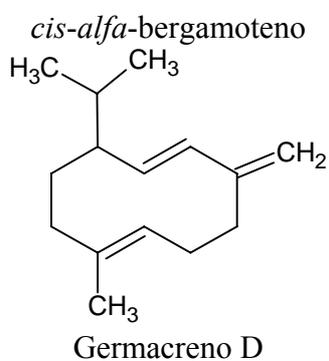
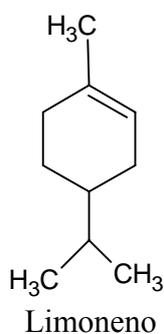
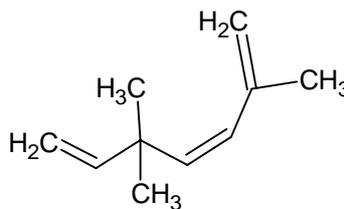
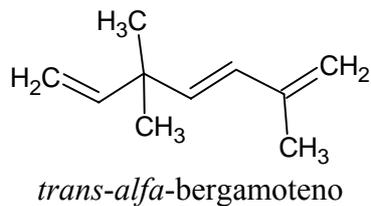
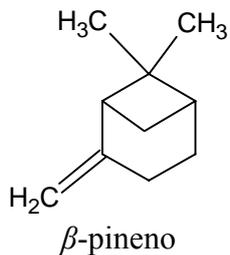
O extrato apresenta um alto teor de linalol cerca de 59%. Tal substância é utilizada pela indústria de cosméticos para a produção do perfume Chanel nº 5, que atualmente é extraído do Pau-rosa, uma espécie em extinção, e também possui ação insetida.

Tabela 3 – Percentual de compostos voláteis identificados no extrato diclorometanólico da raiz de *Cenchrus echinatus*.

Pico	T.R	(%) Raiz	Composto
2	10,8	0,65	<i>β</i> -pineno
3	13,0	0,45	Limoneno
4	13,2	1,88	Cineol
5	13,8	0,58	<i>cis</i> -ocimeno
6	16,3	59,06	Linalol
7	23,7	11,56	<i>trans</i> -geraniol
10	32,0	0,69	<i>cis</i> -alfa-bergamoteno
11	32,4	7,38	<i>trans</i> -alfa-bergamoteno
13	34,7	2,14	Germacreno D
15	36,0	2,78	<i>gama</i> -cadineno
16	40,3	1,08	1,10, <i>di</i> - <i>epi</i> -cubenol
17	41,2	5,70	<i>Epi</i> -alfa-cadinol
19	50,3	1,88	Octadecatrienal
20	52,5	1,91	Ácido Palmítico
Total		97,74	

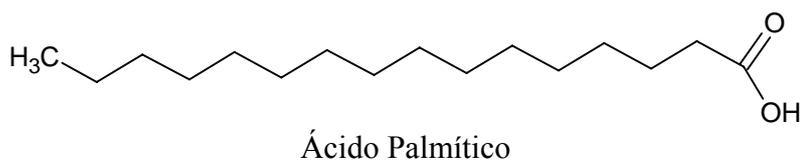
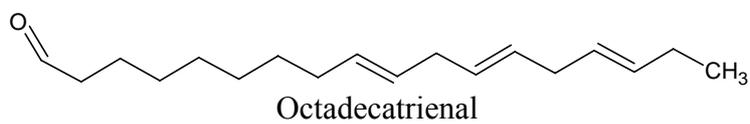
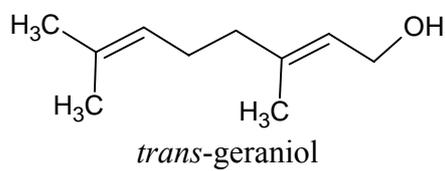
Não foi possível identificar os picos 1, 8, 9, 12, 14 e 18 com a biblioteca do aparelho CG-EM utilizado. Porém o pico 16 e 17 foram identificados através de outras referências (Adams, 2001).

Tabela 4 – Estrutura química dos 14 compostos voláteis identificados no extrato diclorometanólico



Linalol

*cis*-ocimeno



## 7 - CONCLUSÕES

O extrato metanólico do caule de *Cenchrus echinatus* apresenta uma menor eficiência na inibição em relação ao extrato metanólico de raiz.

O extrato metanólico de caule teve um melhor desempenho nas espécies *Amaranthus hypochondriacus* e *Physalis ixocarpa* (monocotiledôneas) quando comparado com *Trifolium alexandrium* e *Lolium perene* (dicotiledôneas). Entretanto, ambos não foram significativos quando comparados com os resultados do extrato metanólico de raiz.

Para o extrato metanólico de raiz a inibição foi bastante significativa apresentando a seguinte ordem crescente de desempenho: *Trifolium alexandrium*, *Physalis ixocarpa*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*.

As análises feitas em casa de vegetação indicaram que o extrato metanólico do caule de *Cenchrus echinatus* apresentou uma menor eficiência na inibição em relação ao extrato metanólico de raiz, exceto para a espécie *Trifolium alexandrium*.

O extrato metanólico de caule teve um melhor desempenho nas espécies *Physalis ixocarpa*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Lolium perene* e *Trifolium alexandrium*, respectivamente em ordem decrescente.

A inibição do extrato metanólico de raiz foi mais significativa, apresentando a seguinte ordem crescente de desempenho: *Trifolium alexandrium*, *Physalis ixocarpa*, *Lolium perene*, *Amaranthus hypochondriacus*, a mesma apresentada com as placas petri.

O extrato metanólico da raiz e caule tiveram uma maior inibição para a espécie *Amaranthus hypochondriacus*, e a *Trifolium alexandrium* foi a menos afetada. De qualquer forma, o extrato metanólico da raiz de *Cenchrus echinatus* apresentou maior eficiência quando comparado com o de caule.

As frações diclorometano e a mistura acetato de etila com metanol (1:1) do extrato metanólico da raiz de *Cenchrus echinatus* apresentaram o maior conjunto de inibição sobre as sementes de *Panicum maximum* em relação aos parâmetros: desenvolvimento da raiz, caule, germinação e produção de biomassa.

Os principais metabolitos secundários identificados no extrato metanólico da raiz foram alcalóides, glicosídeos cardiotônicos, triperpenos e esteróides.

Os possíveis componentes responsáveis pela atividade inibitória, presentes na fração diclorometano, identificados através de CG-EM, foram: como  $\beta$ -pineno, limoneno, cineol, *cis*-ocimeno, linalol, *trans*-geraniol, *cis*-alfa-bergamoteno, *trans*-alfa-bergamoteno,

germacreno D, *gama*-cadineno, 1,10,*di-epi*-cubenol, *epi-alfa*-cadinol, octadecatrienal, ácido palmítico. O extrato apresenta um alto teor de linalol cerca de 59%.

Portanto este estudo verificou o potencial alelopático do extrato metanólico do timbete (espinho, raiz, folhas e caule) e o potencial uso desse extrato como herbicida natural, com aplicação alternativa aos comerciais e com melhor seletividade e menor impacto ambiental.

## 8 - APÊNDICE

Cromatogramas referentes aos compostos identificados no extrato diclorometano que estão descritos na tabela 3.

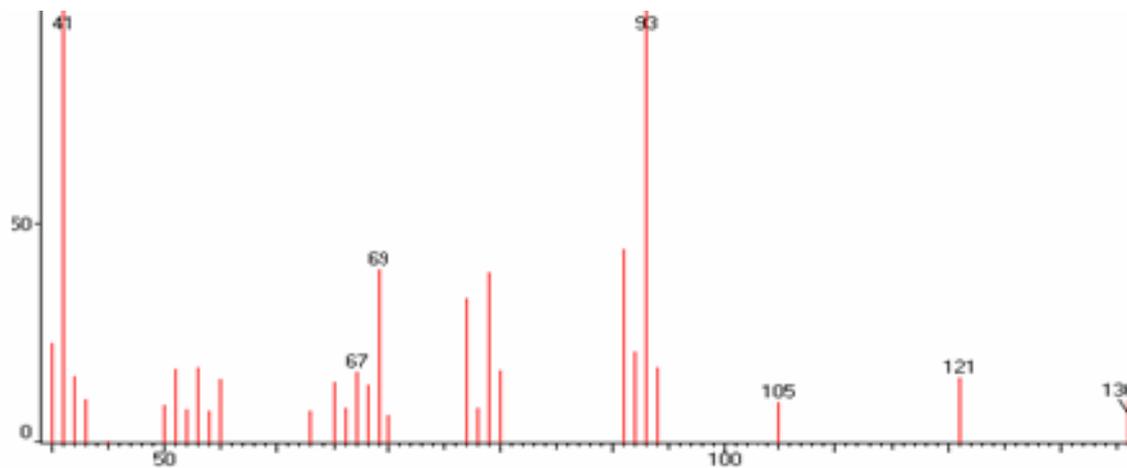


Figura I.a. Cromatograma da amostra referente ao  $\beta$ -pinene (pico 2).

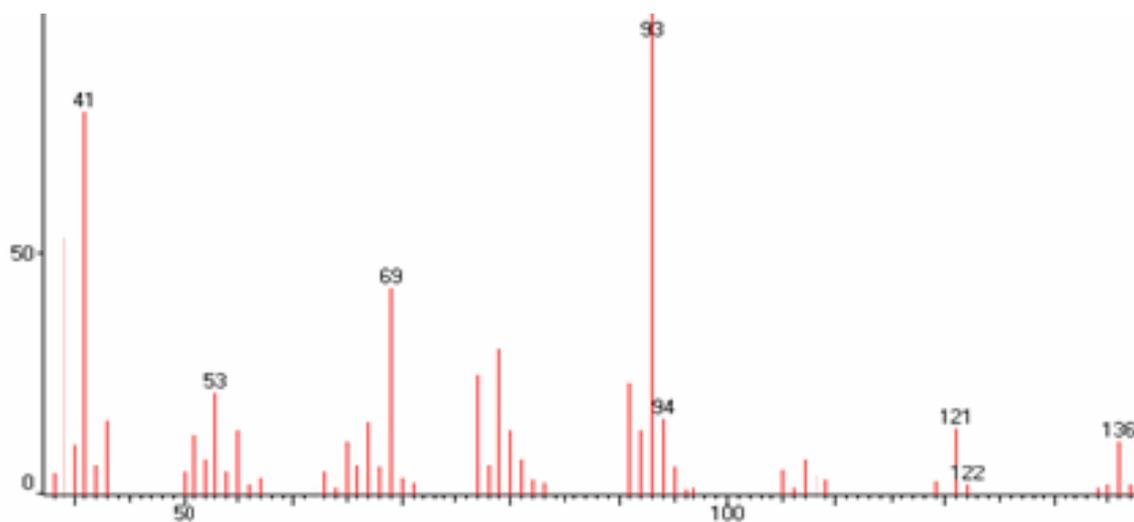


Figura I.b. Cromatograma do padrão referente ao  $\beta$ -pinene (pico 2).

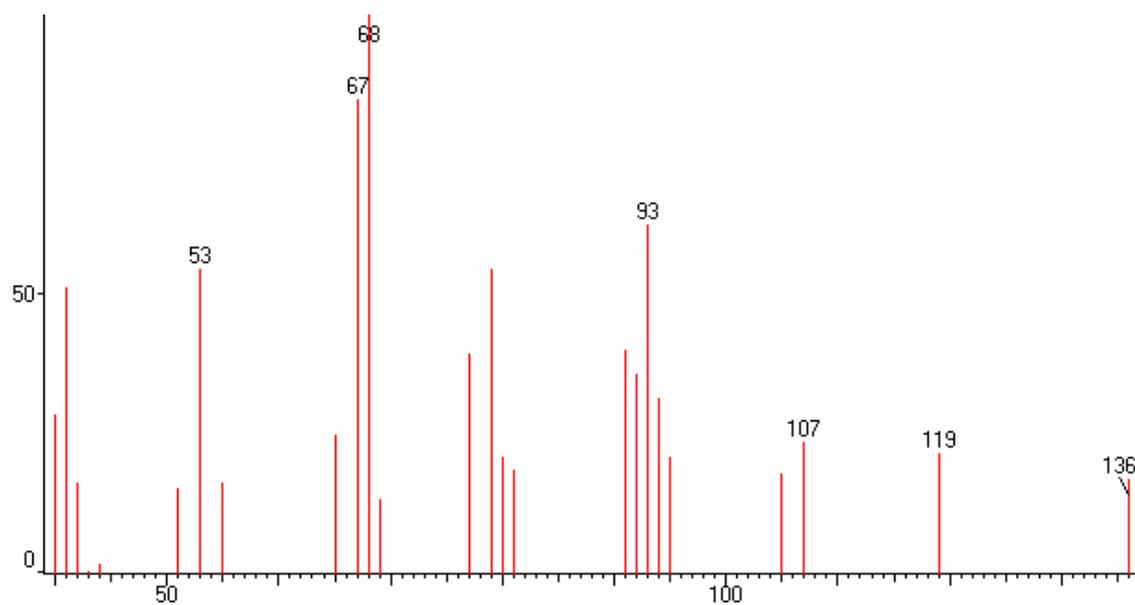


Figura II.a. Cromatograma da amostra referente ao Limoneno (pico 3).

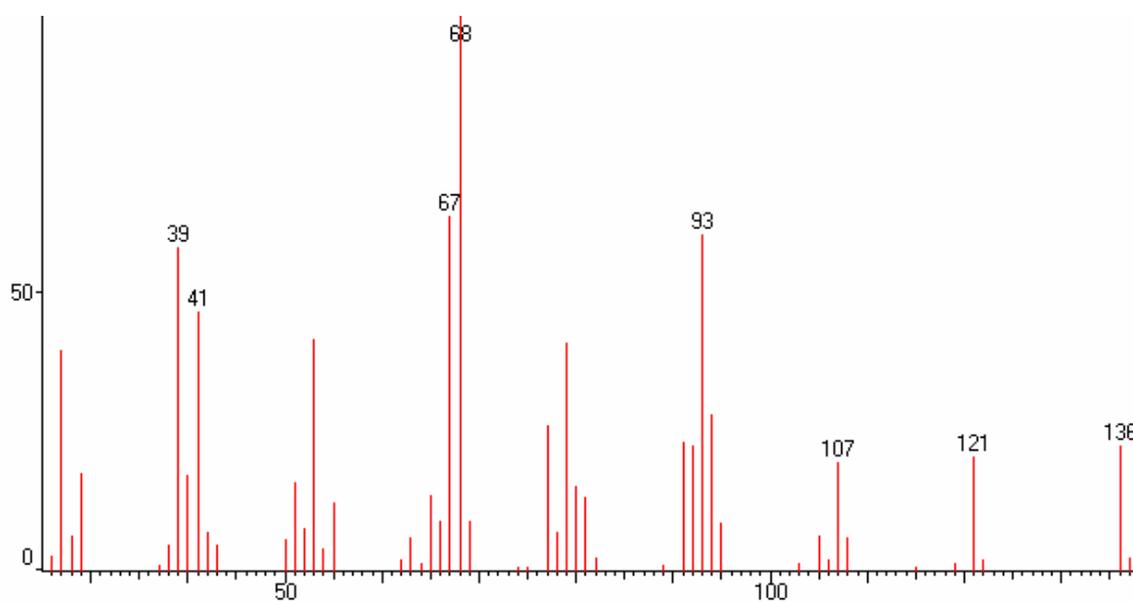


Figura II.b. Cromatograma do padrão referente ao Limoneno (pico 3).

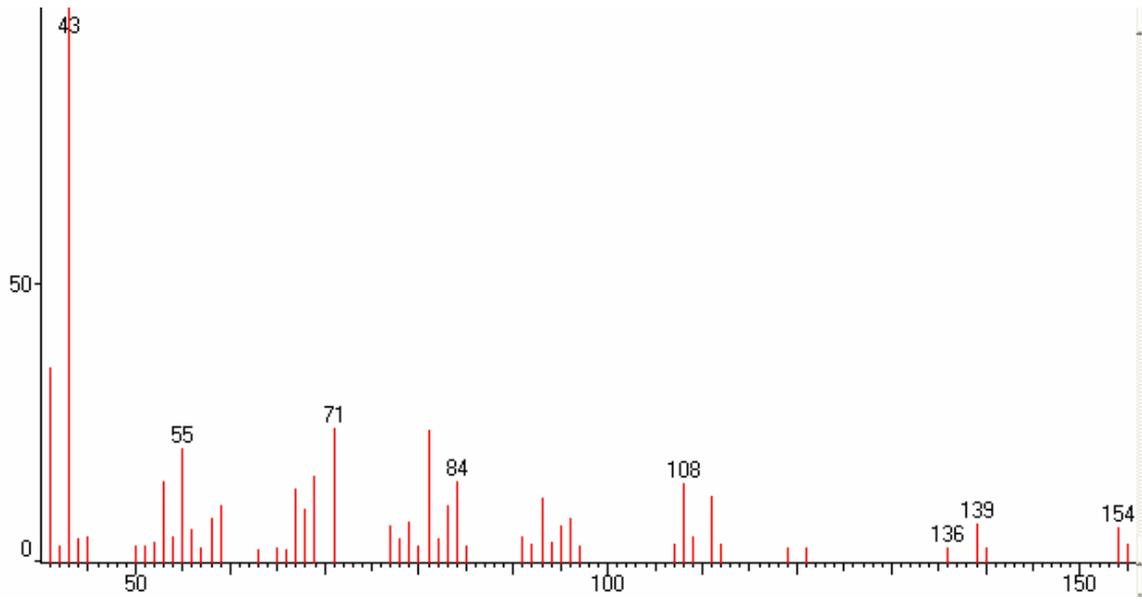


Figura III.a. Cromatograma da amostra referente ao cineol (pico 4).

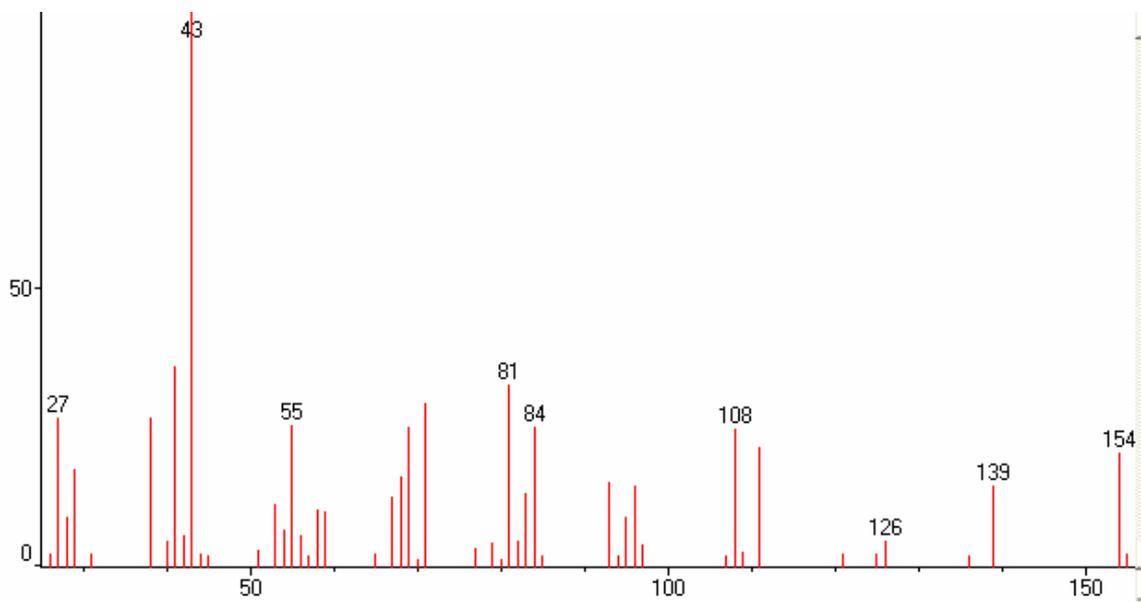


Figura I.b. Cromatograma do padrão referente ao cineol (pico 4).

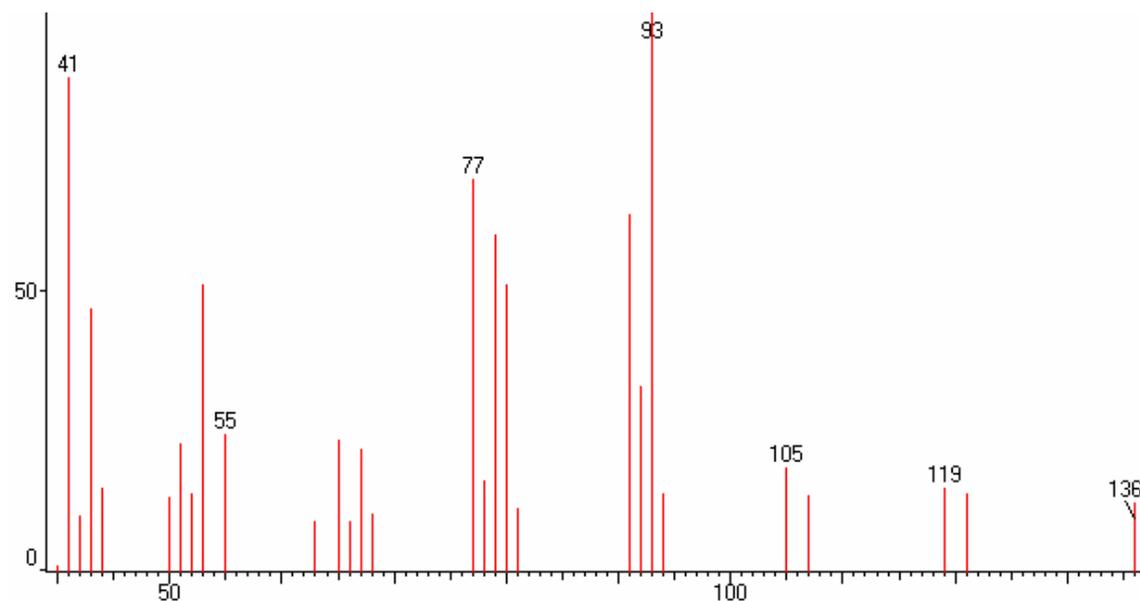


Figura IV.a. Cromatograma da amostra referente ao *cis*-ocimeno (pico 5).

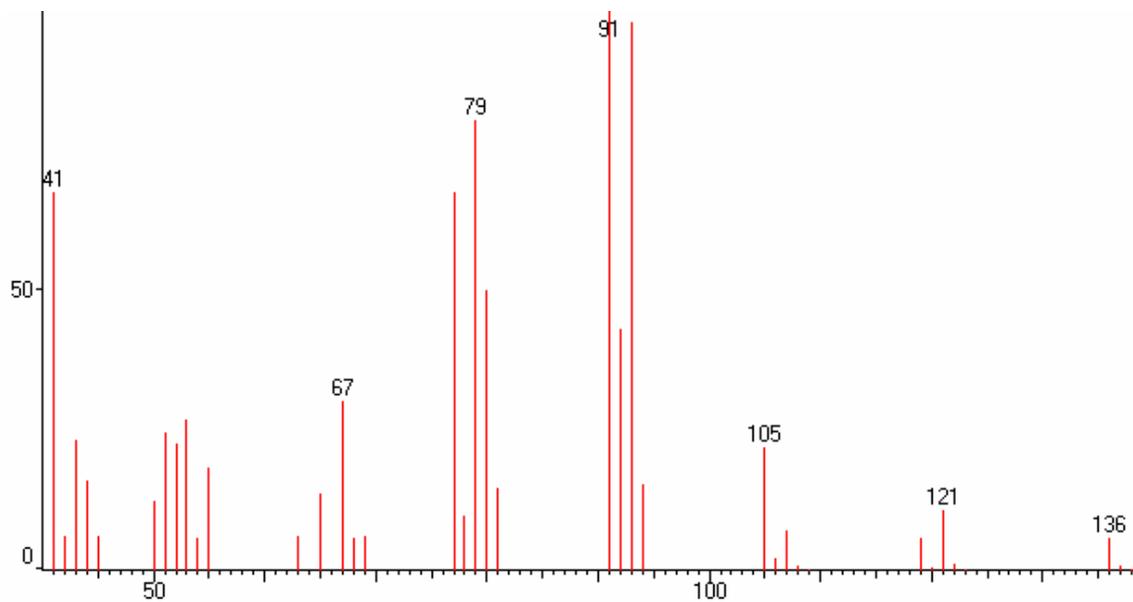


Figura IV.b. Cromatograma do padrão referente ao *cis*-ocimeno (pico 5).

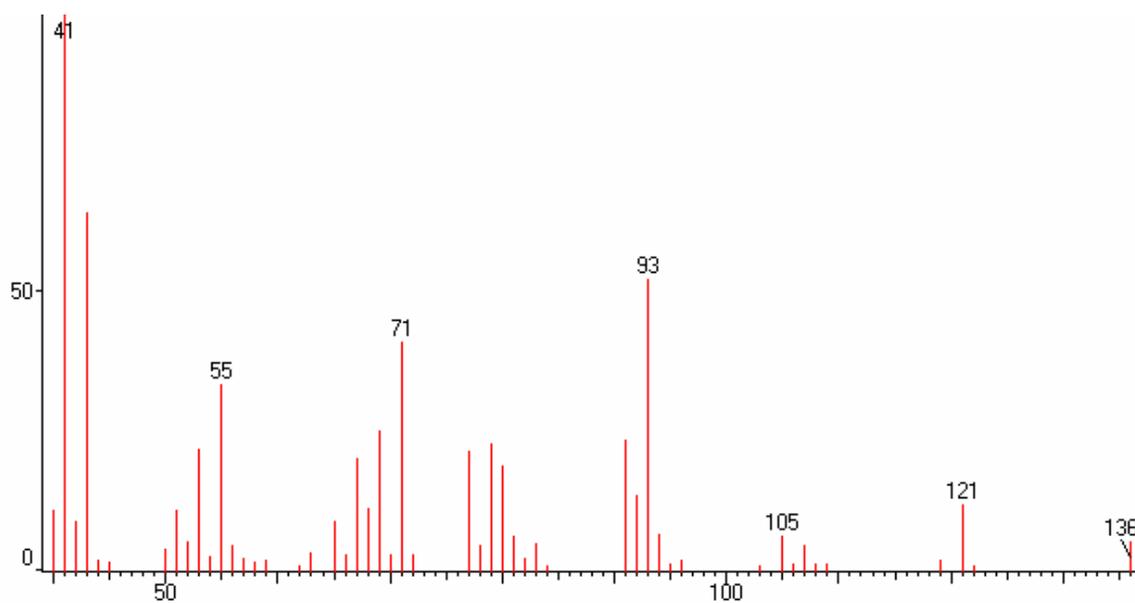


Figura V.a. Cromatograma da amostra referente ao Linalol (pico 6).

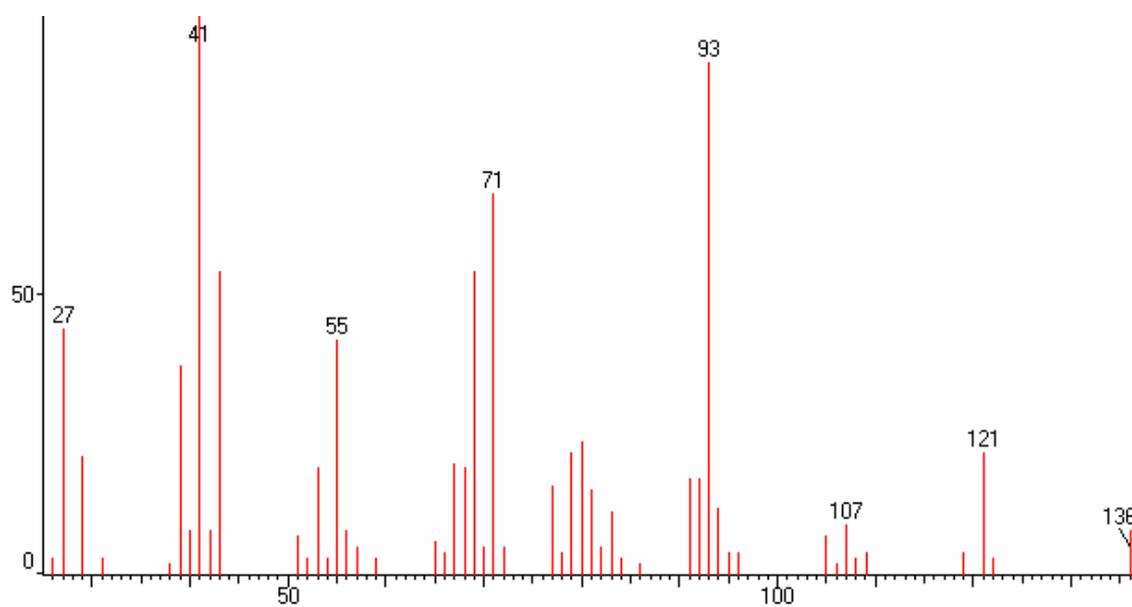


Figura V.b. Cromatograma do padrão referente ao Linalol (pico 6).

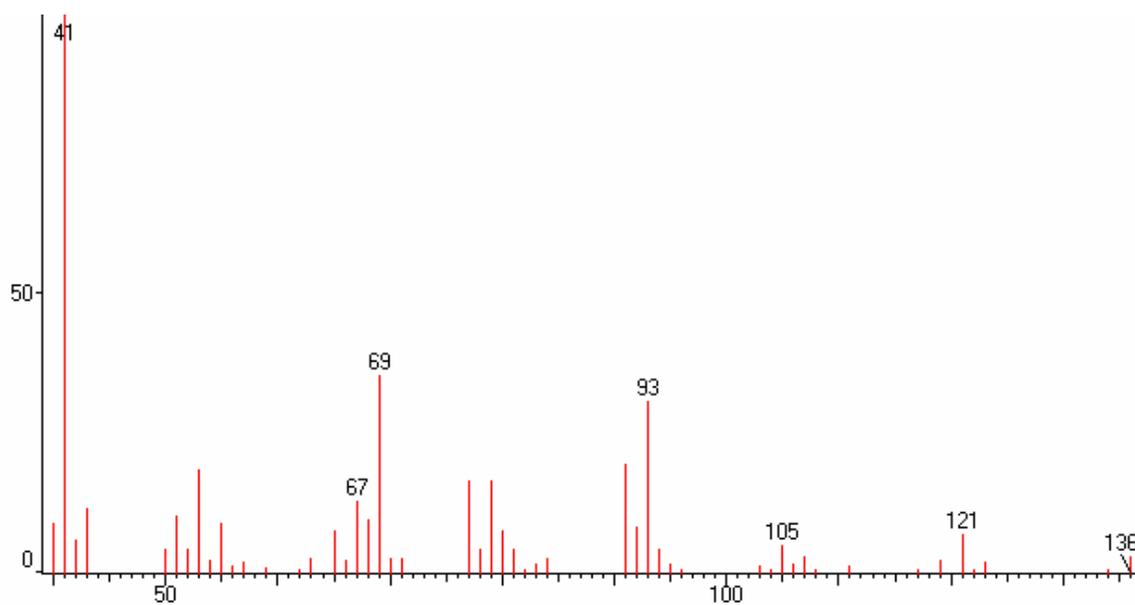


Figura VI.a. Cromatograma da amostra referente ao *trans*-geraniol (pico 7).

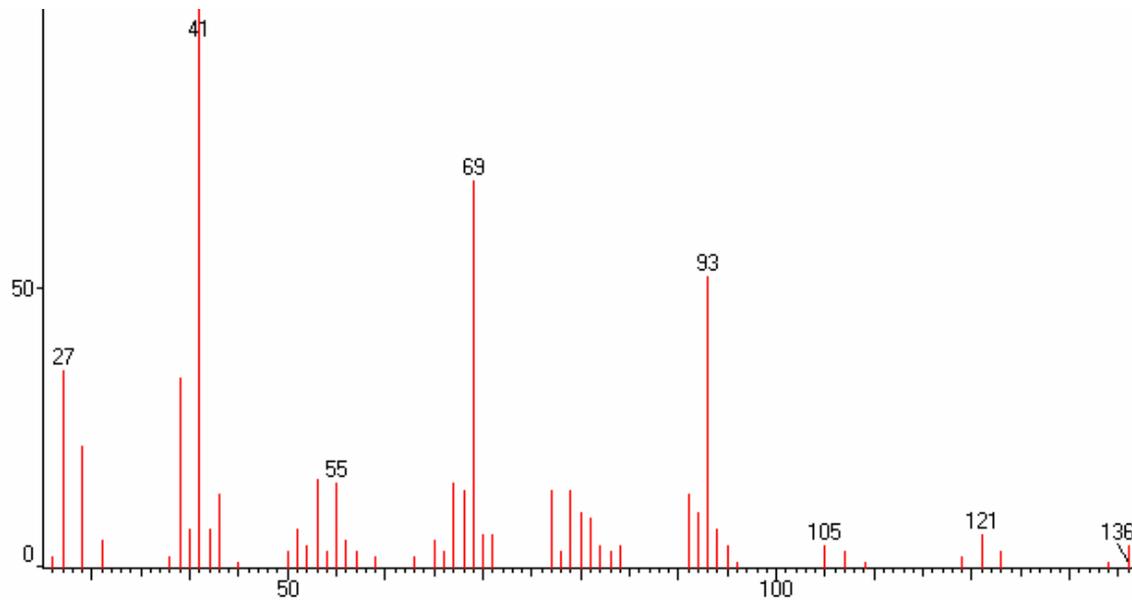


Figura VI.b. Cromatograma do padrão referente ao *trans*-geraniol (pico 7).

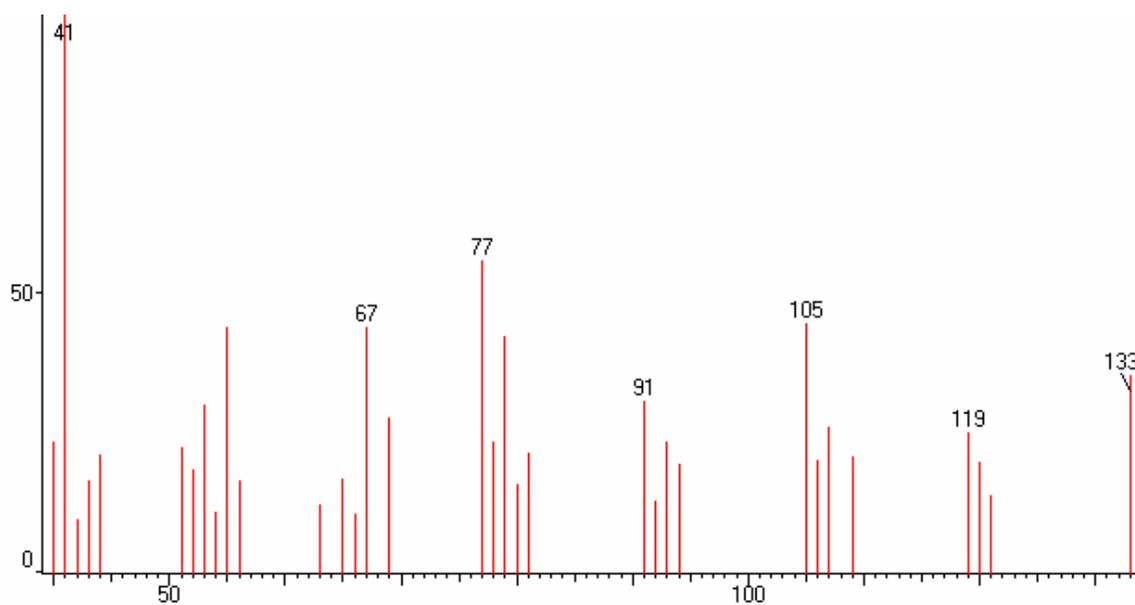


Figura VII.a. Cromatograma da amostra referente ao *cis-alfa*-bergamoteno (pico 10).

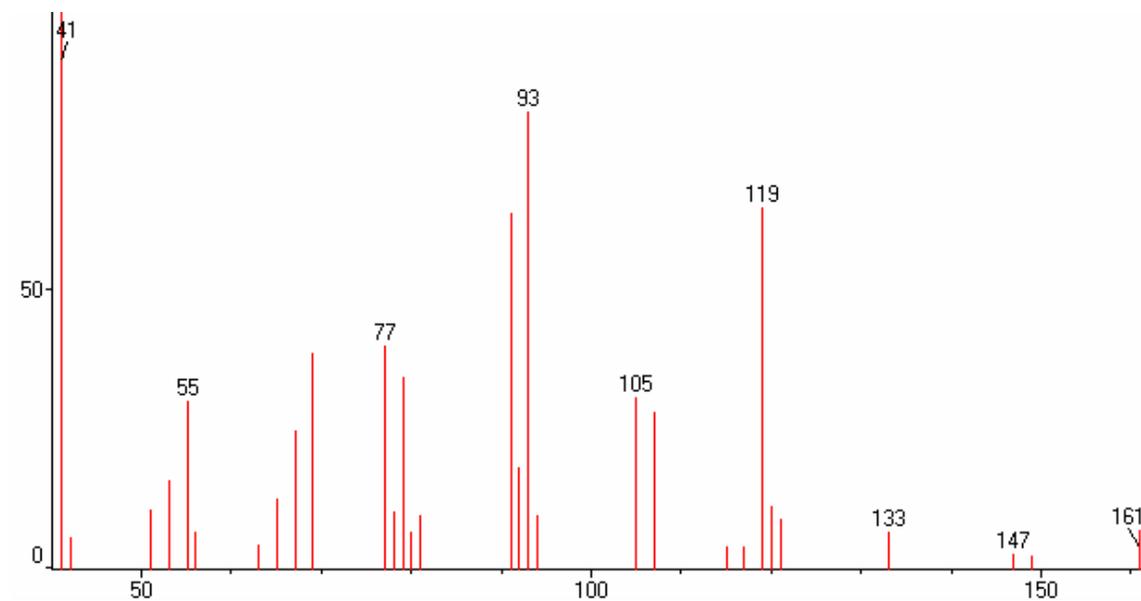


Figura VII.b. Cromatograma do padrão referente ao *cis-alfa*-bergamoteno (pico 10).

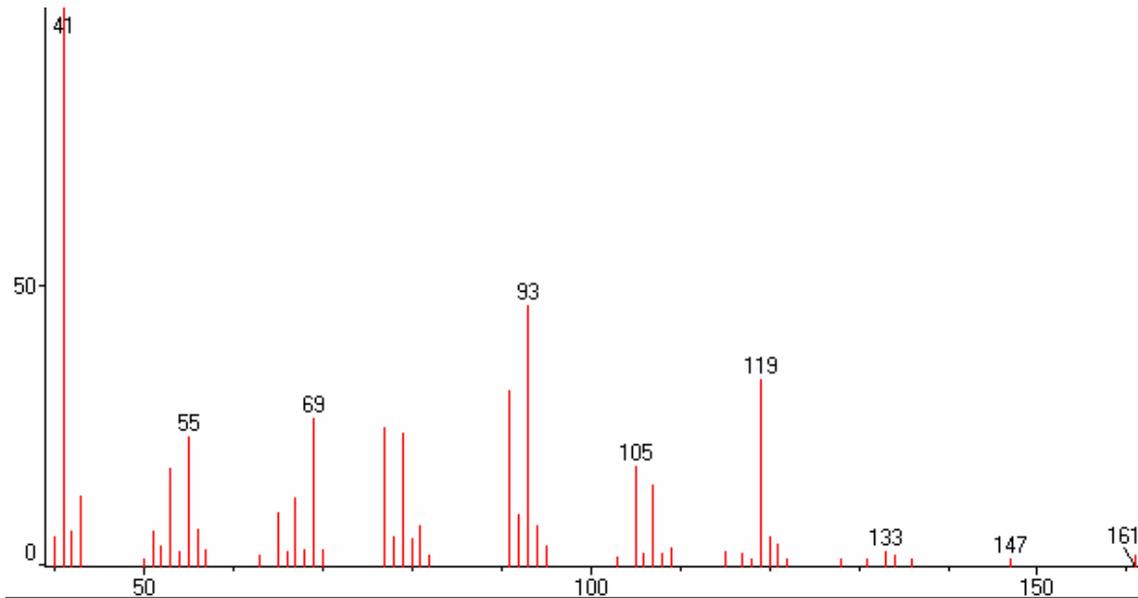


Figura VIII.a. Cromatograma da amostra referente ao *trans-alfa*-bergamoteno (pico 11).

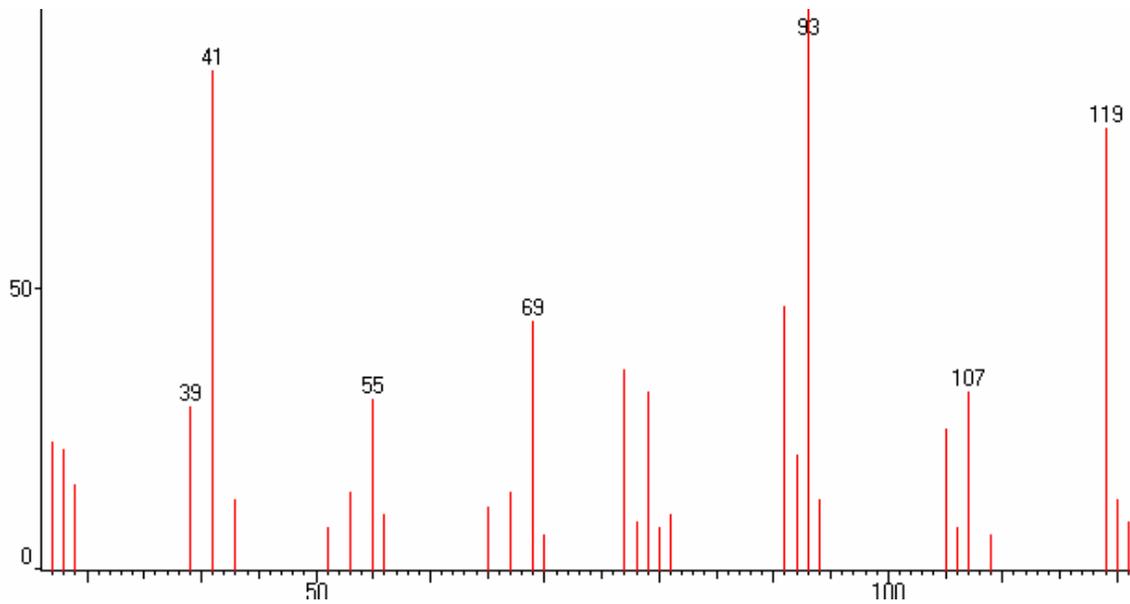


Figura VIII.b. Cromatograma do padrão referente ao *trans-alfa*-bergamoteno (pico 11)

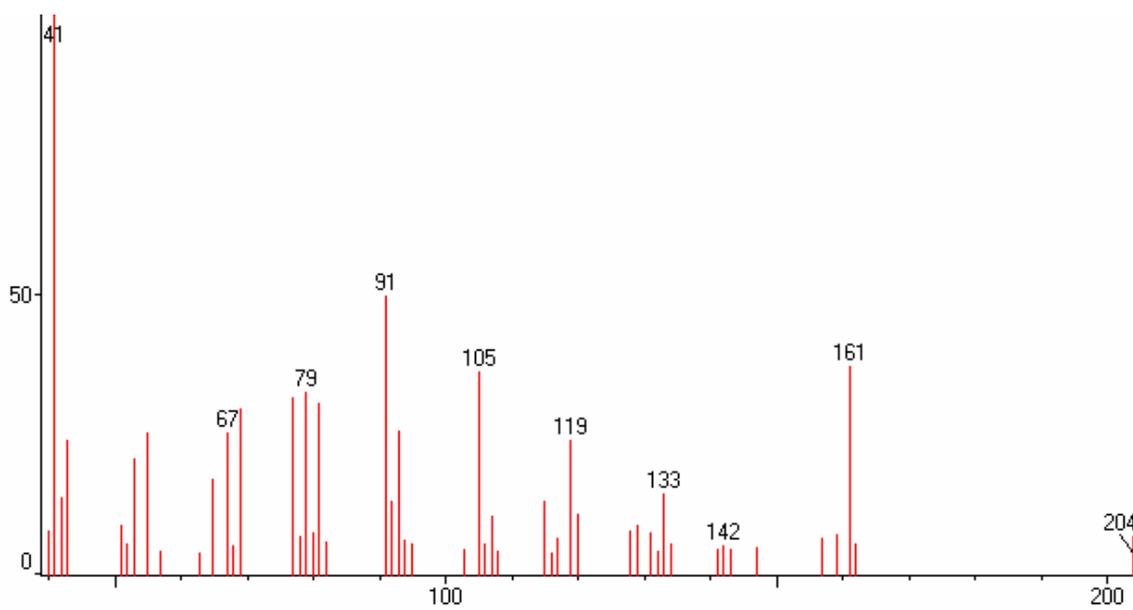


Figura IX.a. Cromatograma da amostra referente ao germacrene D (pico 13).

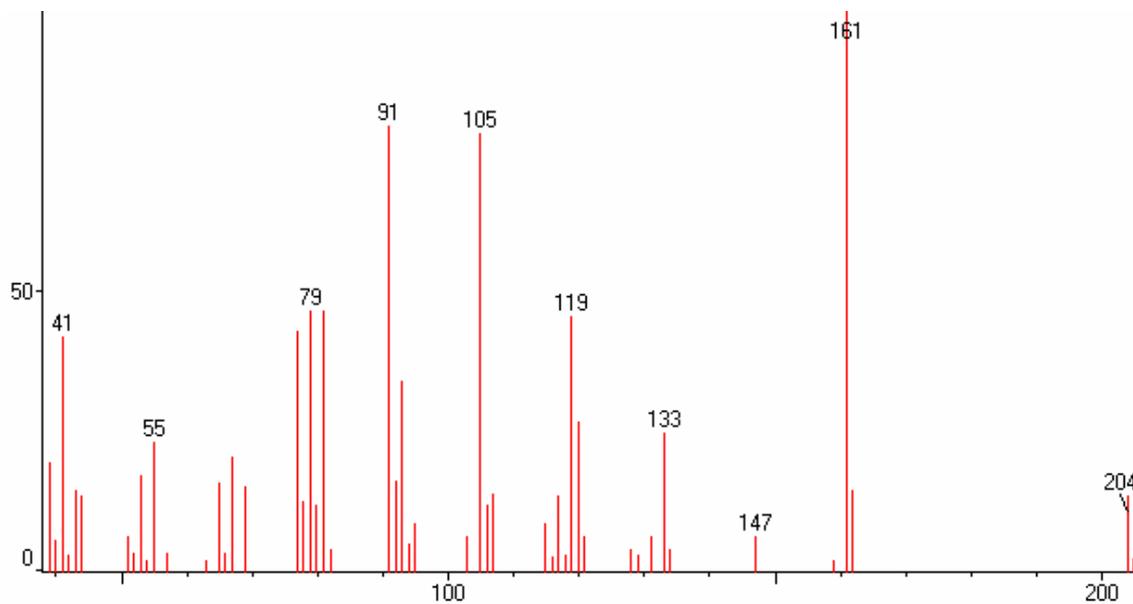


Figura IX.b. Cromatograma do padrão referente ao germacrene D (pico 13).

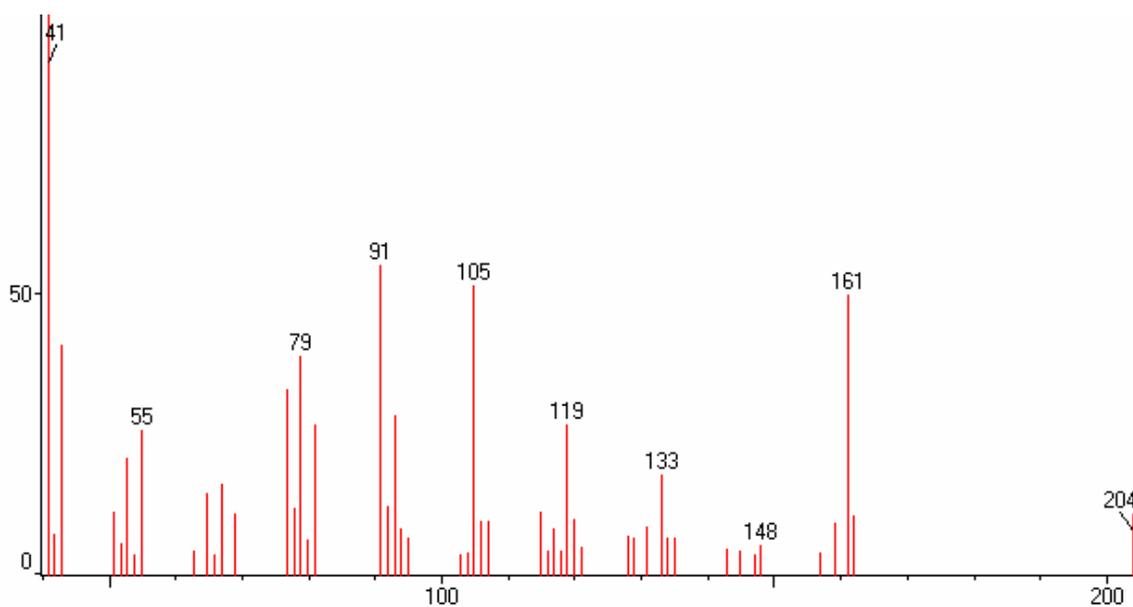


Figura X.a. Cromatograma da amostra referente ao *gama*-cadineno (pico 15).

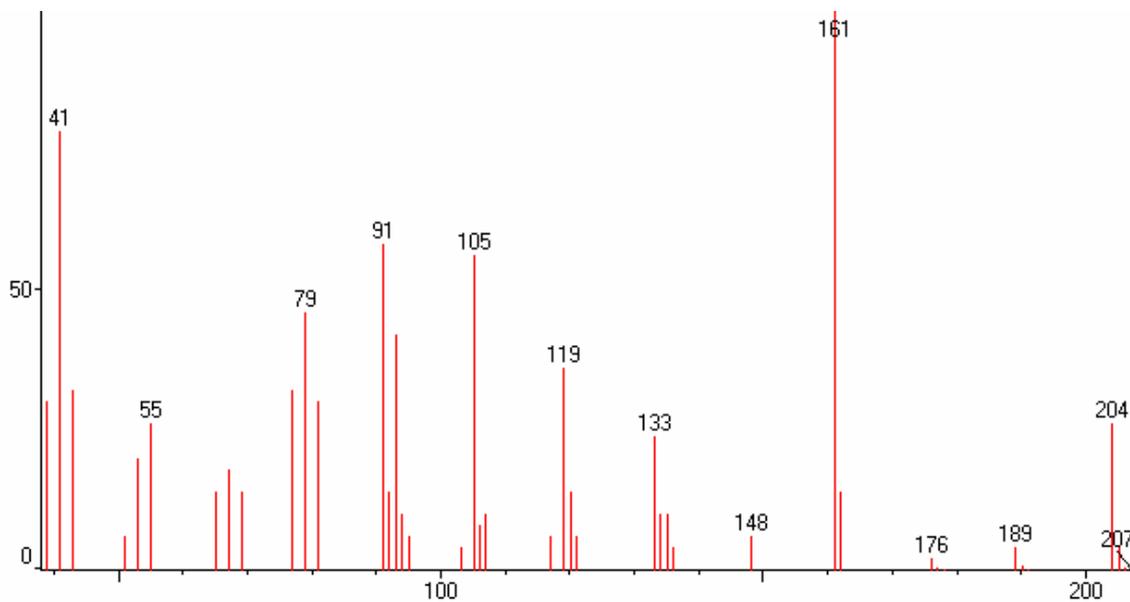


Figura X.b. Cromatograma do padrão referente ao *gama*-cadineno (pico 15).

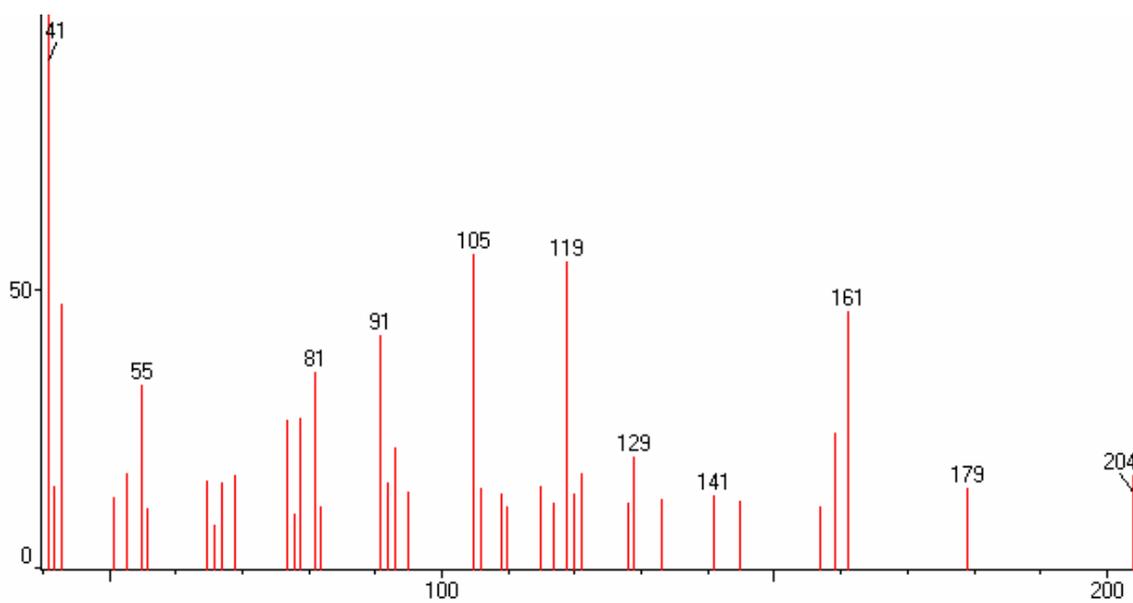


Figura XI.a. Cromatograma da amostra referente ao 1,10,*di-epi*-cubenol (pico 16).

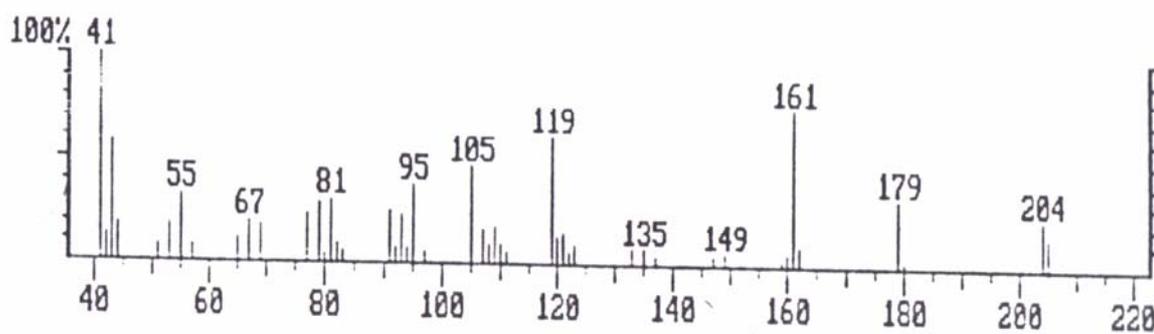


Figura XI.b. Cromatograma do padrão referente ao 1,10,*di-epi*-cubenol (pico 16).

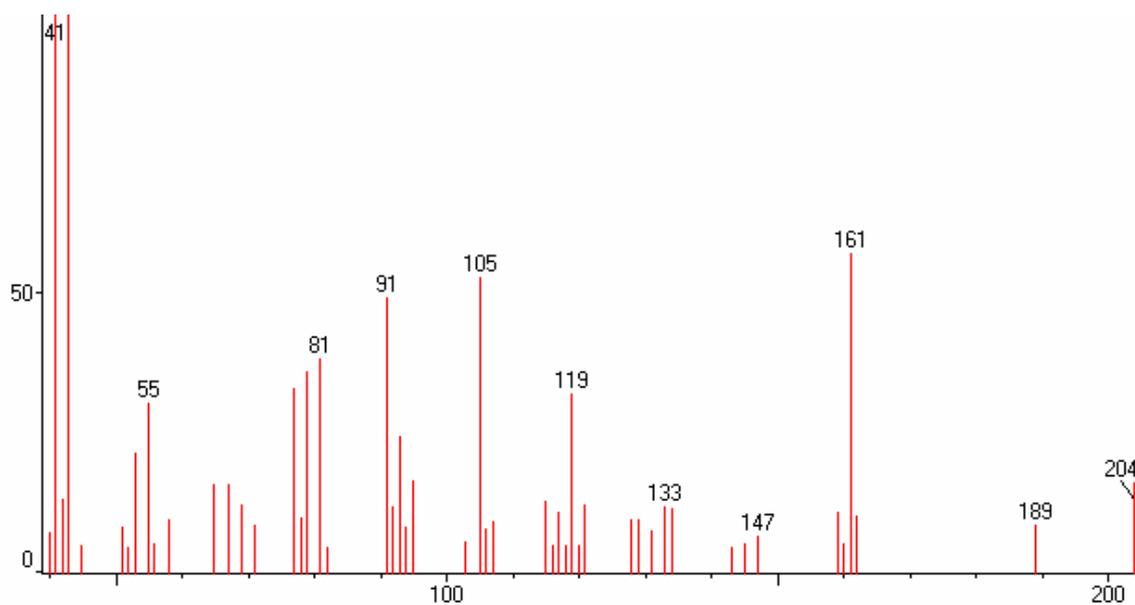


Figura XII.a. Cromatograma da amostra referente ao *epi-alfa-cadinol* (pico 17).

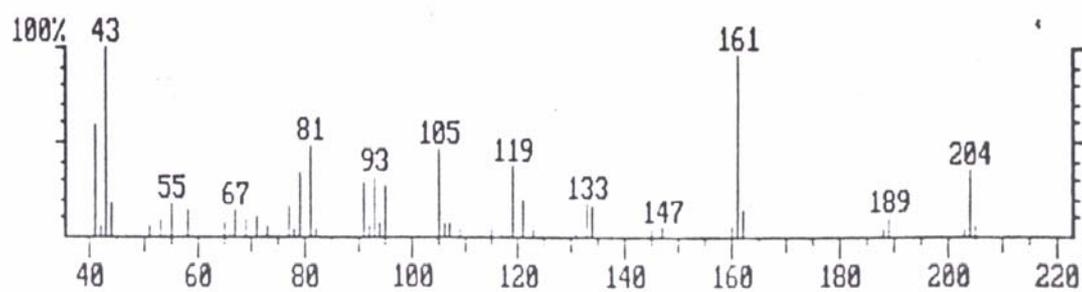


Figura XII.b. Cromatograma do padrão referente ao *epi-alfa-cadinol* (pico 17).

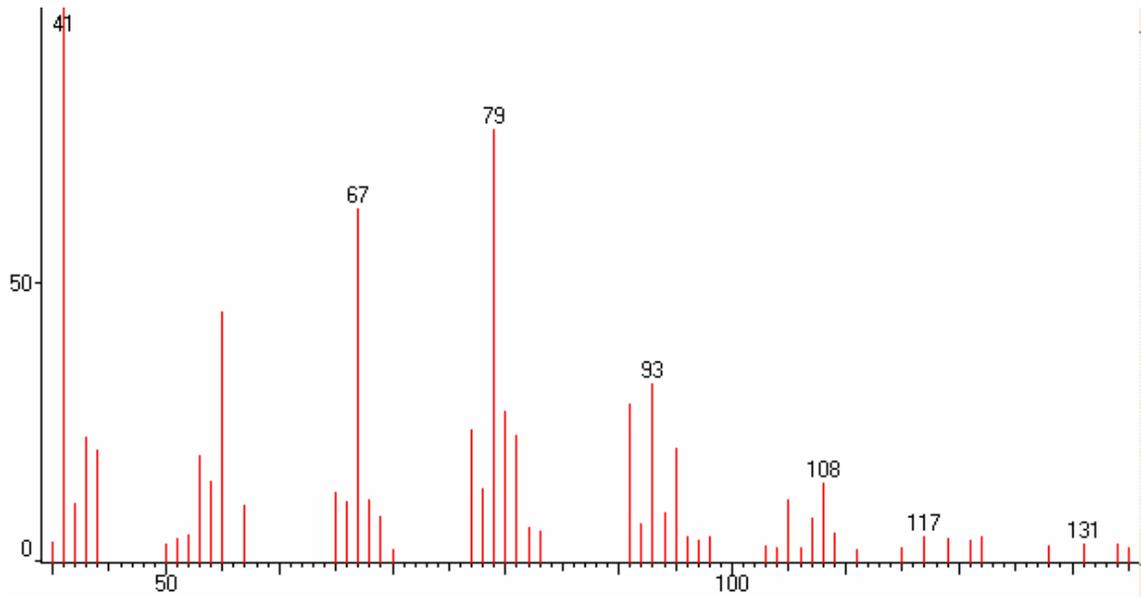


Figura XIII.a. Cromatograma da amostra referente ao octadecatrienal (pico 19).

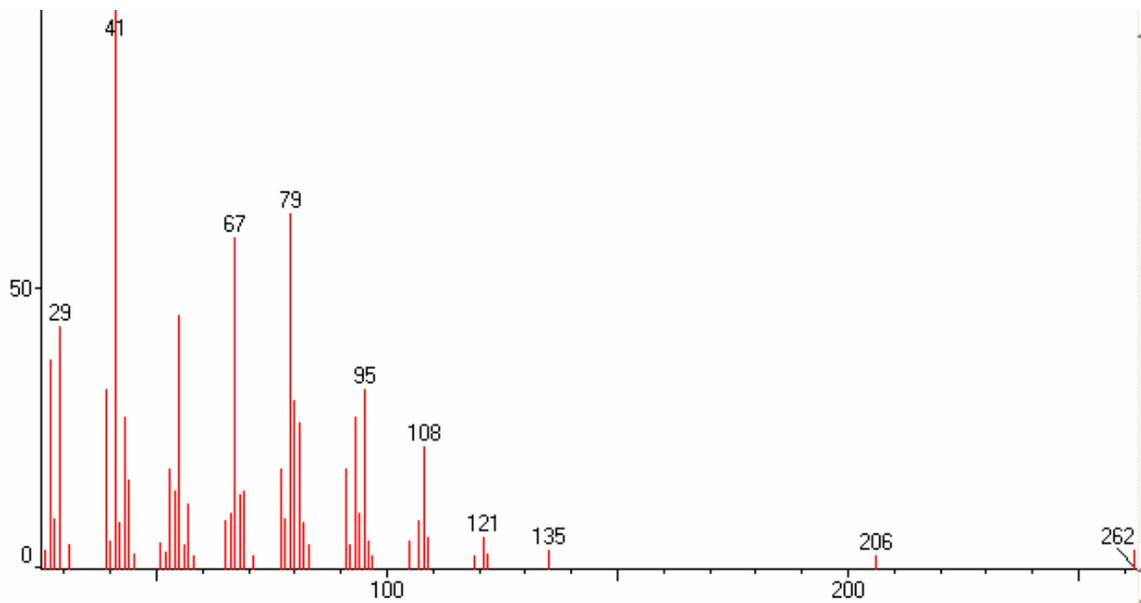


Figura XIII.b. Cromatograma do padrão referente ao octadecatrienal (pico 19).

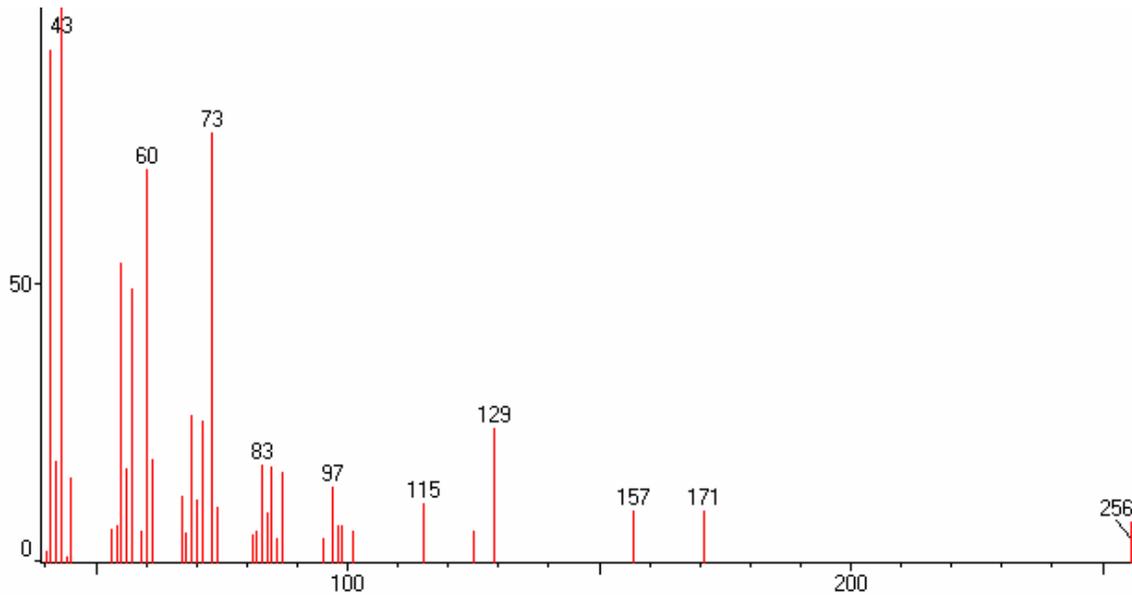


Figura XIV.a. Cromatograma da amostra referente ao ácido palmítico (pico 20).

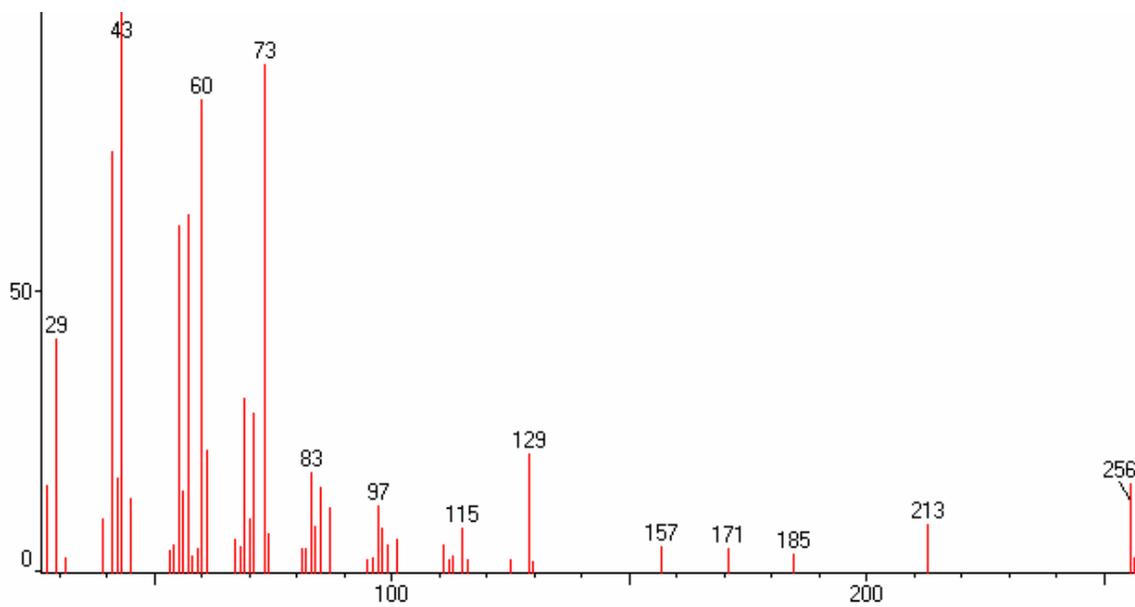


Figura XIV.b. Cromatograma do padrão referente ao ácido palmítico (pico 20).

## 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 2001. Allured Publishing.

AERTS, R.J.; SNOEIJER, W.; MEIJDEN, E.V.D.; VERPOORTE, R. Allelopathic inhibition of seed germination by cinchona alkaloids? **Phytochemistry**, v. 30, n. 9, p. 2947-2951, 1991.

ALÍAS. J. C, SOSA. T, ESCUDERO. J. C, CHAVES. N. Autotoxicity against germination and seedling emergence in *Cistus ladanifer* L. **Plant and Soil**, v. 282, p. 327-332, 2005.

ALMEIDA, F.S. Alelopatia e as plantas. Londrina: IAPAR, 1988. 60p. (Circular IAPAR, 53).

ANGELINI. L. G, CARPANESE. G, CIONI. P. L, MORELLI. I, MACCHIA. M, FLAMINI. G. Essential Oils from Mediterranean Lamiaceae as Weed Germination Inhibitors. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 6158-6164, 2003.

ASAKAWA, Y.; MATSUDA, R.; TAKEMOTO, T. Mono- and sesquiterpenoids from *Wiesnerella denudata*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 4, p. 567-569, 1980.

BANSAL, G. L.; BHAN, V. M. Status of research on allelopathy and future scope of work in Indian. **Indian Journal of Agricultural Science**, New Delhi, v. 63, n. 12, p. 769-776, 1993.

BARNEY. J. N, HAY. A. G, WESTON. L. A. Isolation and characterization of allelopathic volatiles from mugwort (*Artemisia vulgaris*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 2, 2004.

BASILE. A, SORBO. S, SÁEZ. J. A. L. COBIANCHI.R. C. Effects of seven pure flavonoids from mosses on germination and growth of *Tortula muralis* HEDW.

(Bryophyta) and *Raphanus sativus* L. (Magnoliophyta). **Phytochemistry**, v. 62, p. 1145-1151, 2002.

BHATT, R.K.; SABATA, B.K. A furanoid diterpene glucoside from *Tinospora cordifolia*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 9, p. 2419-2422, 1989.

BLUM, U. Designing laboratory plant debris-soil bioassays: some reflections. In INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, 1999. p. 17-23.

BUSS D Antony SHUGENG CAO, MARK S. BUTLER. **Flavonoids from *Artocarpus ianceifolius* Roxb.** Natural Product Research 2003, 17, 79-81.

CARVALHO, S. I. C. **Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. *vulgaris* cv. Bandeirante.** 1993. 72 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CHON. S-U, KIM. Y-M, LEE. J-C. Herbicidal potential and quantification of causative allelochemicals from several Compositae weeds. **European Weed Research Society Weed Research**, v. 43, p. 444-450, 2003.

CHOU, C. H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, n. 5, p. 609-636, 1999.

CHOU, C.H.; WALLER, G.R. Possible allelopathic constituents of *Coffea arabica* L. **Journal of Chemical Ecology**, Dordrecht, v. 6, p. 643-639, 1980.

CUNICO. M. M, DIAS. G. J, MIGUEL. D. M, MIGUEL. G. O. Potencial Antimicrobiano e alelopático das amidas isoladas do extrato das raízes de *Ottonia martiana* Miq. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 746-749, 2006.

DAKSHINI, K.M.M.; FOY,C.L. e INDERJIT. Allelopathy: one component in a multifaceted approach to ecology. In INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. e FOY, C.L.

(Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, 1999. p.3-14.

DAYAN, F.E., ROMAGNI, J. G., and DUKE, S. O 2000. **Investigating the mode of action of natural phytotoxins**. J. Chem Ecol. 26:2079-2094

DEPRÁ, G.T; LINK, D.; LOPES, J.M.; BEHR, E. **Nível tóxico de inseticidas para lambari. 2. Clorpirifós**. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 18., 1989, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre, RS: IRGA, 1989b. p. 466-471.

DEL MORAL, R. **On the variability of chlorogenic acid concentration**. Oecologia, v. 9, p. 289-300, 1972

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

EINHELLIG, F.A. Allelopathy: Current status and future goals. In: INDEJIT; DAKSHINI, K.M.M.; EINHELLIG, F.A. (Ed). **Allelopathy: organisms, processes and applications**. Washington: American Chemical Society, 1995. p. 1-25.

EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.

ELIO, G.W.M. SCHIJLEN, C.H.RIC E VOS, ARJEN J. VAN TUNEN and ARNAUDG. BOVY **Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants**. Phytochemistry 65. Issue 19. 2004, 2631 – 2648.

EMBRAPA, **Circular Técnica nº 42**, 2001.

FEENY, P.P. **Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feedings by winter moth caterpillars**. Ecology, 51: 565-81,1970.

FEO. V. D, SIMONE. F. D, SENATORE. F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v. 61, p. 573-578, 2002.

FISCHER, N.H. Plant terpenoids as allelopathic agents. In: HARBORNE, J.B.; TOMAS-BARBERAN, F.A. (Ed.) **Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids**. New York: Oxford Science Publications, 1991. p. 375-398.

FISCHER, N.H.; WEIDENHAMER, J.D.; BRADOW, J.M. Dihydroparthenolide and other sesquiterpene lactones stimulate witchweed germination. **Phytochemistry**, v. 28, n. 9, p. 2315-2317, 1989.

FISCHER, N.H.; WEIDENHAMER, J.D.; RIOPEL, J.L.; QUIJANO, L.; MENELAOU, M.A. Stimulation of witchweed germination by sesquiterpene lactones: a structure-activity study. **Phytochemistry**, v. 29, n. 8, p. 2479-2483, 1990.

FRIEDMAN, J. Allelopathy, autotoxicity, and germination. In: KIGEL, J; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p 629-644.

FUERST, E.P.; PUTNAM, A.R. Separating the competitive and allelopathic components of interference: theoretical principles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 9, n. 8, p. 937-944, 1983.

GOTO, Y.; KOJIMA, Y.; NAKAYAMA, T.; TERAZAWA, M. Allelopathic sesquiterpenoids from rhizomes of *Petasites japonicus* ssp. *giganteus* Kitam. **Phytochemistry**, v. 57, n. 1, p. 109-113, 2001.

GRANKHOV, V.P. ; DIDYK, N.P. **Phytocenotics approach in allelopathy of higher plants**. In: FIST WORID CONDRESS ON ALLELOPATHY, Cádiz – Sapin, 1996. Anais...Cádiz – Spain, 1996. p.52.

GROSS, D. Growth regulating substances of plant origin. **Phytochemistry**, v. 14, p 2105-2112, 1975.

HARBORNE, J.B. Plant secondary metabolism. In: CRAWLEY, M.J. (Ed.). **Plant Ecology**. 2 ed. Blackwell Science, 1997 p. 132-155.

- HARBORNE, J.B. Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In: HARBORNE, J.B.; TOMAS-BARBERAN, F.A. (Ed.) . **Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids**. New York: Oxford Science Publications, 1991. p. 399-426.
- HALL, A.B.; BLUM, U. e FITES, R.C. Stress modification of allelopathy of *Helianthus annuus* L. debris on seed germination. **American Journal of Botany**, 69:776-783, 1982.
- HALLIGAN, J.P. Toxic terpenes from *Artemisia californica*. **Ecology**, v. 56, p. 999-1003, 1975.
- HERNANDEZ-TERRONES, M.G.; AGUILAR, I.; KING-DIAZ, B.; LOTINA-HENNSEN, B. Inhibition of Photophosphorylation in Spinach Chloroplasts by the Trachyloban-19-oic Acid. **Pest. Bioch. and Phys.**, 77, p. 12-17, 2003(a).
- HERNANDEZ-TERRONES, M. G.; AGUILAR, I.; KING-DIAZ, B.; LOTINA-HENNSEN B. Interference of Methyl trachyloban-19-oate Ester with CF<sub>o</sub> of Spinach Chloroplasts H<sup>+</sup>-ATPase. **Arch. Bioch. Bio.** , 418, p. 93-97, 2003(b).
- HILT. S. Allelopathic inhibition of epiphytes by submerged macrophytes. **Aquatic Botany**, v. 85, p. 252-256, 2006.
- HIRADATE, S.; YADA, H.; ISHII, T.; NAKAJIMA, N.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; SUGIE, H.; ZUNGSONTIPORN, S.; FUJII, Y. Three plant growth inhibiting saponins from *Duranta repens*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 7, p. 1223-1228, 1999.
- HUANG, Z.; LIAO, L.; WANG, S.; CAO, G. Allelopathy of phenolics from decomposing stump-roots in replant Chinese fir woodland. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2211-2219, 2000.

HULOT, F. D, HUISMAN, J. Allelopathic interactions between phytoplankton species: The roles of heterotrophic bacteria and mixing intensity. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 4, p. 1424-1434, 2004.

INDERJIT. In separating resource competition from allelopathy realistic? **The Botanical Review**, v. 63, n. 3, p. 221-230, 1997.

INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 62, n. 2, p. 187-202, 1996.

INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 61, n. 1, p. 28-44, 1995.

INDERJIT e DEL MORAL, R. Is separating resource competition from allelopathy realistic. **The Botanical Review**, 63:221- 227, 1997.

INDERJIT; MALLIK, A.U. Can *Kalmia angustifolia* interference to black spruce (*Picea mariana*) be explained by allelopathy? **Forest Ecology and Management**, v. 160, p. 75-84, 2002.

JUAN JIMÉNEZ-OSORNIO, F.M.V.Z.; KUMAMOTO, J.; WASSER, C. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides*. *L.* **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 24, n. 3, p. 195-205, 1996.

KASPERBAUER, M.J.; TSO, T.C., SOROKIN, T.P. **Effects of end-of-day red and far-red radiation on free sugars, organic acids and aminoacids of tobacco.** **Phytochem.**, v. 9, p. 2091-2095, 1970.

KONG, C; HU, F.; XU, X. Allelopathic potencial and chemical constituents of volatiles from *Ageratum conyzoides* under stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 6, June, 2002.

KROPFF, M. J; WALTER, H.; *Weed Research*; **2000**, 40, páginas 7-10.

LABOURIAU, L. G. A germinação de sementes. Washington: OEA, 1983. 173 p.

LADYZHENSACKAYA. E.P., GRIKUM, I. N., KORABLEVA.N.P. and MOROZ, P. A. (1987)” **Effect of phenolic compounds on the ATPase activity of plant plasmalemma fraction**” Dokl. Akad. Nauk Ukr. SSR, Ser. B: Geol., Khim. Biol. Nauki 6,66-69.

LIU, D.L.; LOVETT, J.V. Biologically active secondary metabolites of barley. I. developing techniques and assessing allelopathy in barley. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 10, p. 2217-2230, 1993.

MACÍAS, F. A.; DAKSHINI, K. M. M.; EINHELLIG, F. A.; *American Chemical Society: ACS Symposium Series 582*; Washington, DC, 1995; páginas 310-329.

MACIAS, F.A.; VARELA, R.M.; TORRES, A.; MOLINILLO, J.M.G. Potential allelopathic activity of natural plant heliannanes: a proposal of absolute configuration and nomenclature. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2173-2186, 2000.

MANO, A. R. O. **Efeito Alelopático do extrato aquoso de sementes de camarú (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2006, 102 p.

MANTHE, B., SEHULZ, M SCHNABL. H. (1992) “ **Effect of salicylic acid on growth and stomatal movements of *Vicia faba* L.; evidence for salicylic acid metabolization**” J. Chem. Ecol. 18(9), 1525-1539.

McPHERSON, J. K.; CHOU, C.H.; MULLER, C.H. Allelopathic constituents of the chaparral shrub *Adenostoma fasciculatum*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 12, p. 2925-2933, 1971.

MILLER, D.A. Allelopathy in forage crop systems. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 854-859, 1996.

M.M. E VIDAL, R. A. **Potencial de utilização de cobertura vegetal de sorgo e milho na supressão de plantas daninhas em condições de campo: II- Efeitos da cobertura Mortatrezzi.** Volume 22.1:1-10, 2004.

MOHR H., SCHOPFER P.; *Plant Physiology*; Springer; 1995, páginas 579-585.

MULLER, C.H. Allelopathy as a factor in ecological process. **Vegetatio**, 18:348-357, 1969.

NASCIMENTO I. R., LOPES L. M. X. **Diterpene esters of aristolochic acids from *Aristolochia pubescens*.** *Phytochemistry*, 2003, 63(8): 953-957.

NEAVE, I. A. and DAWSON, J. O (1989) “ **Juglone reduces growth nitrogenase activity, and root respiration of actinorhizal black alder seedlings**” *J. Chem . Ecol* 15(6): 1823- 1826.

NISHIDA. N, TAMOTSU. S, NAGATA. N, SAITO. C, SAKAI. A. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and dna synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. **Journal of chemical Ecology**, v. 31, n. 5, p. 1187-1203, 2005.

NISHIMURA, H.; KONDO, Y.; NAGASAKA, T.; SATOH, A. Allelochemicals in chicory and utilization in processed foods. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2233-2241, 2000.

NOGUCHI. H. –K. Allelopathic substances in *Pueraria thunbergiana*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 577-580, 2003.

OLOFSDOTTER, M.; REBULANAN, M.; MADRID, A.; DALI, W.; NAVAREZ, D.;OLK, D.C. Why phenolic acids are unlikely primary allelochemicals in rice. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 1, p. 229-242, 2002.

PELLISSIER, F. Effect of phenolic compounds in humus on the natural regeneration of spruce. **Phytochemistry**, v. 36, n. 4, p. 865-867,1994.

PHILLIPSON, G. W.; ANDERSON, A. C.; *J. Ethnopharmacol.* **1998**, 25, páginas 61-65.

PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JR, R.S.; CONSTANTIN, J. (Coord.). **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001, p.145-185.

PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Allelopathy in agroecosystems. **Annual Review Phytopathol**, v. 16, p. 431-451, 1978.

PUTNAM, A.R. Weed allelopaty. In: Duke, S. D. **Weed Physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1985. p. 131-55.

PUTNAM, A.R. ; TANG, C.S. Allelopathy: state of the science. **The science of allelopathy**. New York: John Wiley e Sons, 1986, p. 1-19.

QIMING. X, HAIDONG. C, HUIXIAN. Z, DAQIANG. Y. Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystin aeruginosa*. **Acta Ecologica Sinica**, v. 26, n. 11, p. 3549-3554, 2006.

QUAYYUM, H.A.; MALLIK, A.U.; LEACH, D.M.; GOTTARDO, C. Growth inhibitory effects of nutgrass (*Cyperus rotundus*) on rice (*Oryza sativa*) seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 9, p. 2221-2231, 2000.

RADI, P. A.; HERNANDEZ-TERRONES, M. G. Isolamento e identificação de produtos naturais obtidos de plantas com potencial atividade herbicida. *Revista Horizonte Científico*, v. 2, p. 5, 2005.

RAWAT, M.S.M.; PANT, G.; PRASAD, D.; JOSHI, R.K.; PANDE, C.B. Plant growth inhibitors (Proanthocyanidins) from *Prunus armeniaca*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, p. 13-23, 1998.

REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; *Science Publishers*; **2002**, páginas 139-193.

REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, n. 5, p. 577-608, 1999.

REINHARDT, C.F.; KHALIL, S. e BEZUNDENHOUT, S. Biossay techniques in assessing the allelopathy effects of weeds on crop and plantation species. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. e CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, 1999. v.1, p.29-46.

RICE, E. L. **Allelopathy**. New York: Academic Press, 1984. 423 p.

RICE, E. L.; PANCHOLY, S.K. Inhibition of nitrification by climax ecosystems. III. Inhibitors other than tannins. **American Journal of Botany**, v. 61, n. 10, p. 1095-1103, 1974.

RIGANO, D, GRASSIA, A, FORMISANO, C, BASILE, A, SORBO, S, SENATORE, F. Antibacterial and allelopathic activity of methanolic extract from *Iris pseudopumila* rhizomes. **Fitoterapia**, v. 77, p. 460-462, 2006.

RIZVI, S.J.H. & RIZVI, V. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In: RIZVI, S.J.H. & RIZVI, H. (Eds.) **Allelopathy: Basic and applied aspects**. London, Chapman & Hall, 1992. p.443-472.

RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D.; REIS, R.A. **Alelopatia em plantas forrageiras**. Jaboticabal: FCAVJ- UNESP/FUNEP, 1992. 18 p. (Boletim).

SEAL, A. N, PRATLEY, J. E, HAIG, T, AN, M. Identification and quantitation of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 8, 2004.

SEIGLER, D.S. Chemistry and mechanisms of allelopathy interactions. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 876-885, Nov./Dec., 1996.

SINGH, H.P.; BATISH, J.K.; PANDHER, J.K.; KOHLI, R.K. Assessment of allelopathic properties of *Parthenium hysterophorus* residues. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 95, p. 537-541, 2003.

SMITH, A. E. The potential allelopathic characteristics of bitter sneezeweed (*Helenium amarum*). **Weed Science**, v. 37, n. 5, p. 665-669, 1989.

SOUZA, I. F. Alelopatia de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 13, n. 150, p. 75-78, 1988.

SWAIN, T. **Secondary compounds as protective agents**. Anual Review of Plant Physiology, 28:479-501, 1977.

TANG, C.S.; YOUNG, C.C. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of Bigalta limpgrass (*Hemarthria altissima*). **Plant Physiology**, v. 69, p. 155-160, 1982.

TSANUO. M. K, HASSANALI. A, HOOPER. A. M, KHAN. Z, KABERIA. F, PICKETT. J. A, WADHAMS. L. J. Isoflavanones from the allelopathic aqueous root exudate of *Desmodium uncinatum*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 265-273, 2003.

UFLA, 2004 - <http://www.dag.ufla.br/PIDaninha/ApostFit155.pdf>: Página acessada dia 06/07/2007.

UGAZ, O. L. **Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales**. Pub. Univ. Pontificia Catolica Del Peru, 1994. p. 269-278

VACCARINI, C.E.; PALACIOS, S.M.; MERAGELMAN, K.M.; SOSA, V.E. Phytogrowth-inhibitory activities of a clerodane from *Viguiera tucumanensis*. **Phytochemistry**, v. 50, n. 2, p. 227-230, 1999.

VASILAKOGLU. I, DHIMA. K, ELEFTHEROHORINOS. I. Allelopathic Potential of Bermudagrass and Johnsongrass and their Interference with Cotton and corn. **Agronomy Journal**, v. 97, n. 1, p. 303-313, 2005.

VIATOR. R. P, RICHARD. M, CASEY. J. C, GRIMM. E. P, RICHARD. Jr. Allelopathic, Autotoxic, and Hormetic Effects of Postharvest sugarcane Residue. **Agronomy Journal**, n. 6, p. 1526-1531, 2006.

VICKERY, M. L. & VICKERY, B. (1981). **Secondary Plant Metabolism**. The Macmillan Press Ltd., Hong Kong.

VILES, R.N.; REESE, R.N. Allelopathic potential of *Echinacea angustifolia* D.C. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 1, p. 39-43, 1996.

VOKOU. D, DOUVLI. P, BLIONIS. G. J, HALLEY. J. M. Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 10, 2003.

VOLK. R-B, FURKERT. F. H. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. **Microbiological Research**, v. 161, p. 180-186, 2005.

WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. e CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, 1999. v.1, sem paginação.

WALLER, G.R.; FEUG, M.C. e FUJII, Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. e FOY, C.L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, 1999. p. 75-98.

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

WEIDENHAMER, J. D. Distinguishing resource competition and chemical interference: overcoming the methodological impasse. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 866-875, 1996.

WEIDENHAMER, J. D, ROMEO. J. T. Allelochemicals of polygonella myriophylla: chemistry and soil degradation. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 5, 2004.

WESTON, L. A. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 860-866, 1996.

WILSON, E.O. **Chemical communications within animal species.** In: SONDHEIMER, E. & SIMEONE, J.B. **Chemical Ecology.** New York, Academic, 1970. p. 133-135.

WU, Y.C.; CHAO, Y.C.; CHANG, F.R.; CHEN, Y.Y. Alkaloids from *Cassythia filiformis*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 1, p. 181-184, 1997.

XIAN. Q, CHEN. H, LIU. H, ZOU. H, YIN. D. Isolation and Identification of Antialgal Compounds from the Leaves of Vallisneria spiralis L. by Activity-Guided Fractionation. **Environ Sci Pollut Res**, v. 13, n. 4, p. 233-237, 2006.

XUAN. T. D, ELZAAWELY. A. A, FUKUTA. M, TAWATA. S. Herbicidal and Fungicidal Activities of Lactones in Kava (*Piper methysticum*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 720-725, 2006.

XUAN. T. D, TSUZUKI. E, TERAQ. H, MATSUO. M, KHANH. T. D. Correlation between Growth Inhibitory exhibition and Suspected Allelochemicals (Phenolic Compounds) in the Extract of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Prod. Sci**, v. 6, n. 3, p. 165-171, 2003.

YAMADA, K.; ANAI, T.; HASEGAWA, K. Lepidimoide, an allelopathic substance in the exudates from germinated seeds. **Phytochemistry**, v. 39, n. 5, p. 1031- 1032, 1995.

YAMADA, K; ANAI, T.; KOSEMURA, S.; YAMAMURA, S.; HASEGAWA, K. Structure-activity relationship of lepidimoide and its analogues. **Phytochemistry**, v. 41, n. 3, p. 671-673, 1996.

YOKOTANI-TOMITA, K.; GOTO, N.; KOSEMURA, S.; YAMAMURA, S.; HASEGAWA, K. Growth-promoting allelopathic substance exuded from germinating *Arabidopsis thaliana* seeds. **Phytochemistry**, v. 47, n. 1, p. 1-2, 1998.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)