



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS EM  
DICLOROMETANO DE *Origanum majorana* L. NA  
INIBIÇÃO DE *Panicum maximum***

ORIENTADOR: PROF. DR. MANUEL GONZALO HERNANDEZ  
TERRONES

ALUNA: JANAINNE NUNES ALVES

**UBERLÂNDIA-2009**

**JANAINNE NUNES ALVES**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS EM  
DICLOROMETANO DE *Origanum majorana* L. NA  
INIBIÇÃO DE *Panicum maximum***

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de  
Uberlândia para obtenção do título  
de Mestre em Química sob  
orientação do Prof.Dr. Manuel  
Gonzalo Hernandez Terrones; no  
programa de Pós-graduação em  
Química.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

---

A474c Alves, Janainne Nunes, 1982-

Caracterização química dos extratos em diclorometano de *Origanum majorana L.* na inibição de *Panicum maximum* / Janainne Nunes Alves. - 2009.

94 f. : il.

Orientador: Manuel Gonzalo Hernandez Terrones

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

Inclui bibliografia.

1. Alelopatia - Teses. I. Hernandez Terrones, Manuel Gonzalo. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU:

581.524.13



**ALUNO(A): JANAINNE NUNES ALVES**

**NÚMERO DE MATRÍCULA: 93825**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA**

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

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:**

***“Caracterização química dos extratos de *Origanum majorana* L. na inibição de *Panicum maximum*”***

**ORIENTADOR:**

**PROF. DR. MANUEL GONZALO HERNÁNDEZ-TERRONES**

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada no Anfiteatro do Bloco 1X, no Campus Santa Mônica, no dia 7 de agosto de 2009, às 14:30 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME:

Prof. Dr. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones  
(IQUFU)

Prof. Dr. Fernando Petacci  
(Universidade Federal de Goiás)

Prof. Dr. Roberto Chang  
(IQUFU)

ASSINATURA:

Uberlândia, 7 de agosto de 2009.

*“É caminhando que se faz  
o caminho.”*

*Titãs*

## AGRADECIMENTO

*A Deus, a minha família e a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho, em especial ao meu orientador, as amigas do laboratório Fernanda e Cecília, ao professor Dr. Chang e ao Ms. Douglas pelo apoio e tratamento estatístico dos dados.*

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	15
2. Revisão da literatura.....	17
2.1 Histórico.....	17
2.2 Conceito.....	18
2.3 Natureza dos compostos alelopáticos.....	19
2.4 Mecanismos de liberação dos aleloquímicos .....	27
2.5 Fatores que alteram a liberação dos aleloquímicos.....	30
2.6 Atuação dos aleloquímicos.....	30
2.7 Herbicidas sintéticos.....	32
2.8 Herbicidas sintéticos e o meio ambiente.....	39
2.9 Bioerbicidas.....	40
2.10 <i>Origanum majorana</i> L.....	45
3 Objetivos.....	48
4 Metodologia.....	48
4.1 Obtenção dos extratos.....	49
4.2 Preparo das soluções.....	49
4.3 Germinação.....	49
4.4 Tratamento estatístico dos dados.....	50
4.5 Prospecção fitoquímica.....	50
4.6 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.....	53
5 Resultados e discussões.....	53
5.1 Rendimento dos extratos.....	53

5.2 Germinação.....	54
5.3 Testes fitoquímicos.....	61
5.4 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.....	63
6 Conclusões.....	66
7 Referências bibliográficas.....	68
8 Apêndice.....	76
9 Anexo.....	81



## ÍNDICE REMISSIVO PARA FIGURAS

Figura 1. À esquerda estrutura geral das betalainas, à direita estrutura geral das antocianinas ou cátion 2-fenilbenzopirilium.....	16
Figura 2. <i>Brevicoryne brassicae</i> .....	17
Figura 3. Gráfico comparativo das porcentagens de insetos mortos nas amostras.....	17
Figura 4. (a) ácido benzóico; (b) ácido cinâmico.....	19
Figura 5. Vias do metabolismo secundário e suas interligações .....	20
Figura 6. (a)ácido málico;(b)ácido cítrico; (c)ácido parasórbico;(d)p-hidroxibenzaldeído (e) digitoxigenina.....	22
Figura 7.(a)estrutura da quercetina; (b)estrutura da quercetina-3-O-β-D-glicosídeo.....	23
Figura 8. gossipol.....	23
Figura 9. (a) solanina; (b) atropina.....	24
Figura 10. Aleloquímicos e principais classes funcionais.....	25
Figura 11. Formas de liberação dos aleloquímicos.....	29
Figura 12. <i>Origanum majorana</i> L.....	45
Figura 13. Porcentagem de inibição de <i>Panicum maximum</i> em ensaio de germinação da raiz de <i>O.majorana</i> .....	55
Figura 14. Porcentagem de inibição de <i>Panicum maximum</i> em ensaio de germinação do caule de <i>O.majorana</i> .....	57
Figura 15. Porcentagem de inibição de <i>Panicum maximum</i> em ensaio de germinação da folha de <i>O.majorana</i> .....	59
Figura 16. Cromatograma do extrato em diclorometano da folha de <i>O. majorana</i> .....	63
Figura 17. Cromatograma do extrato em diclorometano do caule de <i>O. majorana</i> .....	64

## ÍNDICE REMISSIVO PARA QUADROS

Quadro 1. Substâncias com atitude aleloquímica e suas fórmulas estruturais.....	26
Quadro 2. Herbicidas reguladores de crescimento.....	34
Quadro 3. Herbicidas inibidores de biossíntese.....	35
Quadro 4. Herbicidas inibidores de aminoácidos.....	36
Quadro 5. Herbicidas inibidores de fotossíntese.....	37
Quadro 6. Herbicidas inibidores da biossíntese de pigmentos.....	38
Quadro 7. Herbicidas desruptores mitóticos.....	38
Quadro 8. Herbicidas inibidores da protox.....	39
Quadro 9. Estruturas dos metabólitos secundários com propriedades fitotóxicas.....	41
Quadro 10. Compostos obtidos de plantas explorados como herbicidas comerciais.....	42
Quadro 11. Algumas fitotoxinas derivadas de plantas usadas como herbicidas naturais.....	44
Quadro 12. Compostos presentes no óleo essencial de <i>O. majorana</i> .....	47
Quadro 13. Compostos voláteis encontrados nas folhas de <i>O. majorana</i> , através do extrato diclorometânico.....	64
Quadro 14. Compostos voláteis encontrados no caule de <i>O. majorana</i> , através do extrato diclorometânico.....	65
Quadro 15. Estruturas dos compostos voláteis encontrados em <i>O. majorana</i> , através do extrato diclorometânico.....	65

## ÍNDICE REMISSIVO PARA TABELAS

Tabela 1. Obtenção dos extratos de <i>O. majorana</i> em diclorometano.....	49
Tabela 2. Rendimento dos extratos da raiz, do caule e da folha de <i>O.majorana</i> .....	54
Tabela 3. Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da parte aérea de <i>Panicum maximum</i> pelos extratos da raiz de <i>O. majorana</i> .....	55
Tabela 4. Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da raiz de <i>Panicum maximum</i> pelos extratos da raiz de <i>O. majorana</i> .....	56
Tabela 5. Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da parte aérea de <i>Panicum maximum</i> pelos extratos do caule de <i>O. majorana</i> .....	58
Tabela 6. Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da raiz de <i>Panicum maximum</i> pelos extratos do caule de <i>O. majorana</i> .....	58
Tabela 7. Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da parte aérea de <i>Panicum maximum</i> pelos extratos das folhas de <i>O. majorana</i> .....	60
Tabela 8. Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da raiz de <i>Panicum maximum</i> pelos extratos das folhas de <i>O. majorana</i> .....	60
Tabela 9. Porcentagens de inibição obtidas na germinação.....	61
Tabela 10. Testes de prospecção fitoquímica na folha, no caule e na raiz de <i>O. majorana</i> .....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS

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

UV - ultravioleta

CCD - cromatografia de camada delgada

EPSP - 5-enolpiruvil-3-fosfochiquimato

PAL - fenilalanina amônio liase

Protox - enzima protoporfirinogênio oxidase

AcOH - ácido acético

MeOH - metanol

AcOEt - acetato de etila

## RESUMO

Foram estudados o potencial alelopático dos extratos da raiz, do caule e das folhas de *Origanum majorana* L.(catinga de mulata), quanto a inibição da germinação de sementes de *Panicum maximum* (capim-colonião), o ensaio foi realizado em caixas gerbox, com fotoperíodo de 10 horas e 7 dias, com soluções dos extratos diclorometânicos da raiz, caule e folha de *O. majorana* nas concentrações: 50,100 e 200 ppm, assim como foi feito o ensaio negativo (branco) com *Panicum maximum* para análise dos resultados. A inibição aumentou substancialmente com o aumento da concentração dos extratos, sendo que os extratos da raiz, caule e folha de *O. majorana* apresentaram inibição de 100% da germinação na concentração de 200 ppm. O extrato da raiz apresentou inibição de 80% da germinação na concentração de 100 ppm e o extrato das folhas de *O. majorana* apresentou eficiência de 83% na inibição da raiz e parte aérea, mesmo na concentração mais baixa (50 ppm). O extrato do caule também se mostrou eficiente inibindo 80% da raiz e parte aérea na concentração de 100 ppm. Posteriormente foram classificados os metabólitos secundários presentes na raiz, caule e folhas, da espécie em estudo por cromatografia de camada delgada (CCD), na raiz foram encontrados: flavonóides, agliconas antraquinônicas, triterpenos, esteróides e polifenóis. Nas folhas e caules foram encontrados: flavonóides, alcalóides, agliconas antraquinônicas, triterpenos, esteróides, taninos e polifenóis. Os extratos ativos foram analisados através da técnica de Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, identificando: beta-farneseno, delta-decalactona e a lactona do ácido 5- hidróxi-2-decenóico.

**Palavras-chave:** atividade alelopática, germinação, metabólitos secundários

## ABSTRACT

It were studied the allelopathy potential of the extracts of the root, of the stem and of the leaves of *Origanum majorana* L., as the inhibition of the germination of seeds of *Panicum maximum* (grass-colonião), the rehearsal was accomplished in boxes gerbox, with light period of 10 hours and 7 days, with solutions of the extracts diclorometânicos of the root, stem and leaf of *O. majorana* in the concentrations: 50,100 and 200 ppm, as well as it was made the negative rehearsal (white) with *Panicum maximum* for analysis of the results. The inhibition increased substantially with the increase of the concentration of the extracts, and the extracts of the root, stem and leaf of *O. majorana* presented inhibition of 100% of the germination in the concentration of 200 ppm. The extract of the root presented inhibition of 80% of the germination in the concentration of 100 ppm and the extract of the leaves of *O. majorana* presented efficiency of 83% in the inhibition of the root and aerial part, even in the lowest concentration (50 ppm). The extract of the stem was also shown efficient inhibiting 80% of the root and aerial part in the concentration of 100 ppm. Later they were classified the present secondary metabólitos in the root, stem and leaves, of the species in study for thin layer chromatography (TLC), in the root were identifying: flavonoids, triterpenes, steroids and polyphenols. In leaves and stems were identifying: flavonoids, anthraquinone anglicones, triterpenes, steroids, tanines and polyphenols. The active extracts were analyzing through gas chromatography coupled mass spectrum, identifying: beta-farnesene, delta-decalactone and lactone of acid 5-hidroxy-2-decenoic.

Key words: allelopathy activity, germination, second metabolites

## 1. INTRODUÇÃO

Num ecossistema as plantas estão em constante competição por recursos como água, luz, macronutrientes (nitrogênio, oxigênio, carbono, hidrogênio, fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, manganês, zinco, cobre, níquel, molibdênio, ferro e cloro). De tal modo que várias plantas têm desenvolvido estratégias para adquirir maior proporção desses recursos. Essas estratégias associadas à produção de compostos químicos por uma planta, através do metabolismo secundário é denominada alelopatia. (Yunes, 2001).

O metabolismo constitui um conjunto de reações químicas que ocorrem no interior celular. Nos vegetais o metabolismo divide-se em metabolismo primário e metabolismo secundário. No metabolismo primário encontramos um conjunto de processos metabólicos responsáveis por funções essenciais aos vegetais, como fotossíntese, respiração e transporte de solutos. Os compostos envolvidos no processo são geralmente os aminoácidos, os nucleotídeos, os lipídeos, os carboidratos e a clorofila. Esses compostos possuem uma distribuição universal nas plantas. No metabolismo secundário são originados compostos que não possuem uma distribuição universal nas plantas, uma vez que não são necessários para todas as plantas. Um exemplo dessa restrição dos metabólitos secundários a determinadas espécies são as antocianinas e betalaínas, as quais não ocorrem conjuntamente em uma mesma espécie vegetal, as betalaínas são restritas a dez famílias de plantas, pertencentes à ordem *Caryophyllales*, que conseqüentemente não possuem antocianinas, como é mostrado na Figura 1.(Peres, 2005)

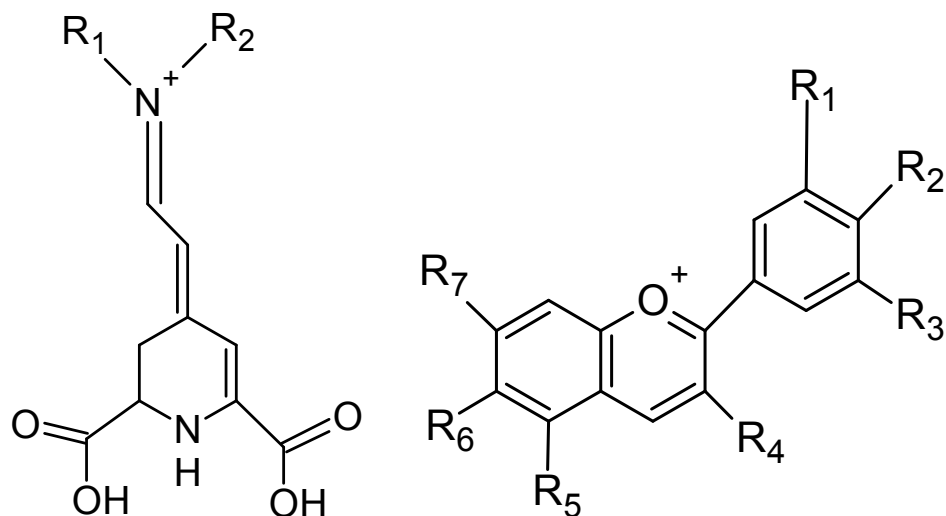


Figura 1: À esquerda estrutura geral das betalainas, à direita estrutura geral das antocianinas

O estudo das plantas e suas interações alelopáticas possibilitaram o desenvolvimento de extratos vegetais no combate de pragas agrícolas, pois, o uso indiscriminado e incorreto de agroquímicos trouxeram sérios problemas ambientais e a saúde humana. Araújo (2007), num estudo realizado em Nova Friburgo-RJ, relata que trabalhadores expostos a agroquímicos são acometidos por uma ampla faixa de sintomas, incluindo cefaléia, vertigem, fadiga, insônia, náusea, vômitos, ruídos crepitantes respiratórios e dispnéia; assim como distúrbios cognitivos (dificuldade de concentração, esquecimento, confusão mental); motores (fraqueza, tremores, câibras, miofasciculação), e disfunção neurossensorial (formigamento, parestesia, visão turva e outros distúrbios visuais).

Com o intuito de investigar extratos naturais que podem ser usados de forma que, as defesas naturais das plantas possam contribuir com o desenvolvimento de culturas com menores danos ambientais e a saúde humana *Origanum majorana* L.(catinga de mulata) foi testada quanto ao seu potencial alelopático para uso com finalidades herbicidas.

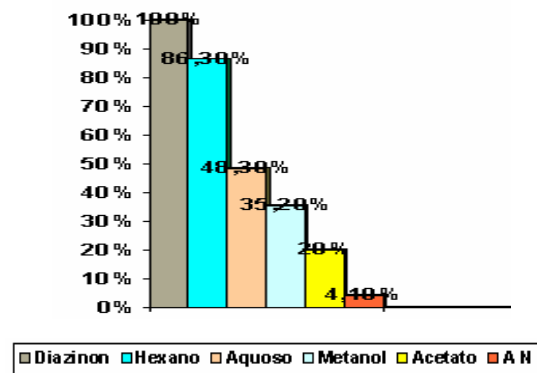
Em um trabalho anterior (resultados não publicados), realizado em conjunto com o Centro Universitário de Patos de Minas, as folhas de *O majorana*, apresentaram eficiência pouco menores que o inseticida padrão (diazinon). No trabalho referido, foram testados os seguintes extratos: aquoso, metanólico, hexânico e em acetato de etila, para verificar sua eficiência no controle do pulgão (*Brevicoryne brassicae*), Figura 2.





Figura 2: *Brevicoryne brassicae*

Os ensaios foram realizados em campo e laboratório onde o extrato em hexano apresentou os melhores resultados. Através dos ensaios em laboratório foi possível quantificar os resultados e estes se encontram a seguir:



\*AN: amostra negativa

Figura 3: Gráfico comparativo das porcentagens de insetos mortos nas amostras

## 2.REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO

O termo alelopatia origina-se no grego, allelon = mútuo e pathos = prejuízo. (Yunes,2001)

A interferência alelopática em sistemas ecológicos foi reconhecida por Democritus e Theophrastus nos séculos III e V a.C., onde perceberam a influência que

algumas plantas exerciam sobre outras. Posteriormente (Plínio 1 d.C.), relata os efeitos de *Juglans nigra* e *J. regia*, que reduzem o desenvolvimento das plantas cultivadas em suas proximidades.(Vyvyan,2001). Culpeper (1633), Brownw (1658), Young (1804), De Candolle (1832) e Beobachter (1845), citados por Rice (1984) também relataram a capacidade que certas espécies de plantas possuem de interferir na fisiologia de outras espécies de plantas.

Molish usou pela primeira vez o termo alelopatia, em 1937, num trabalho intitulado “Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathic” (A influência de uma planta sobre outra- Alelopatia), segundo Rice 1987, citado por Yunes 2001.

## 2.2 CONCEITO

Molish (1937), citado por Almeida (1988) relata que as interações que ocorrem entre as plantas e o ecossistema podem prejudicar ou mesmo beneficiar outra espécie, onde os compostos emitidos por tais espécies são uma forma de adaptação ao meio externo.

Em 1975 Stewart, segundo Yunes (2001) definiu alelopatia como a inibição da germinação, crescimento ou metabolismo de uma planta em função da liberação de substâncias químicas orgânicas por outra planta. E em 1996 a IAS ampliou esse conceito a microorganismos, vírus e fungos que liberem constituintes químicos com capacidade de intervir em sistemas agrícolas e biológicos.(Yunes,2001)

Várias definições de alelopatia podem ser introduzidas dependendo das condições de trabalho. Como exemplo, tem-se o estudo de Inderjit e Dakshini K.(1994), intitulado “Algal allelopathy” citado por Bastida (2008), onde observou-se o efeito de alomonas em sistemas aquáticos. Percebeu-se que alomonas geradas por algas são capazes de afetar: 1) algas vizinhas;2) seu próprio crescimento;3) associação de micróbios;4) plantas superiores vizinhas e 5) o acúmulo e disponibilidade de nutrientes, os quais influem na distribuição crescimento e estabelecimento de outras algas, microorganismos e plantas. Essa definição é precisa e detalhada para um sistema aquático.

O efeito alelopático pode ocorrer também entre plantas da mesma espécie, causando uma toxicidade intraespecífica ou autotoxicidade. Han (2008) relata que na

China as províncias de Shandong, Zhijiang, Guangdong e Sichuan tiveram problemas de autotoxicidade nas principais produções de gengibre, ocasionados por plantações consecutivas. Efeitos de autointoxicação também foram encontrados em culturas de pepino, que ocorreram pela liberação dos ácidos benzóico (Figura 4a) e cinâmico (Figura 4b) através das raízes.(Ding,2007) Tal efeito pode ser confundido com a competição entre espécies, no entanto, tratam-se de fenômenos distintos. A competição ocorre pela retirada ou mesmo redução de fatores como, água, nutrientes e luz do meio ambiente. Enquanto que na alelopatia tem-se a introdução de novos fatores no meio ambiente, os metabólitos secundários. (Einhellig,1995).

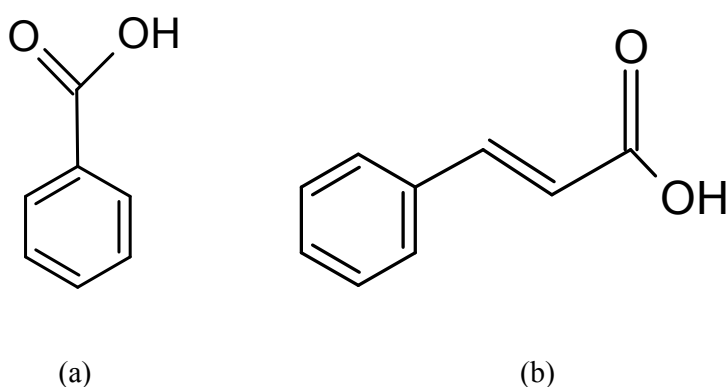


Figura 4: (a) ácido benzóico; (b) ácido cinâmico

Os processos de evolução, competição e alelopatia são fatores importantes na determinação da diversidade de espécies. (Chou,1999)

### 2.3 NATUREZA DOS COMPOSTOS ALELOPÁTICOS

Em virtude do stress ocasionado nas plantas por fatores diversos, como herbívoros e patógenos, capacidades de adaptação foram desenvolvidas pelas espécies, entre elas mecanismos de defesa químicos, os aleloquímicos, provenientes do metabolismo secundário.

Esses compostos são responsáveis pela transmissão de informação entre plantas vizinhas e incluem interações planta-planta, planta-insetos e planta-microorganismos. (Bogatek,2006) Os aleloquímicos podem ser encontrados em qualquer parte da planta,

em geral são metabólitos secundários derivados da rota acetato ou chiquimiato, ou mesmo das duas rotas.(Buchanan, 2001) Na maioria dos casos eles afetam o crescimento e desenvolvimento de outras espécies biológicas. (Einhellig,1995) No entanto, outros compostos podem estimular o processo de crescimento. (Amoo,2007) Apesar de serem comuns em fungos, bactérias e artrópodos, é nas plantas que os produtos secundários são encontrados em maior quantidade.(Buchanan,2001)

De acordo com Amoo(2007), a síntese não é realizada por grupos especiais de células, e tais compostos não se distribuem igualmente por todo organismo, pode ser influenciada por fatores edáficos, climáticos (Putman & Duke,1978) e até mesmo sanidade. A seguir encontra-se uma rota simplificada do metabolismo secundário e suas interligações.



Figura 5: Vias do metabolismo secundário e suas interligações

Fonte: <http://www.geocities.com/esabio.geo/interacao/metabolitos.htm> acesso em:20/05/2009

A principal função dos metabólitos secundários é de proteção dos organismos que as produzem, porém, uma mesma substância pode desempenhar diversas funções dependendo da concentração em que se encontra. De modo que um composto tóxico para determinada espécie pode ser inócuo para outra. (Putnam & Duke, 1978)

Alguns aleloquímicos podem atuar na defesa de pragas como repelentes ou mesmo atraírem insetos, pois, alguns podem ser tóxicos aos insetos que os ingerem.

Os metabólitos secundários ou produtos originários do metabolismo secundário são divididos em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides. (Simões, 2000) No entanto, ácidos orgânicos como o málico (Figura 6a), encontrados em diversas frutas, como a pêra e a maçã, e o cítrico (Figura 6b), encontrado no limão e na laranja, atuam como inibidores da germinação de sementes, assim como, aldeídos encontrados em espécies de sorgo (*Sorghum bicolor*), como p-hidroxibenzaldeído (Figura 6d). Os ácidos aromáticos, como o ácido cinâmico (Figura 4b) encontrado no trigo (*Triticum aestivum*), milho (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*) e aveia (*Avena sativa* L), também atuam como aleloquímicos. As lactonas simples insaturadas, também são inibidores de germinação de sementes, como exemplo, o ácido parasórbico (Figura 6c), encontrado em diversas frutas e responsável pela inibição da germinação de semente do mentruz (*Lepidium* sp.). E alguns esteróides, atuam como antimicrobianos, como a digitoxigenina (figura 6e). (Almeida, 1988) Os policetídeos também constituem uma grande classe de metabólitos secundários, apresentando uma das maiores diversidades estruturais entre os produtos naturais e a maioria desses compostos é ativa em diversos sistemas biológicos. Um exemplo de policetídeo bioativo é a citrinina (Figura 6f), que mostrou importante atividade inibitória no crescimento de *Leishmania mexicana*. (Pastre, 2007)

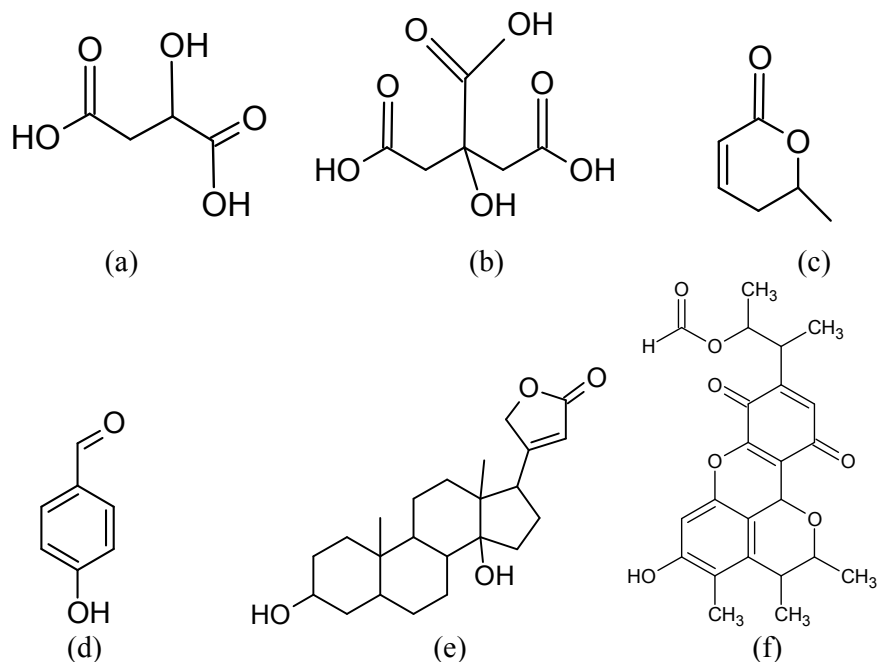


Figura 6: (a) ácido málico; (b) ácido cítrico; (c) ácido parasórbico; (d) p-hidroxibenzaldeído; (e) digitoxigenina; (f) citrinina

## Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos de alguns vegetais são usados para inibir o crescimento de determinadas plantas, como exemplo, quercetina (Figura 7a) e quercetina-3-O- $\beta$ -D-glicosídeo (Figura 7b), que são flavonóides encontrados em *Adiantum tetraphyllum*, espécie responsável pela inibição da germinação de *Lactuca sativa* cv (alface). (Melos,2007)

Os flavonóides são compostos fenólicos quase ausentes em fungos e algas, que estão envolvidos especialmente na sinalização entre plantas e outros organismos e na proteção contra raios ultravioleta. O processo de sinalização entre plantas consiste basicamente na relação entre os vegetais e seus polinizadores, como a coloração das flores, por exemplo. Encontramos também os taninos que se ligam a proteínas digestivas dos insetos, auxiliando na defesa de pragas.(Peres,2005)

Também na classe de compostos fenólicos encontramos os isoflavonóides também conhecidos como compostos com ação antipatógena ou inseticida.(Batish,2008)

Povh (2007) atribui a inibição da germinação de alface pelo extrato aquoso das folhas de *Machaerium acutifolium*, à presença de diversos compostos fenólicos presentes na espécie.

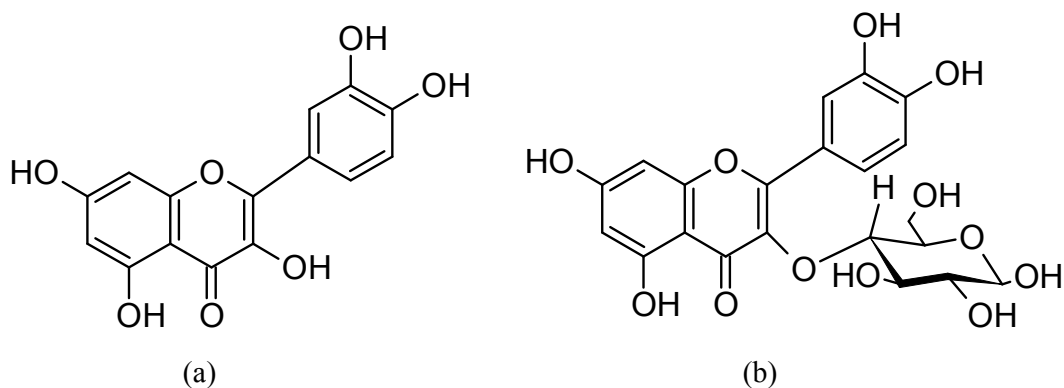


Figura 7: (a) estrutura da quercetina; (b) estrutura da quercetina-3-O- $\beta$ -D-glicosídeo

## Terpenos

Os monoterpenos, por seu baixo peso molecular costumam ser chamados óleos essenciais ou essências. Mas, nem todos os óleos essenciais são terpenóides, alguns podem ser compostos fenólicos. Os sesquiterpenóides voláteis, como os monoterpenos, são responsáveis pela defesa contra pragas e doenças. O gossipol (Figura 8), está associado à resistência a algumas pragas em variedades de algodão. (Peres,2005)

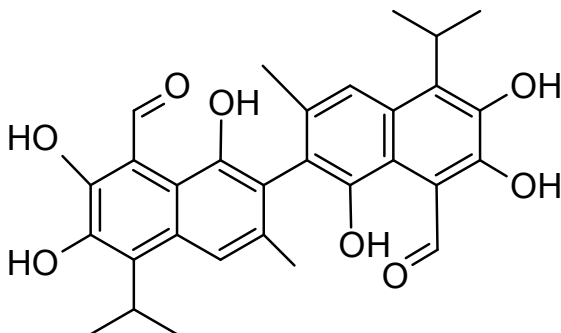


Figura 8: gossipol

Quanto aos diterpenos, sua função principal está relacionada à germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão dos frutos de muitas espécies vegetais.

Entre os triterpenos encontramos os esteróides, que são uma classe importante na composição dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteróides em mamíferos, plantas e insetos. (Peres,2005)

As saponinas possuem uma parte solúvel (glicose) e outra lipossolúvel (triterpeno). Elas desempenham um importante papel na defesa das plantas, já que, podem formar complexos com esteróides dos fungos. (Simões,2000)

Os tetraterpenos são importantes na fotossíntese, além de serem antioxidantes e dissipadores de radicais livres gerados pela fotossíntese. (Buchanan,2001)

## Alcalóides

Em algumas espécies os alcalóides possuem função de defesa contra herbívoros, podendo ser usados como inseticidas naturais. De acordo com Yunes (2001), os alcalóides são metabólitos secundários que derivam da rota acetato ou chiquimiato, ou seus esqueletos químicos vêm da combinação destas duas origens.

Segundo Menjívar (2001), citado por Celis (2008), hortaliças como tomate (*Lycopersicon esculentum*) e berinjela (*Solanum melongena* L.), produzem alcalóides como a solanina (Figura 9a) e a atropina (Figura 9b), que apresentam efeito inseticida, no entanto, algumas espécies têm desenvolvido tolerância a estas toxinas.

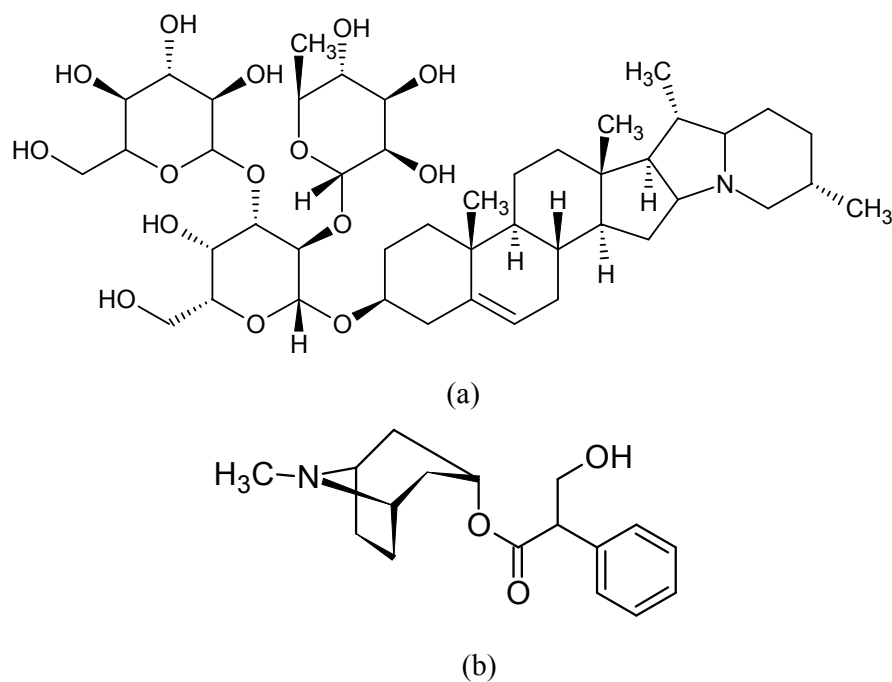


Figura 9: (a) solanina; (b) atropina

Einhellig (1995) mostra diversidade de aleloquímicos que a alelopatia implica, na ilustração a seguir:





Figura 10: Aleloquímicos e principais classes funcionais

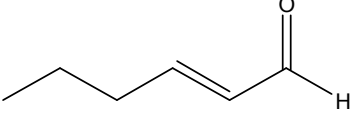
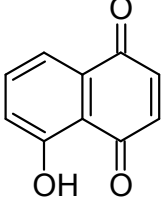
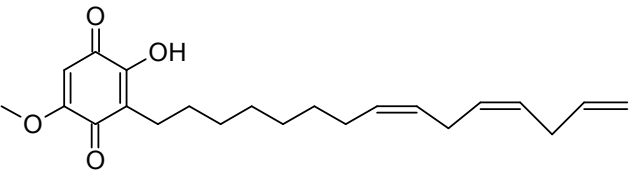
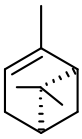
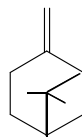
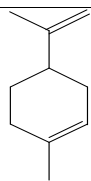
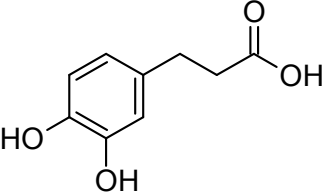
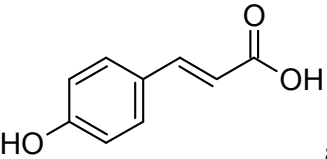
Fonte: Adaptação (Einhellig, 1995)

São conhecidos cerca de dez mil metabólitos secundários com ação alelopática, o que é um número relativamente pequeno considerando-se que foram identificados apenas os componentes principais em cada classe estrutural e em algumas espécies. (Almeida, 1988)

Geralmente a concentração do metabólito é baixa, assim, o efeito pode ocorrer pela interação entre essas substâncias, sendo que, efeitos ambientais também podem interferir no resultado final. E a concentração desses compostos pode variar de uma espécie para outra. (Reigosa, 1999)

A seguir encontram-se alguns aleloquímicos e sua respectiva fórmula estrutural.

**Quadro 1: Substâncias com atitude aleloquímica e suas fórmulas estruturais**

Atitude Aleloquímica	Fórmula estrutural
(E)-2-hexanal, inibe a germinação de tomate.	
As quinonas, como a sorgoleona e a juglona afetam a produção de ATP	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 20px;">  <div style="margin-left: 10px;">Juglona</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;">  </div> <div style="margin-top: 10px;">Sorgoleona</div> </div>
Certos terpenos como o $\alpha$ -pineno, o $\beta$ -pineno e o limoneno inibem o crescimento.	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><math>\alpha</math>-pineno</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><math>\beta</math>-pineno</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>limoneno</p> </div> </div>
Os ácidos ferúlico e p-cumárico ou afetam a germinação da canola.	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 20px;">  <div style="margin-left: 20px;">ácido ferúlico</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;">ácido p-cumárico</div> </div> </div>

Fonte, Yunes (2001)

## 2.4 MECANISMO DE LIBERAÇÃO DOS ALELOQUÍMICOS

De acordo com Medeiros (1990) citado por Muller (2007), as principais vias de liberação de substâncias metabólicas potencialmente envolvidas na alelopatia, são: decomposição, exsudação de metabólitos pelas raízes, lixiviação e volatilização. Por exemplo, espécies de pteridófitas exercem domínio em suas áreas de crescimento, por processos de associações nas quais poucas espécies coexistem.

Entende-se que de acordo com os mecanismos de liberação dos aleloquímicos no ambiente, estes podem encontrar-se em qualquer parte da planta e sua atividade constitui uma função do mecanismo em que este pode ser liberado. Como exemplo, a decomposição de resíduos vegetais implica em uma função não ativa na planta, como nos processos de exsudação e volatilização, que são extremamente ativos, já que, envolvem tecido vivo da planta.(Bastida,2008)

Os principais métodos de liberação são:

► Exsudação: processo no qual as plantas exsudam naturalmente pelas raízes uma série de compostos orgânicos e inorgânicos, alguns dos quais possuem propriedades alelopáticas, onde composição e concentração podem variar de acordo com a espécie ou mesmo idade desta. No entanto, Alves (1992) relata que é difícil identificar quais substâncias encontradas no solo são provenientes de processos alelopáticos e quais se devem a ação de microorganismos associados à raiz ou mesmo resultado da decomposição de resíduos orgânicos. Putnam relata que a exsudação pode ocorrer pelos frutos ou mesmo raiz. (Putnam,1983) Entre esses compostos podem ser citados o ácido oxálico, a amidalina, a cumarina e o ácido transcinâmico. (Alves,1992)

Ciarka *et. al*(2004) citado por Bogatek *et. al.* (2006) observou a redução na germinação de sementes de mostarda provocada pela exsudação de raízes de *Helianthus annuus* L., onde tal fato foi atribuído a presença de compostos fenólicos.

► Lixiviação: entende-se por lixiviação a remoção das substâncias químicas das plantas vivas ou mortas por ação da água, o que na natureza se processa através de chuva, orvalho, neblina (Tukey,1970 citado por Alves,1992) A quantidade de lixiviados depende da espécie, composição, idade do tecido vegetal, condições edafoclimáticas e quando material morto, do estado de decomposição, tipo, temperatura e umidade do solo.(Almeida,1988). Os lixiviados contêm substâncias orgânicas e inorgânicas, como alcalóides, terpenóides, ácidos orgânicos e fenólicos. A atividade destes é comumente

transitória, já que estão sujeitos a microorganismos. Devem ser levadas em consideração toxinas produzidas por microorganismos. (Putnam,1983)

►Decomposição: esses compostos são liberados após a morte da planta ou de seus órgãos. A perda de integridade da membrana pela decomposição permite a liberação de vários compostos que podem ser tóxicos de maneira aditiva ou sinérgica à dos lixiviados. Em adição à liberação direta de compostos dos tecidos da planta, microorganismos presentes na rizosfera podem induzir a produção de compostos tóxicos por degradação enzimática dos conjugados ou polímeros presentes nos tecidos (Putnam,1986,citado por Alves,1992). Esse tipo de processo permite a liberação de um grande número de compostos que impõem toxicidade aos organismos vizinhos, tais como os glicosídeos cianogênicos, ácidos fenólicos, agropireno, cumarinas e flavonóides.(Almeida,2008)

►Volatilização: esse processo é comum em plantas aromáticas, porém, isso não implica que todos os produtos volatilizados pela espécie sejam aleloquímicos. (Muller 1966) A maior parte dos aleloquímicos voláteis são terpenóides, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos. (Einhellig,1986) Esses compostos atuam sobre as plantas vizinhas por meio dos próprios vapores ou condensados no orvalho, ou ainda podem alcançar o solo e são absorvidos pelas raízes.(Almeida, 2008)

Karban (2007) realizou um experimento com *Artemisia Tridentata*, onde observou que plantas vizinhas à *Artemisia Tridentata* apresentavam redução acentuada em seu tamanho, algumas até 40 cm. Em experimentos de laboratório atribui tal redução a compostos voláteis entre eles cânfora, monoterpenos, cineol e metil jasmonato.

A liberação desses compostos pode ser direta ou indireta, nos aleloquímicos lixiviados e volatilizados a transferência ocorre de maneira direta pela absorção através da epiderme foliar ou pelas raízes. Nos lixiviados e volatilizados a transferência pode ocorrer de maneira indireta, pela atividade microbiana do solo. Os aleloquímicos exsudados e provenientes de decomposição ao contrário dos demais são preferencialmente liberados por ação indireta, pela atividade e metabolismo microbiano, porém, o contato entre raízes (direto) também possa ser uma forma de transferência. (Einhellig,1986)

A seguir encontra-se um esquema de liberação desses compostos:



Figura 11: Formas de liberação dos aleloquímicos

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

De acordo com Almeida (2008) a maioria das plantas são potencialmente capazes de sintetizar compostos alelopáticos, embora as espécies cultivadas e suas variedades comerciais tenham perdido grande parte dessa capacidade. Esta 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 e patógenos (Bansal e Bhan, 1993).

A produção de aleloquímicos pode variar em qualidade e quantidade de espécie para espécie, 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 e Áquila, 2000, citado por Almeida 2008). De acordo com Einhellig e Leather (1988), a natureza e a quantidade de substâncias alelopáticas diferem com a espécie, a idade do órgão da planta, a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de nutrientes, a atividade microbiana da rizosfera e a composição dos solos em que se encontram as raízes. (Almeida, 2008)

Todas as partes das plantas podem conter compostos alelopáticos, sendo estes 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. (Weston, citado por Almeida, 2008)

## 2.5 FATORES QUE ALTERAM A LIBERAÇÃO DOS ALELOQUÍMICOS

Fatores ambientais como stress, podem afetar a produção e concentração de compostos alelopáticos na planta. Outros fatores que afetam esse processo são descritos a seguir:

►Luz: a qualidade, intensidade e duração da luz são reguladores na síntese de substâncias alelopáticas. A luz ultravioleta potencializa a produção de tais compostos como foi observado no tabaco com ácido clorogênico, no girassol com a escopolina e ácido clorgênico.(Putnam,1985) Plantas de tabaco expostas a luz vermelha produziram mais alcalóides e menos fenóis que outras expostas ao vermelho distante (Tso, et aliii,1970,citado por Alves,1992) De acordo com Rice (1974) dias mais longos podem aumentar o conteúdo de ácidos fenólicos e terpenos em diversas plantas.

►Água: por tratar-se de uma substância altamente reativa e de extrema importância aos processos biológicos e estar envolvida no balanço nutricional, o estresse hídrico, isolado ou combinado a outros tipos de stress pode levar ao aumento na concentração dos ácidos clorogênico e isoclorogênico em plantas. (Chou,1999)

►Temperatura: temperaturas elevadas tendem a aumentar o efeito inibitório (Browmik & Dooll,1983,citado por Alves,1992) e acentuar sua volatilização. Rice (1974) relata que alterações na temperatura influenciam a produção e mesmo liberação de aleloquímicos.

►Nutrição mineral: o balanço nutricional é capaz de alterar a produção de aleloquímicos, visto que, deficiências em boro, cálcio, magnésio, nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre aumentam a concentração de ácido clorogênico. (Rice,1974)

►Outros fatores que podem influenciar a liberação e produção de aleloquímicos: aplicação de herbicidas, idade dos tecidos da planta e tipo de solo.(Corrêa,2008)

## 2.6 ATUAÇÃO DOS ALELOQUÍMICOS

Quando liberados no meio ambiente os aleloquímicos entram em contato com as plantas receptoras através de um mecanismo sutil e difícil de determinar corretamente,

devido aos sintomas produzidos pelas plantas. Esses fatores são freqüentemente secundários na natureza e influenciam processos fisiológicos e biológicos. Reconhece-se que os aleloquímicos podem afetar as seguintes funções: absorção de nutrientes, regulação do crescimento, fotossíntese, respiração, permeabilidade da membrana, síntese protéica e atividade enzimática. (Yunes,2001)

Descrição de tais funções:

► Assimilação de nutrientes: alguns compostos podem inibir a assimilação de nutrientes, esse fator normalmente encontra-se associado à deficiência de outras funções, como respiração e permeabilidade da membrana. Os ácidos fenólicos são comumente mencionados como responsáveis pela absorção de micro e macro nutrientes. O ácido salicílico em pH baixo é capaz de reduzir o teor de ATP (trifosfato de adenosina) nos tecidos das raízes, despolariza o potencial elétrico da membrana citoplasmática ao mesmo tempo em que aumenta a permeabilidade da mesma aos íons. Verificou-se que na aveia a presença desse ácido inibe a absorção radicular de potássio. O ácido ferúlico, outro fenol, é responsável pela redução de íons por roseiras. Já os flavonóides são considerados mais ativos que os fenóis, como a juglona, que inibe a assimilação de potássio e a atividade da ATP-oxidase. (Almeida,1988)

► Crescimento: compostos alelopáticos como o ácido giberélico e o ácido indolacético podem afetar hormônios de crescimento. Alguns taninos inibem a ação das giberelinas nas plântulas de ervilha, assim como a cumarina, ácido cinâmico e outros compostos fenólicos são capazes de fazer o mesmo em outras espécies. (Buchanan,2001)

► Fotossíntese: Algumas substâncias alelopáticas são capazes de afetar o transporte de elétrons e a fosforilação nos cloroplastos de maneira semelhante a alguns herbicidas inibidores da fotossíntese. Ácidos fenólicos podem reduzir a fotossíntese e o teor de clorofila na soja, escopoletina (cumarina) reduz a fotossíntese no tabaco, girassol e caruru. Polifenóis que reduzem a produção de 2,6-diclorofenol-indofenol no escuro inibem as reações fotoquímicas em cloroplastos. E a juglona, mesmo em concentração reduzida diminui o processo de fosforilação oxidativa nas plantas. (Einhellig 1995)

► Respiração: alguns compostos são capazes de inibir a respiração radicular, mas, os fenóis podem aumentar a capacidade de assimilação de oxigênio. As lactonas são capazes de acelerar a respiração de espécies, como o trigo. Terpenos voláteis de *Salvia* sp. impedem o processo de respiração nos mitocôndrios da aveia e abóbora. (Carmo,2007)

► Síntese de proteínas: os ácidos ferúlicos e cumarinas podem impedir a incorporação de carbono nas proteínas da semente e embriões de rosas e as quinonas nas das algas. Fator que altera o crescimento dos tecidos das plantas. (Ducca, 2008)

► Permeabilidade da parede celular: a permeabilidade iônica da membrana citoplasmática pode ser alterada por compostos alelopáticos, o ácido salicílico provoca perdas de  $K^+$  do plasmalema e do tonoplasto, ácidos fenólicos provocam perdas de  $K^+$  dos tecidos das raízes das plantas. Extratos das folhas de *Tilia cordata* e *Albizia julibrissin* reduzem a atividade bioelétrica nas plântulas de trigo. (Carmo, 2007)

► Atividade enzimática: aleloquímicos como os ácidos clorogênico e cafeico impedem a fosforilase na batata, e taninos podem impedir a peroxidase, catalase, celulase, amilase e diversas outras enzimas em demais plantas. (Einhellig, 1995)

A alelopatia pode ser usada como uma forma de ação herbicida devido à atividade alelopática e toxicidade de determinados compostos a plantas e microorganismos. (Einhellig, 1995)

Reigoza *et. al.* (1999), segundo Blum, 1998/Rice, 1984, relata que os microorganismos do solo também podem ser afetados por aleloquímicos.

## 2.7 HERBICIDAS SINTÉTICOS

Os herbicidas são produtos químicos capazes de inibir ou interromper o crescimento e desenvolvimento das espécies sensíveis a estes. Para que um herbicida seja eficaz deve apresentar os seguintes requisitos: A) entrar em contato com o mal que se deseja controlar; B) ser absorvido pela espécie que se deseja controlar; C) desprezar o sítio de ação da espécie sem ser desativado; D) acumular-se em níveis suficientemente tóxicos nos sítios de ação. (Kogan, 2003)

De acordo Ferreira (2009) a atividade biológica dos herbicidas ocorre de acordo com sua absorção, metabolismo e a sensibilidade da planta a este herbicida e, ou, a seus metabólitos. Assim, fato de um herbicida atingir as folhas e, ou, ser aplicado no solo não é suficiente para que ele exerça a sua ação. Há necessidade de que ele penetre na planta e atinja a organela onde irá atuar.



Um mesmo herbicida pode influenciar vários processos metabólicos na planta, entretanto a primeira lesão biofísica ou bioquímica que ele causa na planta é quem caracteriza como o seu mecanismo de ação. A seqüência de todas as reações até a ação final do produto na planta caracteriza o seu modo de ação. (Ferreira,2009)

É importante conhecer modo e mecanismo de ação do herbicida em questão, para prática adequada de defesa. Sendo que, herbicidas com mesmo modo de ação possuem um mesmo tipo de movimento na planta e seus danos são similares.

Os mecanismos de ação dos herbicidas referem-se ao sítio bioquímico em que ele inibe diretamente. Muitos herbicidas não têm um sítio de ação específico e podem sofrer processos metabólicos não específicos. De modo geral quando diferentes sítios de ação são afetados pelo herbicida ocorre à morte da espécie sensível. (Ferreira,2009)

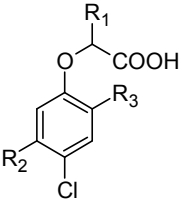
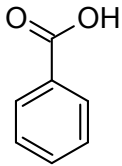
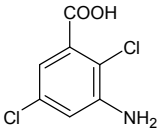
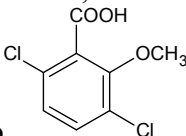
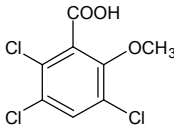
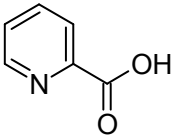
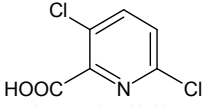
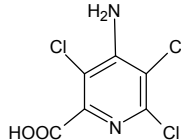
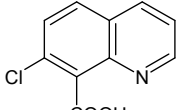
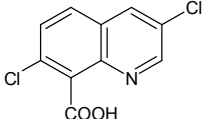
Alguns herbicidas possuem sítio de ação específico, assim, a morte da espécie ocorre bruscamente. (Kogan,2003)

Os herbicidas podem ser classificados como:

► Reguladores de crescimento: esse grupo de herbicidas apresenta derivados do clorofenóxi: acéticos, propiônicos e butíricos, assim como derivados do ácido benzóico, derivados do ácido picolínico, derivados do ácido quinolín-carboxílico e compostos auxínicos, ao serem absorvidos agem acumulando-se em regiões de crescimento ativo como órgãos em crescimento e meristemas. (Kogan,2003)

A seguir encontram-se algumas estruturas de compostos reguladores de crescimento:

**Quadro 2 : Herbicidas reguladores de crescimento**

<p>Derivados clorofenóxidos</p>	
<p>Derivados do ácido benzóico</p>  <p>ácido benzóico</p>	 <p>ácido 3-amino-2,5-</p>  <p>diclorobenzóico Dicamba</p>  <p>Tricamba</p>
<p>Derivados do ácido picolínico (piridinas)</p>  <p>ácido picolínico</p>	 <p>Cloropiraldina</p>  <p>Picloram</p>
<p>Derivados do ácido quinolino-</p>  <p>carboxílico carboxílico</p> <p>ácido quinolino-</p>	 <p>Quinclorac</p>

Fonte: Adaptado (Kogan,2003)

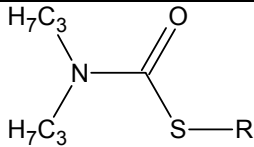
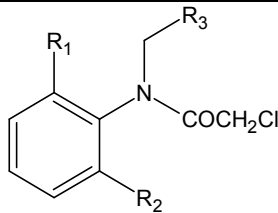
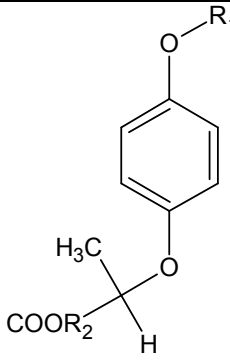
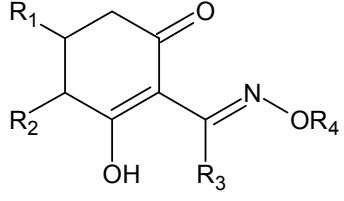
De acordo com Ferreira (Embrapa,2009) esses compostos são classificados como herbicidas auxínicos ou mimetizadores de auxina, esses produtos afetam o metabolismo de ácidos nucléicos e os aspectos metabólicos da plasticidade da parede celular.

De acordo com Ferreira (Embrapa,2009) a seletividade depende do arranjo do tecido vascular, sensibilidade da planta e estágio de desenvolvimento. Sendo que tais compostos são frequentemente usados em culturas de arroz, trigo e milho.

► Inibidores da biossíntese de lipídios: tais compostos promovem a inibição da ACCase, aumentando a permeabilidade de membrana, redução no crescimento e alterações estruturais. (Ferreira,2009)

A seguir encontram-se estruturas destes grupos:

**Quadro 3 : Herbicidas inibidores de biossíntese**

Tiocarbamatos	
Cloracetamidas	
Arioxi-fenoxipropionatos	
Ciclohexanodionas	

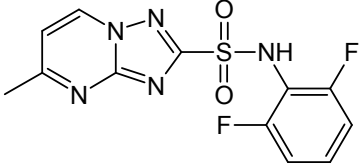
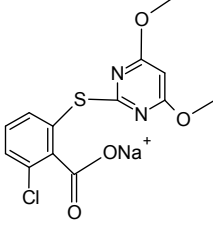
Fonte: Adaptado mecanismos de ação dos herbicidas (Kogan,2003)

► Inibidores da biossíntese de aminoácidos: conhece-se que a maioria das enzimas são codificadas no núcleo, sintetizadas no citoplasma e transferidas ao cloroplasto onde utilizam os esqueletos de carbono originas pela fotossíntese na síntese de aminoácidos, sendo que a maioria destes são intermediários da glicose no ciclo de

Krebs. Determinado grupo de herbicidas são capazes de inibir tal função através de enzimas específicas. (Kruse,2006)

Algumas estruturas desses compostos são encontradas a seguir:

**Quadro 4 : Herbicidas inibidores de aminoácidos**

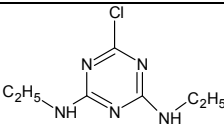
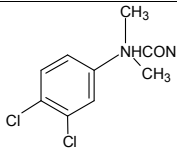
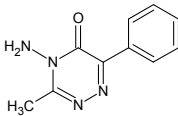
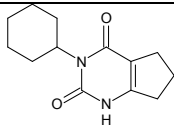
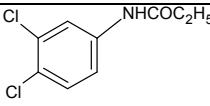
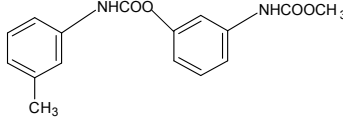
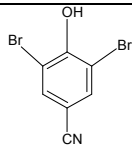
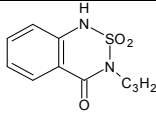
Triazolpirimidinas	 <p>Flumetsulam</p>
Pirimidiniltiobenzoatos	 <p>Piritiobac-sódio</p>

Fonte: Adaptado mecanismos de ação dos herbicidas (Kogan,2003)

► Inibidores de fotossíntese: as triazinas, uréias substituídas, uracilos, amidas, fenilcarbamatos, benzotiadiazinomas, benzonitrilos, piridazinonas e fenilpiridazinonas, são grupos que inibem a fotossíntese nas plantas, processo importante através do qual as espécies convertem energia solar em energia química, que é utilizada na redução de dióxido de carbono a carboidratos. (Kogan,2003)

A seguir encontram-se algumas dessas estruturas:

**Quadro 5: Herbicidas inibidores de fotossíntese**

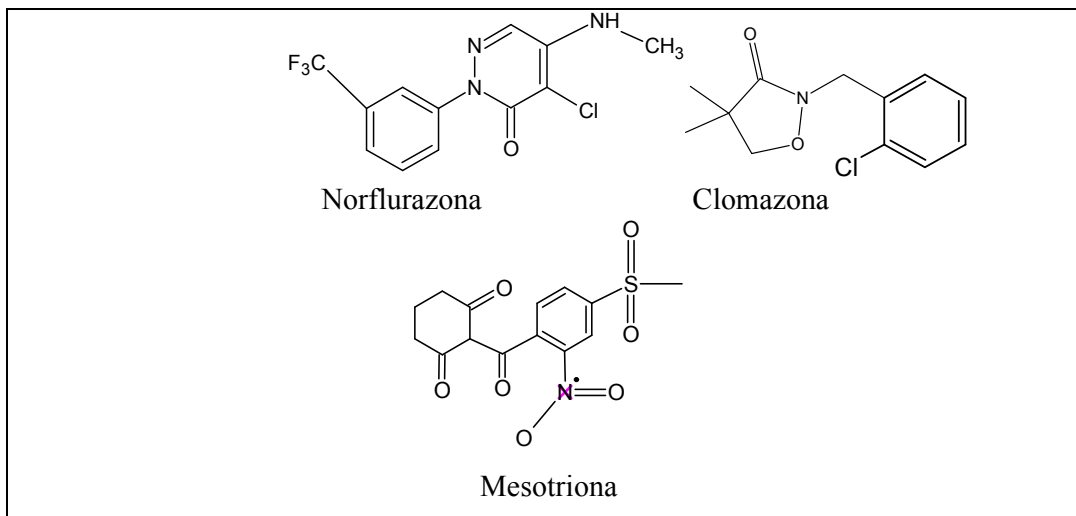
Triazinas	 <p>Simazina</p>
Uréias substituídas	 <p>Diuron</p>
Triazinonas	 <p>Metamitron</p>
Uracilos	 <p>Lenacil</p>
Amidas	 <p>Propanil</p>
Fenilcarbamatos	 <p>Femedifan</p>
Benzonitrilas	 <p>Bromoxinil</p>
Benzotiadiazinonas	 <p>Bentazona</p>

Fonte: Adaptado mecanismos de ação dos herbicidas (Kogan,2003)

► Inibidores de biossíntese de pigmentos: vários grupos de herbicidas atuam como inibidores da biossíntese de carotenóides são eles: piridazinonas, piridinacarboxamidas, isoxazolidinas, pirrolidonas, triazole e tricetonas. Tais compostos

caracterizam-se por inibir a síntese de carotenóides e ao fazerem tal processo os radicais livres agem como fatores que iniciam a peroxidação de lipídios. As espécies que recebem tais compostos perdem a coloração e têm por consequência, fotossíntese afetada. (Kogan,2003) Algumas estruturas desses compostos são encontradas a seguir:

#### Quadro 6 : Herbicidas inibidores da biossíntese de pigmentos

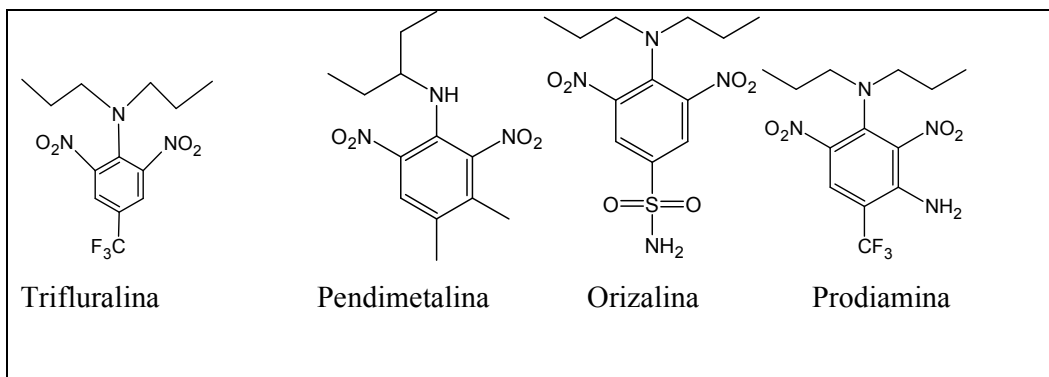


Fonte: Adaptado mecanismos de ação dos herbicidas (Kogan,2003)

► Inibidores do arranjo dos microtúbulos pertencem ao grupo das dinitroanilinas (trifluralina, pendimetalina e orizalina): esses compostos interferem na síntese do DNA e na seqüência mitótica. (Machado,2006)

Algumas estruturas destes encontram-se a seguir:

#### Quadro 7: Herbicidas disruptores mitóticos



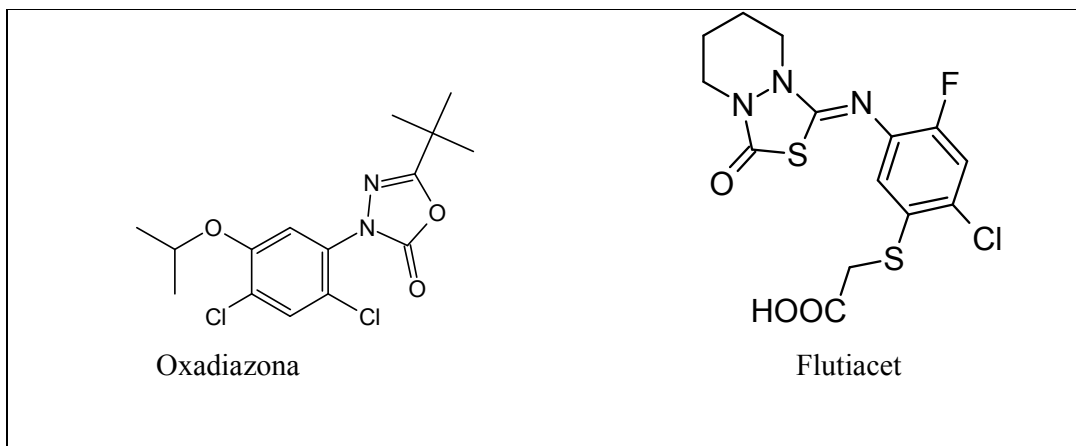
Fonte: Mecanismos de ação dos herbicidas (Kogan,2003)

► Herbicidas inibidores da protox (enzima protoporfirinogênio oxidase): são eles: acifluorfen, fomesafen, lactofen, oxifluorfen, flumiclorac, flumioxazina,

oxadiazona, sulfentrazona, azafenidina, entre outros. Com a inibição da protox, a protoporfirina IX se acumula rapidamente em células de plantas tratadas, causando descontrole na rota metabólica de sua síntese. A consequência do descontrole é o aumento rápido do protoporfirinogênio IX, a sua saída para o citoplasma na forma protoporfirina IX, que, na presença de luz e oxigênio, produz a forma reativa do oxigênio, com consequente peroxidação dos lipídios da membrana celular. (Kilinc,2009)

As estruturas de alguns compostos responsáveis por essa inibição são encontradas a seguir:

#### Quadro 8: Herbicidas inibidores da protox



Fonte: Mecanismos de ação dos herbicidas (Kogan,2003)

## 2.8 HERBICIDAS SINTÉTICOS E MEIO AMBIENTE

Os agrotóxicos representam os produtos químicos mais amplamente encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos do mundo todo, em função do amplo uso em áreas agrícolas e urbanas. Eles compreendem uma variedade de moléculas com distintas propriedades que lhes conferem diferentes graus de persistência ambiental, mobilidade e potenciais tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico ou algum efeito endócrino a diversos organismos não-alvos, inclusive o ser humano. (Armas,2007)

Segundo Miranda (2007), os gastos mundiais com agrotóxicos, entre 1983 e 1997, aumentou de 20 para 34 bilhões de dólares por ano e produzem, a cada ano, segundo a OMS, entre três a cinco milhões de pessoas contaminadas. No Brasil, a incorporação de tecnologias baseadas no uso intensivo de produtos químicos é feita sem a implementação de políticas claramente definidas relacionadas à comercialização, transporte, armazenagem, utilização, normas de segurança e conhecimentos dos riscos associados. Assim, nestes países, que são responsáveis por 20% do consumo mundial de agrotóxicos, estão 70% dos casos de intoxicação por estes produtos.

Os mercados importadores realizam o controle e a fiscalização permanente de toda a cadeia produtiva no país exportador, através de programas e legislações específicas. A Comunidade Européia tem sido rigorosa em requisitos de qualidade e sustentabilidade, enfatizando a proteção do meio ambiente, a segurança alimentar, as condições de trabalho, saúde humana e viabilidade econômica. (Rozwalka,2008)

Os danos ao meio ambiente, saúde do homem e exigências do mercado, tornaram necessário a busca por novas técnicas no controle de pragas, o uso de extratos vegetais tornaram-se uma alternativa para esse controle.

## **2.9 BIOERBICIDAS**

Herbicidas sintéticos têm causado resistência em culturas e danos na população e meio ambiente, assim, tornou-se necessário a busca por herbicidas alternativos mais seletivos e menos prejudiciais ao homem e ao meio. (Vyvyan,2001)

As interações alelopáticas podem ajudar a solucionar tais problemas, pois, algumas plantas possuem seu próprio mecanismo de defesa e os aleloquímicos podem ser considerados herbicidas naturais.

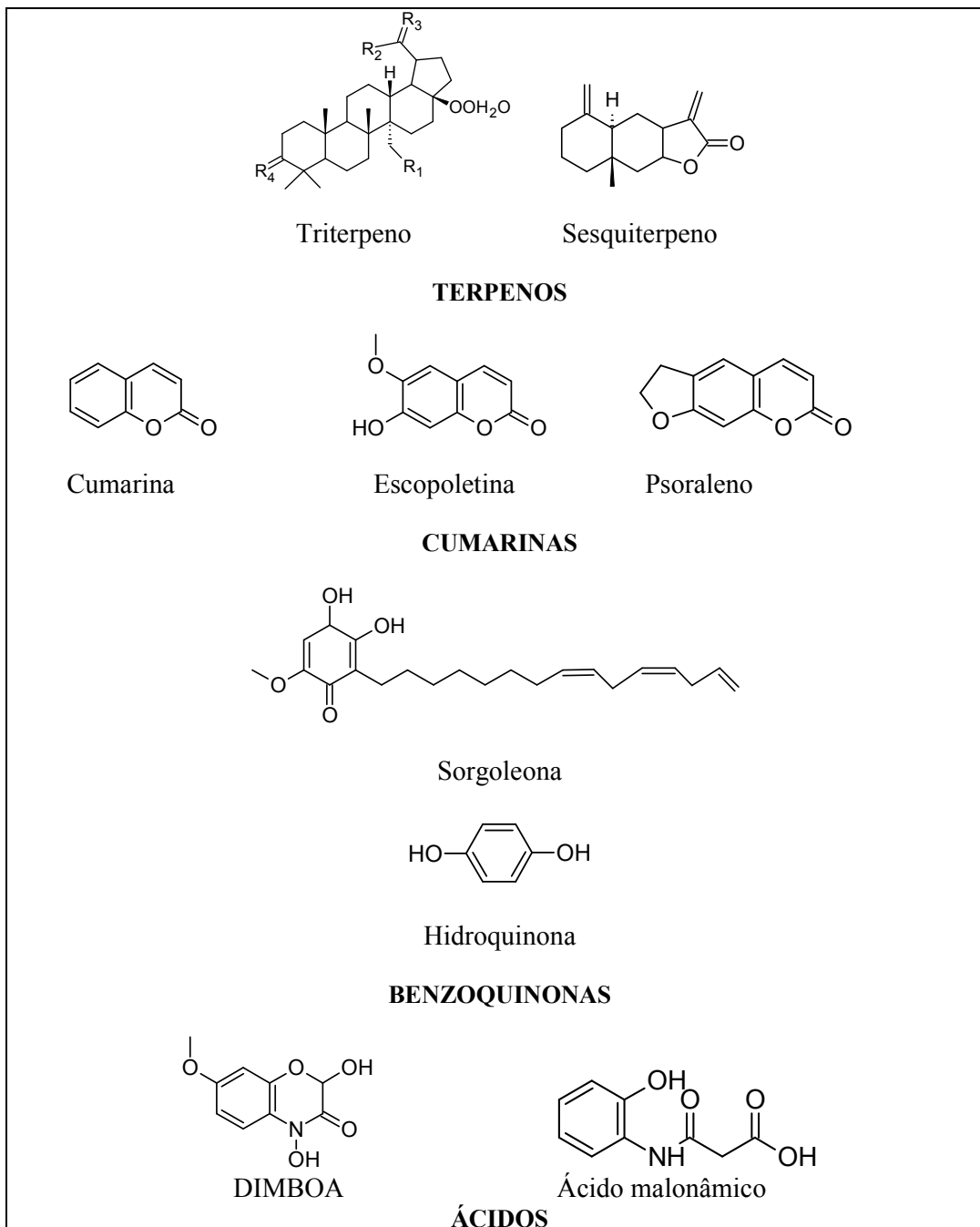
Segundo Bastida (2008), espécies que inibem ou mesmo estimulam a germinação e o crescimento de outras espécies, têm valor significativo na agricultura na busca de herbicidas seletivos, produzindo menor impacto ambiental e resíduos inócuos ao homem.

Há uma grande diversidade de produtos encontrados com tal potencial, e desenvolvimento de herbicidas, onde se encontram os terpenos, cumarinas, benzoquinonas e alcalóides.



Corrêa (2008), relata a inibição da germinação e crescimento de *Lactuca sativa* (alface) por extratos aquosos de *Psychotria leiocarpa* (grandiúva-de-anta), uma planta encontrada nas florestas do sul do Brasil, onde detectou-se a presença de alcalóides e compostos fenólicos.

**Quadro 9 : Estruturas dos metabólitos secundários com propriedades fitotóxicas**

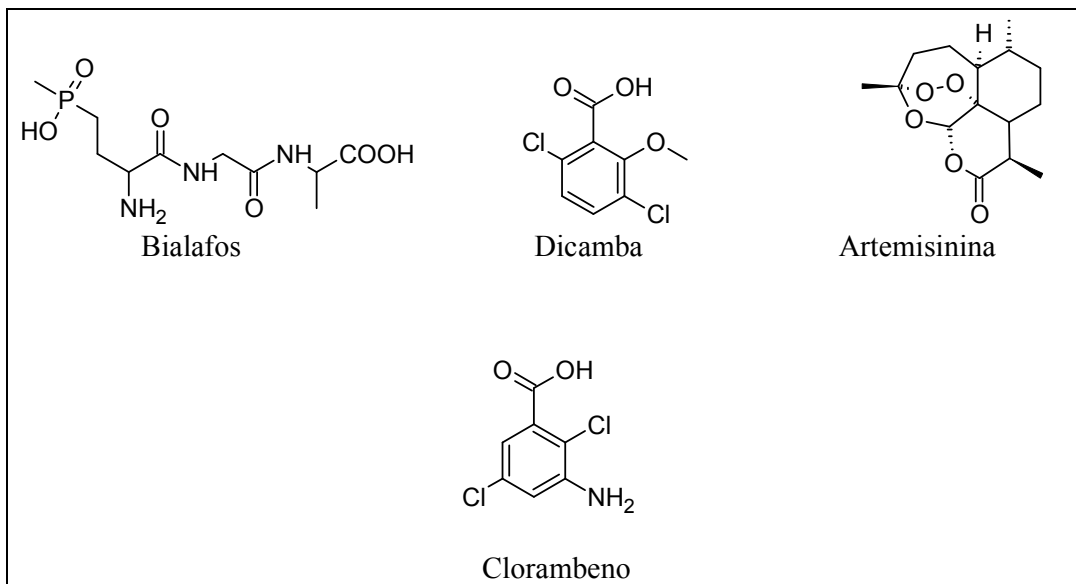


Fonte: Bastida,2008

Herbicidas e agroquímicos naturais são de interesse para a agricultura, pois, são em sua maioria solúveis em água, sendo de fácil dispersão no ambiente. (Bastida,2008)

A seguir encontram-se as estruturas desses compostos que estão sendo explorados como herbicidas comerciais:

#### Quadro 10 : Compostos obtidos de plantas explorados como herbicidas comerciais



Fonte: Bastida,2008

Cinmetilina tem sido aplicada no controle herbicida em curtos períodos de tempo, Bhowmik P. (1988), citado por Bastida (2008). Bialafos é comercializado no Japão com o nome Herbace segundo Klink J. *et. al* (1999), citado por Batida (2008). O Leptospermone, um derivado do óleo essencial de *Leptospermum scoparium*, origina a mesotriona, um herbicida com o nome comercial Callisto, tem sido usado no controle de plantas daninhas resistentes a antrazina. A sulcortiona comercializada pela Bayer CopScience na Europa, com o nome Mikado é usada como herbicida pós emergente em uma variedade de plantas daninhas. (Bastida,2008)

A atuação de aleloquímicos como herbicidas e agroquímicos tem explicação no fato de tais compostos afetarem funções como:

► Inibição de fotossistema II: fitotoxinas presentes em cianobactérias tem sido responsáveis pela inibição do fotossistema II em diversas espécies. (Duke & Abbas,1995),( Hernandez-terrões, 2003)

► Assimilação de nutrientes: os ácidos fenólicos são comumente relacionados à absorção de macro e micronutrientes em diversas espécies. (Rector,2008)

► Divisão celular: *Dicanthium annulatum* stapf., *Cenchrus pennisetiformis* Hochest e *Sorghum halepense* Pers., possuem atividade fitotóxica, devido a presença de aleloquímicos, tais espécies vizinhas a *Parthenium hysterophorus* L, reduziram sua germinação, pois afetaram sua divisão celular. (Javaid,2006)

► Crescimento: várias substâncias alelopáticas afetam hormônios responsáveis pelo crescimento, como ácido giberélico e o ácido indolacético, os taninos inibem a ação das giberelinas nas plântulas de ervilha e a cumarina, ácido cinâmico e compostos fenólicos também possuem essa ação em outras espécies. (Corrêa,2008) O composto Benzoxazolin-2(3H)-ona é uma fitotoxina encontrada em algumas espécies, ao qual atribui-se a inibição do crescimento de outras espécies como a *Lactuca sativa*. (Moreiras,2008)

► Fotossíntese: pesquisas têm mostrado que compostos alelopáticos, podem afetar o transporte de elétrons (Hernandez-Terrones, 2007) e a fosforilação nos cloroplastos de maneira semelhante aos herbicidas inibidores de fotossíntese. Ácidos fenólicos, polifenóis e flavonóides, possuem essa ação. (Enhellig,1993) Sukenik et al.(2002), citado por Prince (2008) relata que compostos encontrados em cianobactérias *Micro-systis* sp., inibem a anidrase carbônica, afetando a fotossíntese.

► Respiração: Flavonóides alteram a produção de ATP no mitocôndrio de diversas plantas, afetando o mecanismo de fosforilação. Alguns compostos fenólicos inibem o desenvolvimento do hipocótilo e o metabolismo do feijão-mungo (*Vigna radiata*). Terpenos voláteis de *Salvia* sp. inibem o processo respiratório nos mitocôndrios da aveia e abóbora. (Almeida,1988)

► Síntese de proteínas: ácidos ferúlicos e cumarinas impedem a incorporação de carbono nas proteínas da semente e embriões de rosas e a as quinonas nas das algas. Tal diminuição na síntese de proteínas reflete no crescimento de tecidos dessas plantas. (Almeida,1988)

► Permeabilidade da parede celular: o ácido salicílico provoca perdas consideráveis de  $K^+$  do plasmalema e do tonoplasto das células e compostos fenólicos aumentam a permeabilidade das membranas neuronais aos íons. (Ding,2007)

► Atividade enzimática: alguns aleloquímicos como ácido clorogênico e o ácido cafeico impedem a fosforilase na batata e alguns taninos podem impedir a ação da peroxidase, da catalase, da celulase, da amilase e diversas outras enzimas. (Almeida, 1988) *Zingiber officinale* Roscoe, uma espécie aromática encontrada no sul da Ásia, inibiu a germinação e crescimento de *Glycine max* L. Merr. e *Allium schoenoprasum* L.

através redução da atividade da lipase, no experimento foram usadas folhas e raízes da espécie *Zingiber officinale* Rosc., o processo foi eficiente em concentração 80 g/L. (Han,2008)

Dias (2006) relata que a pesquisa de metabolitos secundários como fonte de bioherbicidas além de eventuais vantagens ambientais, tem como principal atractivo a possibilidade de aumentar o número ainda relativamente reduzido de locais de acção de herbicidas.

Diversos estudos têm mostrado eficiência na aplicação de extratos e inibição ou mesmo redução na velocidade de germinação de espécies.

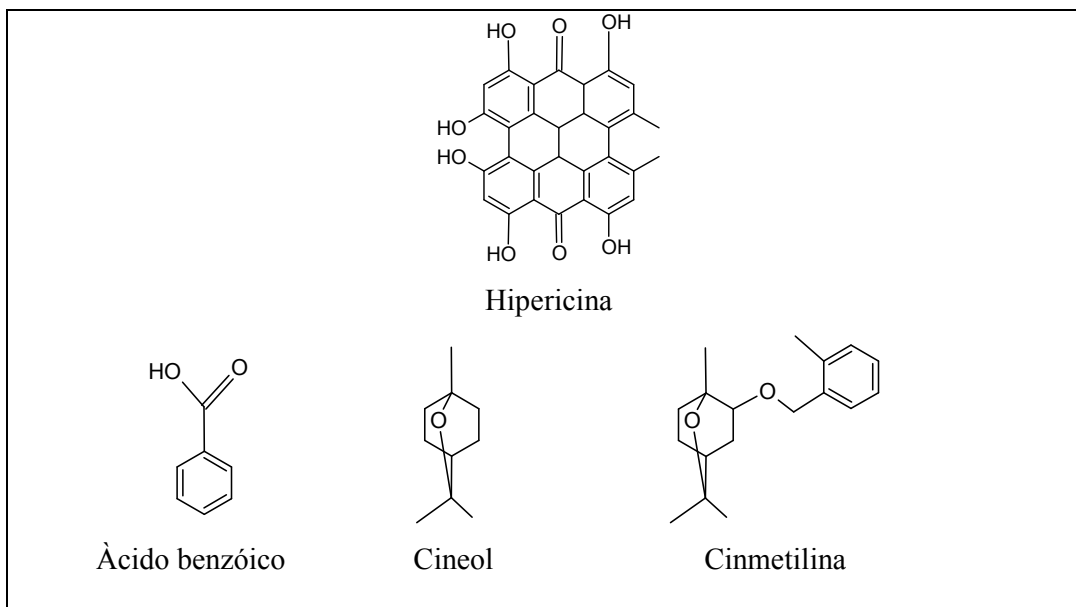
Ferreira (2007) constatou a redução na velocidade de germinação de picão-preto pela aplicação de extrato etanólico de *Eucalyptus citiodora*.

Carmo (2007), observou diminuição do crescimento do sistema radicular em sorgo quando submetido aos extratos de canela-sassafrás.

Extratos de *H. myrianthun* e *H. polyanthemum* inibiram a germinação e o crescimento de *Lactuca sativa* (alface), o que aconteceu pela presença de compostos fenólicos.(Fritz,2007)

A seguir encontram-se algumas fitotoxinas encontradas em plantas usadas como herbicidas naturais:

#### Quadro 11: Algumas fitotoxinas derivadas de plantas usadas como herbicidas naturais



Fonte:Duke & Abbas,1995

Percebe-se que a ação dos compostos alelopáticos é semelhante à ação dos herbicidas convencionais, no entanto, sua relação com o meio e saúde do homem podem ser menos prejudiciais, assim, eles representam uma nova forma de controle e seu estudo pode levar ao desenvolvimento de herbicidas eficientes e seletivos.

## **2.10 *ORIGANUM MAJORANA L.***



Figura 12: *Origanum majorana L.*

No município de Patrocínio-MG, *Origanum majorana L.* é conhecida como catinga de mulata.

A população do município de Patrocínio-MG, relata a utilização de *O. majorana* como perfume, principalmente por pessoas negras. Na época as mulheres sem condições de adquirir perfumes, apertavam as folhas de *O. majorana* e passavam sobre o corpo, ao saírem para namorar. Sua fragrância intensa e duradoura é muito admirada. Ainda é comum entre algumas pessoas idosas da região a utilização de galhos de *O. majorana* atrás da orelha, devido ao seu intenso perfume.

*O. majorana* também é usada pela população do município de Patrocínio-MG na fabricação de sabões caseiros. Onde diversas partes da planta são adicionadas durante o preparo do sabão, para que o mesmo apresente seu aroma característico.

Tal população relata ainda, que vasos contendo *O. majorana* colocados em lugares estratégicos podem ser usados como repelente de mosquitos.

*O. majorana* é uma planta que segundo Correa (1984) possui as seguintes sinônimas: *Majorana crassa Moench*, *M. fragans Rafin.*, *M. hortensis Moench.*, *M. ovatifolia Stokes.*, *M. tenifolia S.F. Gray* e *M. vulgaris S.F. Gray*. *O. majorana* pertence à família das lamiaceae. É uma herbácea de 35 cm; caule quadrangular, avermelhado piloso, folhas opostas, ovais, brancacentas; flores branco-esverdeadas, pequenas, bracteadas, sementes oblongas, muito finas, castanho-escuras ou quase vermelhas. É uma planta ruderal muito difundida pelo mundo. Toda a planta é considerada medicinal, seus banhos possuem poder excitante e internamente é sudorífera e estomáquica. Seu óleo essencial é usado na perfumaria e entra na composição do “ungüento-manjerona”, hoje obsoleto, mas entra ainda na composição dos licores e do vulnerário dos farmacêuticos. Sua essência é amarelada ou ligeiramente esverdeada. O rendimento em essência varia muito com a época da colheita, mas, não excede 600 gramas por 100 quilos de plantas secas.

Já Matos (1997) relata que a *O. majorana*, também pode ser usada em infusão como carminativo e estimulante. Além de repelente de larvas na miíase nasal e do ouvido.

Segundo a coletânea “Plantas que curam” (1996), apesar de quase não utilizada na culinária atualmente, foi apreciada em receitas dos séculos dezesseis e dezessete. Os antigos gregos e romanos a consideravam símbolo da imortalidade. E na idade média era espalhada por locais públicos, pois, acreditava-se que ela afastava moscas.

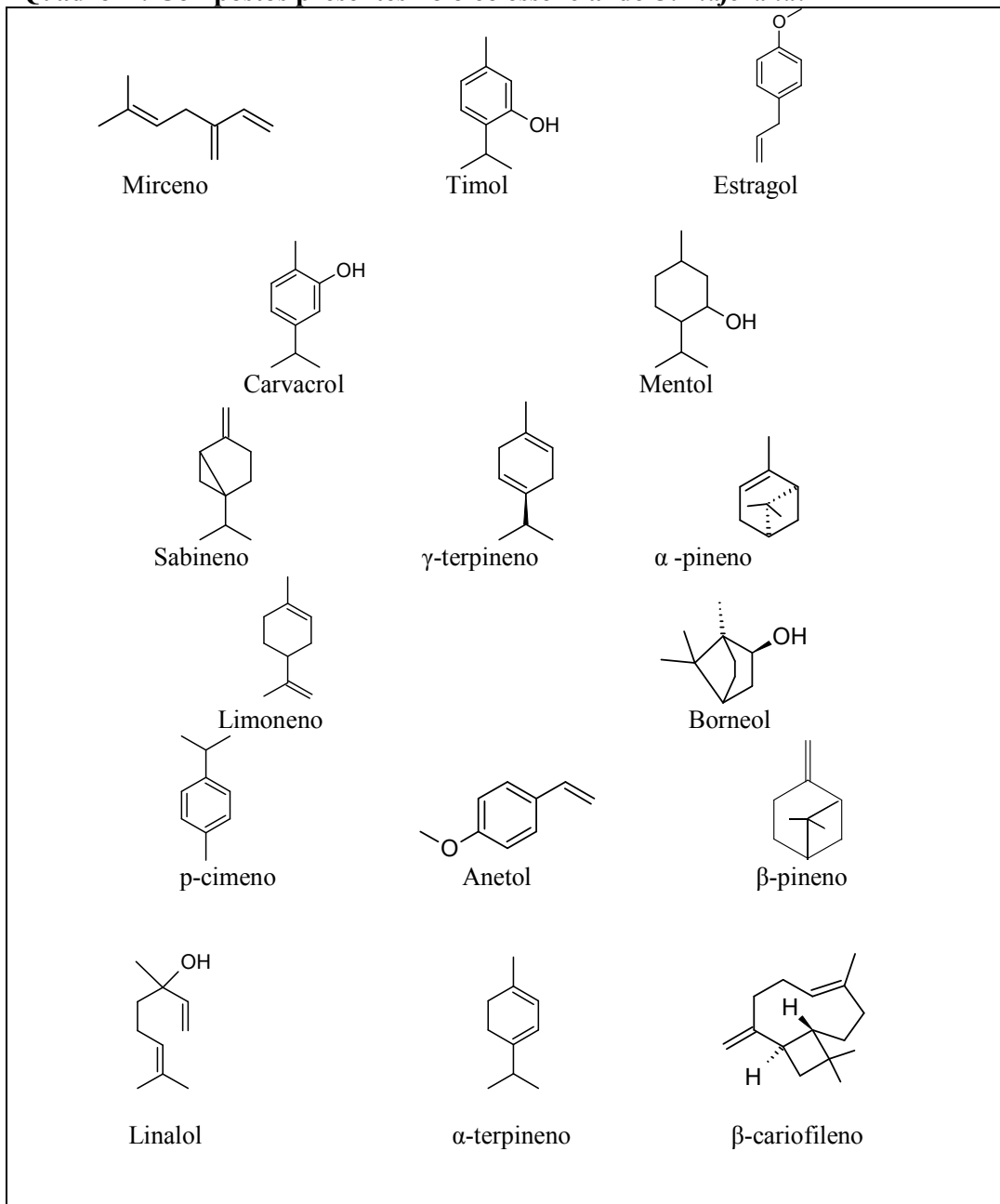
Num estudo realizado em Cuba por Govin e colaboradores (2005), foram encontrados no teste fitoquímico de *O. majorana* os seguintes componentes químicos: aminas, taninos, fenóis, esteróides e triterpenos, flavonóides, açúcares, quinonas no óleo essencial. Esse estudo tinha como objetivo verificar suas propriedades terapêuticas. O autor relata também o uso de *O. majorana* na indústria alimentícia, como condimento.

Oliveira (2009), descreve o uso de *O. majorana* como bactericida no controle de *Staphylococcus aureus* BH01, *S. aureus* BH02, *S. aureus* BH03, *S. coagulase negative* BH08, *S. coagulase negative* BH09, *Enterobacter* BH15, *Proteus* spp. BH16, *Acinetobacter* spp. BH17 e *Klebsiella* spp., bactérias isoladas de pacientes com conjuntivite. Oliveira (2009) atribui a propriedade bactericida de *O. majorana* aos seguintes compostos: Mirceno,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineno, p-cimeno, borneol, timol, carvacrol,  $\beta$ -cariofileno, limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, linalol e sabineno, encontrados em seu óleo essencial.

Segundo Diniz (2005), *O. majorana* é conhecida como manjerona e possui propriedades fungicidas, pois, foi inibitória no crescimento do fungo *Sclerotinia minor*. Diniz (2005) atribuiu tal efeito a presença significativa dos seguintes compostos, encontrados em seu óleo essencial: timol, carvacrol, mentol, anetol, estragol, e metilchavicol (estragol), citados por Passino *et. al* (1999)

A seguir encontram-se as estruturas dos compostos encontrados no óleo essencial de *O. majorana*:

**Quadro12: Compostos presentes no óleo essencial de *O. majorana*.**



No guia rural “*Ervas e Temperos*” (1991), *O. majorana* é citada como tempero para ervas e peixes. O autor também relata sua importância para os gregos, já que era uma planta tida como símbolo da felicidade e no romance “*Anos de cão*” de Gunther Grass, é citado o cultivo de *O. majorana* por possuir propriedades mágicas.

Uma exsicata de *O. majorana* foi preparada e encaminhada para identificação definitiva, a taxonomia da planta foi realizada pela botânica Rosângela de Oliveira Araújo no Unicerp- Centro Universitário de Patrocínio-MG.

### **3.OBJETIVOS**

Desta forma, considerando que os produtos naturais oferecem novas oportunidades para o desenvolvimento de métodos seguros de redução de custos de produção de alimentos e preservação ambiental no controle de plantas daninhas, na obtenção de herbicidas de aplicação direta, ou usados como modelos de novos herbicidas comerciais, os objetivos de presente trabalho são os seguintes:

1. Dar continuidade à avaliação fitotóxica preliminar dos extratos de caule, folhas e raiz de *O. majorana*.
1. Testar os metabólitos secundários ativos através de bioensaios de germinação, desenvolvimento de raiz e caule, tendo como alvo *Panicum maximum*.
2. Identificar as classes dos compostos ativos por meio de prospecção fitoquímica.
3. Identificar os compostos voláteis por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, tendo como solvente diclorometano.

### **4. METODOLOGIA**

Partes aéreas e raízes de *O. majorana* foram coletadas no município de Patrocínio-MG, após lavagem as porções foram secas em estufa a 45°C. O material seco foi triturado e peneirado (malha de 0,5 mm aproximadamente) até obtenção de um pó homogêneo e os extratos preparados imediatamente.



#### 4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS:

Na obtenção dos extratos foram usadas as porções secas da folha, do caule e da raiz de *O. majorana*, e posteriormente imersas em diclorometano. Após agitação aleatória 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 evaporador rotatório.

**Tabela 1: Obtenção dos extratos de *O. majorana* em diclorometano.**

<b>Parte de <i>O. majorana</i></b>	<b>Quantidade em gramas</b>	<b>Volume de diclorometano em mL</b>
<b>Raiz</b>	2,23	100,0
<b>Folha</b>	10,24	400,0
<b>Caule</b>	25,70	800,0

#### 4.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES

Deste extrato foram preparadas soluções aquosas de concentrações: 50, 100 e 200 ppm. Estas soluções foram utilizadas para ensaios de germinação em caixas gerbox (dimensões 11 x 11 cm).

#### 4.3 GERMINAÇÃO

Anteriormente à realização dos testes de germinação, foi realizada a quebra de dormência das sementes pré-selecionadas, esterilizadas durante 2 minutos com hipoclorito de sódio, em uma solução de 10 % e posteriormente lavadas.

Nos ensaios para a verificação do potencial fitotóxico, foram utilizadas, por triplicata, concentrações de 0 (controle), 50, 100, e 200 ppm dos extratos, em H<sub>2</sub>O

bidestilada e deionizada usando caixas gerbox com papel de filtro, previamente esterilizadas. Cada parcela experimental foi constituída de 20 sementes.

As placas foram transferidas para um germinador onde permaneceram por sete dias, a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 10 horas.

#### 4.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Foi aplicado um teste de anova para avaliar a homogeneidade das réplicas para cada concentração incluindo o branco para os extratos. Realizou-se também teste de anova para avaliar se existe diferença estatisticamente significativa no efeito dos extratos no crescimento da parte aérea e raiz. Em todos os conjuntos de dados aplicaram-se os testes Chauvenet, Dixon e Grubbs para verificação de *outliers*.

#### 4.5 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Descrição dos testes realizados na prospecção fitoquímica dos caules, folhas e raízes de *O.majorana*.(Wagner,1984)

##### **Flavonóides**

Para identificação de flavonóides presentes, 1g de *O.majorana* foi extraído por aquecimento em banho-maria durante 15 minutos com 5,0 ml de MeOH. O filtrado obtido foi então analisado por ccd.

Aplicou-se os filtrados em placas de sílica gel, procedendo-se a eluição com AcOEt/ ácido fórmico/ AcOH / água (100,0 mL:11,0 mL:11,0 mL:26,0 mL), misturando-se primeiro AcOEt / ácido fórmico / AcOH (a água foi adicionada em seguida, devagar e com agitação vigorosa).

Segundo Wagner, 1984, a revelação sob luz UV<sub>254</sub> nm, os flavonóides aparecem como manchas azuis escuras em fundo amarelo e, sob luz UV<sub>365</sub> nm, dependendo do tipo de estrutura do flavonóide, apresentam fluorescências amarelas, azuis ou verdes.

Em solução etanólica de  $\text{AlCl}_3$  5% os flavonóides aparecem como manchas de fluorescência amarela e/ou esverdeada.

### **Alcalóides**

Na identificação de alcalóides presentes, 1g de *O.majorana* foi misturado com 1 ml de solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% e, então, extraído por 15 min. a  $60^\circ\text{C}$  com 5,0 ml de MeOH. O filtrado foi então usado para ccd, aplicado em placas de sílica gel, eluídas com tolueno/ AcOEt/ dietilamina (70,0 mL: 20,0mL: 10,0 mL).

Segundo Wagner (1984), muitos alcalóides mostram fluorescência sob luz  $\text{UV}_{254}$  nm e sob luz  $\text{UV}_{365}$  nm, alguns apresentando fluorescência azul e/ou amarela. Em solução de Dragendorff apresentam manchas alaranjadas-marrom.

### **Cumarinas**

Para detectar a presença de cumarinas, 1g de *O.majorana* foi extraído sob aquecimento e refluxo, por 15 min., com 10,0 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . O filtrado foi então evaporado até a secura e o resíduo dissolvido em 1,0 mL de tolueno. A solução obtida foi aplicada em placas de sílica gel com:

1°) tolueno: éter(1:1) saturado com AcOH 10% aq.

Obs: a mistura (50,0 mL + 50,0 mL) dos solventes foi colocada com 50,0 mL AcOH 10% em um funil de separação e posteriormente decantada.

2°) AcOEt(para confirmação)

De acordo com Wagner (1984), revelando-se sob luz  $\text{UV}_{254}$  nm todas as cumarinas mostram fluorescência distinta. Sob luz  $\text{UV}_{365}$  nm todas as cumarinas simples mostram fluorescência intensa azul/verde. Em presença de KOH 5% em etanol, intensa fluorescência azul/marrom sob luz  $\text{UV}_{365}$  nm.

### **Saponinas**

Para detectar presença de saponinas, 1g de *O.majorana* foi extraído separadamente por aquecimento em banho-maria, por 15 min. Com 5,0 mL de MeOH. O filtrado foi reduzido até 1,0 mL e misturados com 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  e, então, extraído

com 3,0 mL de butanol. A fase butanólica obtida foi, então, aplicada em placas de sílica gel 60, utilizando como eluentes: CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (64,0 mL:50,0 mL:10,0 mL).

Revelando-se com solução de vanilina em etanol 10%, saponinas mostram o aparecimento de manchas azuis, violetas azuis e algumas vezes amarelas no visível (Wagner,1984).

### **Polifenóis e taninos**

Utilizando-se de 1 g de *O.majorana* foi extraído por aquecimento em banho-maria, por 15 min., com 5,0 mL de MeOH. O filtrado obtido foi aplicado em placas de sílica gel 60, eluindo-se com hexano/ AcOEt (1:1), tolueno/ butanol/ AcOH/ H<sub>2</sub>O (50,0 mL: 25,0 mL: 25,0 mL: 5,0 mL).

A revelação foi efetuada com solução etanólica de cloreto férrico a 2% (Wagner,1984).

Polifenóis: apresentam manchas de coloração diversas (castanho-avermelhadas, violetas, verdes, azuis).

Taninos: as manchas apresentam coloração negra-azulada ou esverdeada.

### **Agliconas antraquinônicas**

Após extração de 1g de *O.majorana*, por aquecimento em banho-maria, durante 15 min., com 5,0 mL de MeOH, o extrato foi aplicado em placas de sílica gel, procedendo-se a eluição com AcOEt/ MeOH/ H<sub>2</sub>O (100,0 mL: 17,0 mL: 13,0 mL).

À revelação sob luz UV<sub>254</sub> nm, todos os derivados de antraquinonas mostram fluorescência, enquanto que, sob luz UV<sub>365</sub> nm, todos os derivados dão fluorescência amarelo/ vermelho/ marrom.

Após tratamento com reagente de Borntrager (KOH etanólico 10%) aparecem manchas vermelhas no visível e fluorescência vermelha sob luz UV<sub>365</sub> nm, de antraquinonas ou manchas amarelas no visível e fluorescência amarela sob luz UV<sub>365</sub> nm, de antronas e antranóis (Wagner, 1984).

### **Triterpenos/ esteróides**

Para se evidenciar a presença de esteróides e triterpenos, 2g de *O.majorana* foram extraídos com 20,0 ml de CHCl<sub>3</sub>/ AcOH (99,0 mL;1,0 mL) em banho-maria por

15 minutos. Os filtrados obtidos foram aplicados em placas de sílica gel 60 usando como eluentes: hexano/ AcOEt (1:1). No caso de reação positiva observa-se uma sucessão de cores, de róseo ao azul e verde.

Revelador: Lieberman-Burchard (Wagner, 1984).

#### **4.6 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À 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 Kovats (Adams, 2001).

### **5. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Foram realizados testes de germinação, bem como prospecção fitoquímica para identificação de algumas classes relevantes quanto ao efeito alelopático e espectrometria da raiz, do caule e da folha de *O.majorana*.

#### **5.1 RENDIMENTO DOS EXTRATOS**

Na obtenção dos extratos foram usadas porções de *O.majorana*, secas em estufa a 45°. A tabela a seguir mostra os resultados obtidos.

**Tabela 2: Rendimento dos extratos da raiz, do caule e da folha de *O.majorana***

<b>Parte de <i>O.majorana</i></b>	<b>Quantidade de <i>O.majorana</i> (g)</b>	<b>Quantidade de diclorometano (mL)</b>	<b>Rendimento do extrato obtido</b>
Raiz	2,23	100,0	10,76%
Folha	10,24	400,0	6,54%
Caule	25,70	800,0	7,31%

## **5.2 GERMINAÇÃO**

### **Parte da Planta Estudada – Raiz**

A Figura 13 mostra o resultado obtido na germinação de *Panicum maximum*, com aplicação dos extratos da raiz de *O. majorana*, nas concentrações: 50,100 e 200 ppm, realizados em triplicata.

Quando a concentração variou de 50 para 100ppm, houve um aumento de aproximadamente 65% na inibição da parte aérea de *Panicum maximum*. De 100 para 200 ppm a taxa de aumento da inibição da parte aérea foi de aproximadamente 12%.

De acordo com o resultado obtido (figura 13), a raiz foi a parte mais afetada de *Panicum maximum*, quando a concentração variou de 50 para 100 ppm a taxa de inibição foi de aproximadamente 32%. E de 100 para 200 ppm a taxa de inibição foi de aproximadamente 11%.

A germinação da planta ao passar da concentração de 50 para 100 ppm aumentou 10 vezes, chegando a 100% de inibição em 200 ppm.

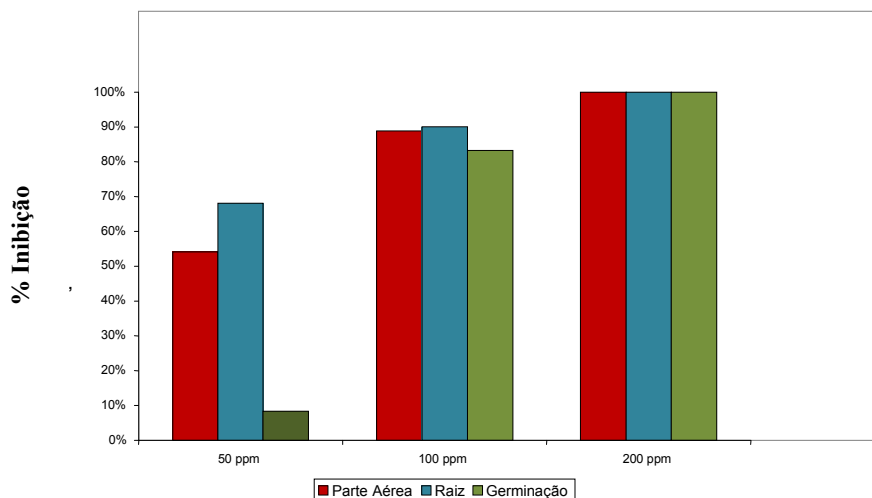


Figura 13: Porcentagem de inibição de *Panicum maximum* em ensaio de germinação da raiz de *O. majorana*.

A Tabela 3, mostra o desvio padrão e a média em cm, dos resultados obtidos no ensaio de germinação realizado em triplicata, ao medir a parte aérea de *Panicum maximum*, usando os respectivos extratos da raiz de *O. majorana* e os resultados obtidos ao medir o controle, onde não foram aplicados extratos.

**Tabela 3: Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da parte aérea de *Panicum maximum* pelos extratos da raiz de *O. majorana*.**

Amostra	Desvio padrão (parte aérea) <i>Panicum maximum</i> (cm)	Média (parte aérea) <i>Panicum maximum</i> (cm)
Extrato da raiz de <i>O. majorana</i> a 50 ppm	0,72	0,46
Extrato da raiz de <i>O. majorana</i> a 100 ppm	0,35	0,19
Extrato da raiz de <i>O. majorana</i> a 200 ppm	Não houve germinação	Não houve germinação
Controle	1,03	0,94

Na Tabela 4, o desvio padrão e a média em cm, dos resultados obtidos no ensaio de germinação realizado em triplicata, ao medir a raiz de *Panicum maximum*, usando os respectivos extratos da raiz de *O. majorana* e os resultados obtidos no controle, onde não foram adicionados extratos.

**Tabela 4: Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da raiz de *Panicum maximum* pelos extratos da raiz de *O. majorana*.**

<b>Amostra</b>	<b>Desvio padrão (raiz) <i>Panicum maximum</i>(cm)</b>	<b>Média (raiz) <i>Panicum maximum</i>(cm)</b>
Extrato da raiz de <i>O. majorana</i> a 50 ppm	0,92	0,63
Extrato da raiz de <i>O. majorana</i> a 100 ppm	0,43	0,23
Extrato da raiz de <i>O. majorana</i> a 200 ppm	Não houve germinação	Não houve germinação
Controle	1,68	1,61

#### **Parte da Planta Estudada – Caule**

A Figura 14, mostra o resultado obtido no ensaio de germinação de *Panicum maximum* com aplicação dos extratos do caule de *O. majorana* nas concentrações: 50,100 e 200 ppm que foram realizados em triplicata.

Em 50 ppm a inibição da parte aérea de *Panicum maximum* foi de 45% e aumentou para 79% em 100 ppm, apresentando um aumento de 76% na inibição. Ao aumentar a concentração de 100 para 200 ppm a inibição da parte aérea de *Panicum maximum*, aumentou em aproximadamente 27%.

Quanto a inibição da raiz de *Panicum maximum* ao variar de 50 para 100 ppm a taxa de inibição foi de 36% e quando a concentração dos extratos passou de 100 para 200 ppm a inibição aumentou em aproximadamente 20%.



A inibição da germinação de *Panicum maximum* foi 3 vezes maior ao variar a concentração de 50 para 100 ppm e ao passar de 100 para 200 ppm a concentração aumenta 7 vezes.

Os extratos do caule de *O. majorana*, apresentaram resultados inferiores quando comparados com os demais extratos, como era esperado, pois, é nas folhas e raiz que se concentram a maior parte dos metabólitos secundários, no entanto, esses resultados foram expressivos, pois, em 200 ppm a inibição da germinação atingiu 100%.

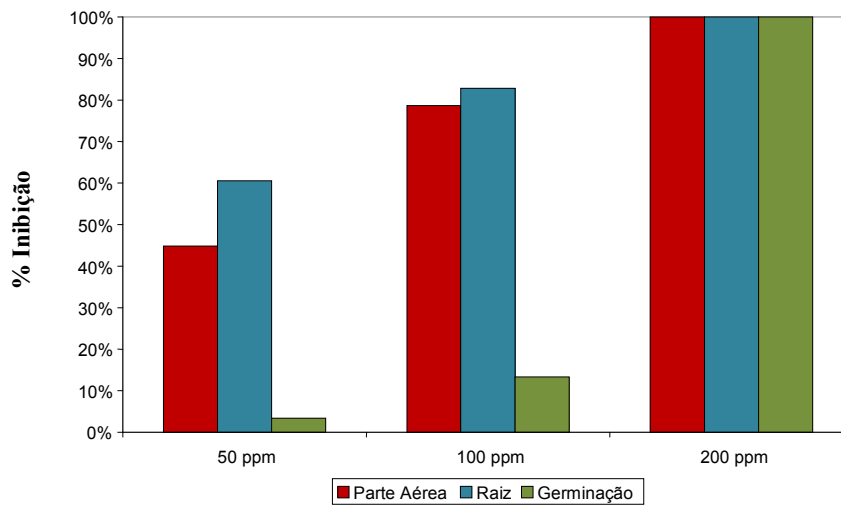


Figura 14: Porcentagem de inibição de *Panicum maximum* em ensaio de germinação do caule de *O. majorana*.

A Tabela 5, mostra o desvio padrão e a média em cm, dos resultados obtidos no ensaio de germinação realizado em triplicata, ao medir a parte aérea de *Panicum maximum*, usando os respectivos extratos do caule de *O. majorana*. Através da Tabela 3, é possível observar que na concentração 200 ppm houve germinação, contudo, na maioria dos dados a mesma foi nula e assim, esses pontos onde ocorreu germinação são considerados outliers (tratamento estatístico em anexo).

**Tabela 5: Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da parte aérea de *Panicum maximum* pelos extratos do caule de *O. majorana*.**

<b>Amostra</b>	<b>Desvio padrão (parte aérea) <i>Panicum maximum</i>(cm)</b>	<b>Média (parte aérea) <i>Panicum maximum</i> (cm)</b>
Extrato do caule de <i>O. majorana</i> a 50 ppm	0,82	0,62
Extrato do caule de <i>O. majorana</i> a 100 ppm	0,64	0,37
Extrato do caule de <i>O. majorana</i> a 200 ppm	0,20	0,08
Controle	1,03	0,94

A Tabela 6 mostra o desvio padrão e a média em cm, dos resultados obtidos no ensaio de germinação realizado em triplicata, ao medir a raiz de *Panicum maximum*, usando os respectivos extratos do caule de *O. majorana*. Através da tabela 4, é possível observar que na concentração 200 ppm houve germinação, contudo, na maioria dos dados obtidos, a mesma foi nula e assim, esses pontos onde ocorreu germinação são considerados outliers (tratamento estatístico em anexo I).

**Tabela 6: Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da raiz de *Panicum maximum* pelos extratos do caule de *O. majorana*.**

<b>Amostra</b>	<b>Desvio padrão (raiz) <i>Panicum maximum</i>(cm)</b>	<b>Média (raiz) <i>Panicum maximum</i> (cm)</b>
Extrato do caule de <i>O. majorana</i> a 50 ppm	1,01	0,75
Extrato do caule de <i>O. majorana</i> a 100 ppm	0,74	0,44
Extrato do caule de <i>O. majorana</i> a 200 ppm	0,17	0,07
Controle	1,68	1,61

## Parte da Planta Estudada – Folha

A Figura 15 mostra o resultado obtido no ensaio de germinação de *Panicum maximum* com aplicação dos extratos das folhas de *O. majorana* nas concentrações: 50, 100 e 200 ppm que foram realizados em triplicata.

De acordo com a Figura 10, percebe-se que o extrato de *O. majorana*, apresentou as maiores inibições da raiz e parte aérea de *Panicum maximum* na menor concentração (50 ppm), quando comparado com os demais extratos, 84% para a parte aérea e 83% para a raiz.

A taxa de inibição da parte aérea é de 14% ao variar a concentração de 50 para 100 ppm, e de 4% quando a concentração do extrato passa de 100 para 200 ppm.

A taxa de inibição da raiz de *Panicum maximum*, é de 18% quando a concentração do extrato passa de 50 para 100 ppm e de 2%, quando a concentração passa de 100 para 200 ppm.

A inibição da germinação de *Panicum maximum*, varia de 8% para 17% ao aumentar a concentração de 50 para 100 ppm, aumentando em 2x e cresce 6x ao passar a concentração de 100 para 200 ppm, alcançando 100% de inibição.

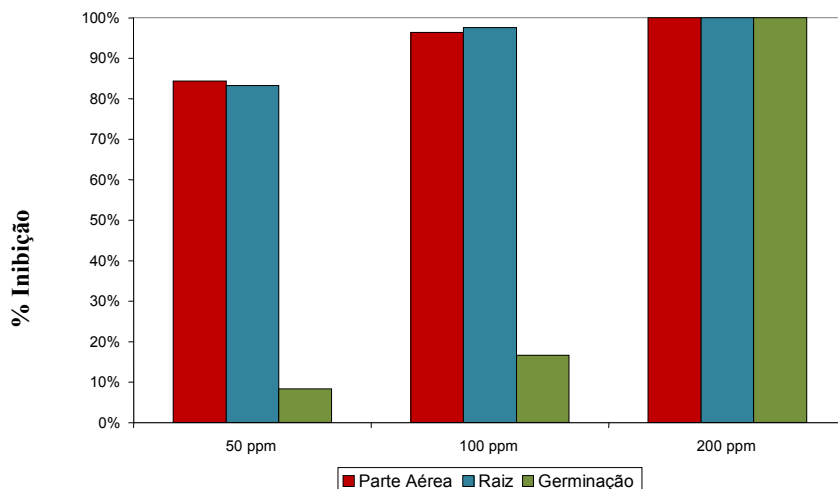


Figura 15: Porcentagem de inibição de *Panicum maximum* em ensaio de germinação da folha de *O. majorana*.

A Tabela 7 mostra o desvio padrão e a média em cm, dos resultados obtidos no ensaio de germinação realizado em triplicata, ao medir a parte aérea de *Panicum maximum*, usando os respectivos extratos das folhas de *O. majorana* e os resultados do controle, onde não foram aplicados extratos.

**Tabela 7: Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da parte aérea de *Panicum maximum* pelos extratos das folhas de *O. majorana*.**

<b>Amostra</b>	<b>Desvio padrão (parte aérea) <i>Panicum maximum</i>(cm)</b>	<b>Média (parte aérea) <i>Panicum maximum</i> (cm)</b>
Extrato da folha de <i>O. majorana</i> a 50 ppm	0,47	0,26
Extrato da folha de <i>O. majorana</i> a 100 ppm	0,30	0,14
Extrato da folha de <i>O. majorana</i> a 200 ppm	Não houve germinação	Não houve germinação
Controle	1,03	0,94

A Tabela 8 mostra o desvio padrão e a média em cm, dos resultados obtidos no ensaio de germinação realizado em triplicata, ao medir a raiz de *Panicum maximum*, usando os respectivos extratos das folhas de *O. majorana* e os resultados obtidos no controle também em triplicata, onde não foram aplicados extratos.

**Tabela 8: Desvio padrão e média dos resultados obtidos na inibição da raiz de *Panicum maximum* pelos extratos das folhas de *O. majorana*.**

<b>Amostra</b>	<b>Desvio padrão (raiz) <i>Panicum maximum</i>(cm)</b>	<b>Média (raiz) <i>Panicum maximum</i> (cm)</b>
Extrato da folha de <i>O. majorana</i> a 50 ppm	0,61	0,33
Extrato da folha de <i>O. majorana</i> a 100 ppm	0,20	0,10
Extrato da folha de <i>O. majorana</i> a 200 ppm	Não houve germinação	Não houve germinação
Controle	1,68	1,61

Na Tabela 9, encontram-se as médias, em porcentagem dos resultados obtidos nos ensaios de germinação.

**Tabela 9: Porcentagens de inibição obtidas na germinação**

Parte da Planta - Raiz					
	50 ppm		100 ppm		200 ppm
Parte Aérea	54%	Média aérea 100 ppm	89%	Média aérea 200 ppm	100%
Raiz	68%	Média raiz 100 ppm	90%	Média raiz 200 ppm	100%
Germinação	8%	Média germinação 100 ppm	83%	Média germinação 200 ppm	100%

Parte da Planta - Caule					
	50 ppm		100 ppm		200 ppm
Parte Aérea	45%	Média aérea 100 ppm	79%	Média aérea 200 ppm	100%
Raiz	61%	Média raiz 100 ppm	83%	Média raiz 200 ppm	100%
Germinação	3%	Média germinação 100 ppm	13%	Média germinação 200 ppm	100%

Parte da Planta - Folha					
	50 ppm		100 ppm		200 ppm
Parte Aérea	84%	Média aérea 100 ppm	96%	Média aérea 200 ppm	100%
Raiz	83%	Média raiz 100 ppm	98%	Média raiz 200 ppm	100%
Germinação	8%	Média germinação 100 ppm	17%	Média germinação 200 ppm	100%

Controle	
Média aérea	0%
Média raiz	0%
Média germinação	0%

### 5.3 TESTES FITOQUÍMICOS

A Tabela 10, mostra os resultados obtidos na prospecção fitoquímica da folha, do caule e da raiz de *O. majorana*:

**Tabela 10: Testes de prospecção fitoquímica na folha, no caule e na raiz de *O. majorana*.**

<b>Classes de compostos orgânicos</b>	<b>Reagente</b>	<b>Folha</b>	<b>Caule</b>	<b>Raiz</b>
<b>Flavonóides</b>	AlCl <sub>3</sub> 5%	+	+	+
<b>Alcalóides</b>	Dragendorff	+	+	-
<b>Cumarinas</b>	KOH 5%	-	-	-
<b>Agliconas antraquinônicas</b>	Borntrager	+	+	+
<b>Triterpenos</b>	Lieberman-Buchard	+	+	+
<b>Esteróides</b>	Lieberman-Buchard	+	+	+
<b>Saponinas</b>	Vanilina	-	-	-
<b>Polifenóis</b>	Cloreto férrico 2%	+	+	+
<b>Taninos</b>	Cloreto férrico 2%	+	+	-

Nos caules, folhas e raízes de *O. majorana* foram encontrados flavonóides, pertencentes à classe de compostos fenólicos, que segundo Buchanan(2001), são metabólitos secundários conhecidos por possuírem ação antipatógena ou inseticida. Certas espécies vegetais que desenvolveram compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras (ação alelopática). Como exemplo, o flavonóide quercetina, que segundo Melos (2006), é responsável pela inibição de alface (*Lactuca sativa*) em altas concentrações, mas, quando em baixas concentrações, tal flavonóide estimula o crescimento da espécie (alface).

Também foram encontrados taninos, nos caules e folhas de *O. majorana* e estes são conhecidos por inibição de crescimento e germinação de sementes. (Buchanan,2001)

Alcalóides estão presentes nos caules e folhas de *O. majorana*, compostos que de acordo com Buchanan(2001), são responsáveis pela defesa das plantas contra pragas, pois, se ligam a proteínas digestivas dos insetos, além de atuarem como inibidores da germinação.

Triterpenos/esteróides foram encontrados nos caules, raízes e folhas de *O. majorana*, que segundo Correia (2006), são substâncias que podem ser precursores de hormônios em plantas, insetos e mamíferos e inibem o desenvolvimento de outras plantas.

Nos caules, folhas e raízes de *O. majorana*, foram detectadas agliconas antraquinônicas, que de acordo com Oliveira (2006), são polifenóis ligados com grupos hidroxilas, metoxilas e conjugados com açúcares. E os fenóis são conhecidos por atuarem como inibidores de crescimento e germinação.

#### 5.4 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Para identificação de compostos voláteis, os extratos secos de *O. majorana* foram redissolvidos em diclorometano e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

A seguir o cromatograma das folhas de *O. majorana*:

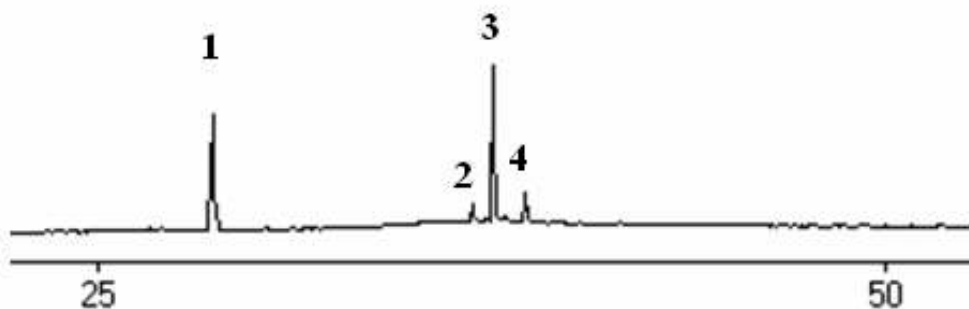


Figura 16: Cromatograma do extrato em diclorometano da folha de *O. majorana*.

A partir deste cromatograma foram identificados 3 compostos e 1 não foi identificado, pela biblioteca do aparelho CG-EM, conforme o Quadro 13.

**Quadro 13: Compostos voláteis encontrados nas folhas de *O. majorana*, através do extrato diclorometânico.**

PICO	T.R.	COMPOSTO	ÁREA
1	28,7	beta-farneseno	18,4%
2	36,95	delta-decalactona	9,16%
3	37,60	Lactona do ácido-5-hidróxi-2-decenóico	61,48%
4	38,65	N.I	10,96%
Total			100,0%

A seguir o cromatograma (Figura 17) dos caules de *O. majorana*, através do qual foram identificados 5 compostos e 2 permanecem não identificados, conforme o Quadro14.

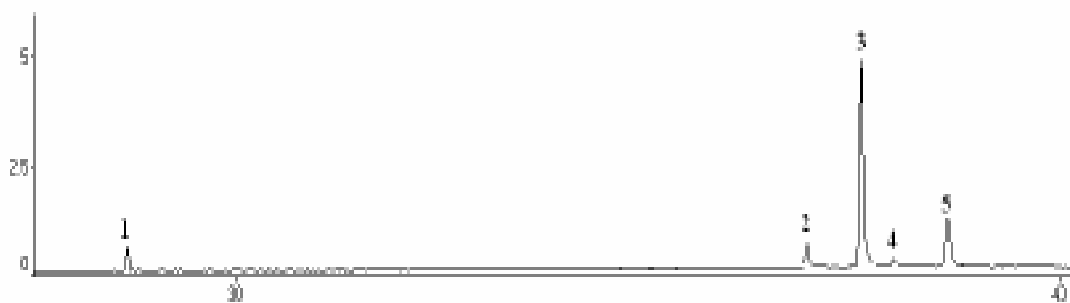


Figura 17: Cromatograma do extrato em diclorometano do caule de *O. majorana*.

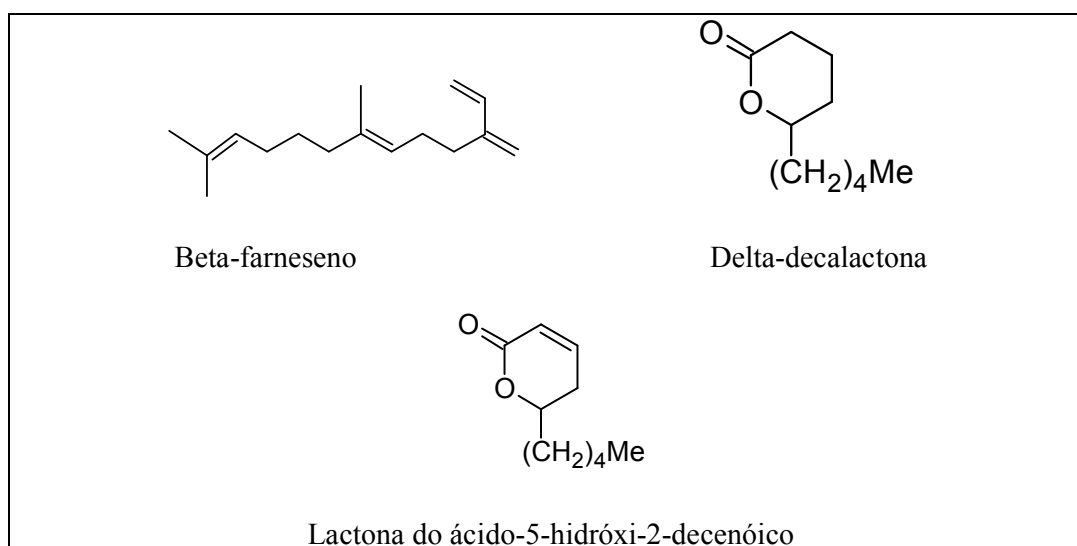


**Quadro 14: Compostos voláteis encontrados no caule de *O. majorana*, através do extrato diclorometânico.**

PICO	T.R.	COMPOSTO	ÁREA
1	28,7	beta-farneseno	4,03%
2	36,95	delta-decalactona	8,51%
3	37,60	Lactona do ácido-5-hidróxi-2-decenóico	66,94%
4	38,00	N.I	2,67%
5	38,65	N.I	17,85%
Total			100,0%

As estruturas dos compostos encontrados na cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas se encontram no quadro a seguir:

**Quadro 15: Estruturas dos compostos voláteis encontrados em *O. majorana*, através do extrato diclorometânico.**



O beta-farneseno apresenta ação inibidora sobre atividades mediadas por acetil colina em animais. (Vieira,2006) Esse composto pertence a classe dos terpenos, que são responsáveis pela defesa contra pragas e doenças, em muitas espécies.

A respiração das células radiculares pode ser aumentada ou diminuída, dependendo da natureza química dos compostos presentes nos extratos vegetais empregados, afetando seu crescimento, entre esses compostos estão as lactonas que aceleram a respiração das células radiculares de pepino.(Carmo,2007)

O cromatograma dos caules de *O. majorana* foi semelhante ao de suas folhas, no entanto, o caule apresenta o pico 4, com tempo de retenção 38,0 não identificado, que não está presente nas folhas.

As classes metabólicas encontradas em ambos: caule e folhas foram as mesmas, no entanto, através dos resultados obtidos nos ensaios de germinação, percebe-se que as inibições nos extratos do caule e folhas não foram iguais, isso ocorre pela diferença de concentração, em que os metabólitos secundários se encontram. Já que estes não estão distribuídos uniformemente entre as diversas partes da planta.

## 6 CONCLUSÕES

Na concentração 200 ppm todos os extratos de caule, raiz e folhas de *O. majorana* inibiram 100% da germinação. O extrato da raiz mostrou maior inibição da germinação na concentração 100 ppm. O extrato das folhas de *O. majorana* apresentou eficiência de 96% na inibição da parte aérea de *Panicum maximum* em 100 ppm e mesmo na concentração mais baixa (50 ppm) obteve-se 83% de inibição da raiz e parte aérea para a espécie efetuada, constituindo um excelente bioerbicida.

De acordo com a literatura, nos caules encontram-se menores concentrações de metabólitos secundários (Putnam & Duke,1978), este mostrou menor eficiência que os demais extratos, mas não pouco significativa, já que, apresentou inibição próxima a 80% da raiz e parte aérea na concentração 100 ppm, conforme a Figura 14.

As substâncias voláteis, encontradas usando o extrato diclorometânico, identificadas no caule e folhas de *O. majorana*, foram as mesmas, no entanto o caule apresentou um composto a mais não identificado pela biblioteca do aparelho CG-EM

(pico 4), conforme o cromatograma (Figura 17). Trata-se de uma planta aromática, cujas folhas e caule apresentam odor semelhante, comparados os resultados obtidos pelos cromatogramas.

Os componentes identificados através de CG-EM presentes são: beta-farneseno, delta-decalactona e lactona do ácido 5-hidróxi-2-decenóico, e são compostos conhecidos por sua ação inibitória.(Almeida,1988) As classes de metabólitos secundários investigadas e encontradas nas folhas, caule e raiz de *O. majorana*, também são conhecidas por atuarem como defesa natural das plantas e ação inibitória de crescimento e germinação de sementes, de diversas espécies, conforme a literatura citada. Assim, o efeito dos extratos de *O. majorana*, na inibição da germinação e inibição do crescimento da parte aérea e raiz de *Panicum maximum* não podem ser atribuídos a um composto específico, mas ao conjunto de compostos encontrados em suas diferentes partes, ou seja, por sinergismo.

Portanto, este estudo verificou o potencial alelopático dos extratos em diclorometano da raiz, caule e folhas de *O. majorana*, popularmente conhecida como catinga de mulata e o uso potencial desses extratos como bioerbicidas com aplicação alternativa aos herbicidas comerciais e menor impacto ambiental.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, F.S. ;**Alelopatia e as plantas**. v.53, p.60., (Circular Instituto Agrônômico do Paraná 53), Londrina: IAPAR, 1988.

ALMEIDA G.D.,ZUCOLOTOZ M., ZETUN M.C., **Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos**; Rev.Fac.Nal.Agr.Medellin, v.61, p.4237-4247, 2008

ALVES,C.A.;**Interações alelopáticas entre plantas daninhas e hortaliças**; Simpósio “Manejo integrado de plantas daninhas em hortaliças”, Botucatu, p.19-43, 1992.

AMOO S.O, OJO A.U., STADEN J.V., **Allelopathic potential of Tetrapleura tetraptera leaf extracts on early seedling growth of five agricultural crops**; South African Journal of Botany, v.74, p.149–152, 2007

ARMAS E.D., MONTEIRO R.T.R., ANTUNES P.M., SANTOS M.A.P.F., CAMARGO P.B., **Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do rio Corumbataí e principais afluentes**; Embrapa meio ambiente, 2007

ARAÚJO A.J.,LIMA J.S., MOREIRA J.C., JACOB S.C., SOARES M.O., MONTEIRO M.C., AMARAL A.M., KUBOTA A., MEYER A., COSENZA C.A.N., NEVES C., MARKOWITZ S., **Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais,Nova Friburgo, RJ**; Ciência & Saúde Coletiva, v.12,p.115-130, 2007

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

BASTIDA A.de J. Oliberos; El fenómeno alelopático.**El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en La búsqueda de herbicidas**, Química Viva, v.7, n.001, p. 2-34, 2008

BATISH D.R., SINGH H.P., KOHLI R.K., KAUR S., **Eucalyptus essential oil as a natural pesticide**, Forest Ecology and Management, v.256, p.2166–2174, 2008

BOGATEK R., GNIAZDOWSK A., ZAKRZEWSKA S.W., **Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth**; Biologia Plantarum, v.50, n.1, p.156-158, 2006

BUCHANAN B. B., GRUISSEM W., JONES R.L., **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**, American Society of Plant Physiologists, 3<sup>a</sup> ed., 2001

CARMO F.M.S., BORGES E.E.de L., TAKAKI, M., **Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer)**; Acta bot. bras., v.21, p. 697-705, 2007

CELIS A., MENDONZA C., PACHÓN M., CARDONA J., DELGADO W., CUCA L.E., **Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión**; Agronomía Colombiana, v.26, p.97-106, 2008

CORREA, Pio; **Dicionário das plantas úteis do Brasil**, v.4, p.97, 1984

CHOU, Chang-Hung; **Roles of allelopathy in Plant Biodiversity and Sustainable Agriculture**; critical reviews in Plant Sciences, v.18, p.609-636, 1999

CORRÊA L.R., SOARES G.L.G, FETT-NETO A.G., **Allelopathic potential of Psychotria leiocarpa, a dominant understorey species of subtropical forests**; South African Journal of Botany, v.74, p.583–590, 2008

CORREIA S.J., DAVID J.P., DAVID J.M., **Metabólitos secundários de espécies de *Ana cardiaceae***; Quim. Nova, Revisão, v.29, p.1287-1300, 2006

DIAS L.S.& DIAS A.S., **Metabólitos secundários como fontes de bioherbicidas: situação actual e perspectivas**; Chemical Ecology Unit, Centro de Ecologia e Ambiente, Universidade de Évora, p.510, 2006

DING J., XIAO C.L., SHI K., ZHOU Y.H., YU J.Q., **Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf gourd plants to cinnamic acid**; Journal of Experimental Botany, v. 58, n.13, p. 3765-3773, 2007

DINIZ S.P.S.S.,UTUMI H., BONZANINI F., BUENO M.S., **Bioatividade de plantas medicinais no controle de *Sclerotinia isolado de Stevia rebaudiana*(Bert.) Bertoni**; Revista Brasileira de Plantas Medicinai.,v.7, n.2, p.22-25, 2005

DUCCA F.,ZONETTI P.C.,**Efeito alelopático do extrato aquoso de aveia preta (*avena strigosa Schreb.*) na germinação e desenvolvimento de soja (*Glycine Max L.Merril*)**; Revista em agronegócios e meio ambiente, v.1, n.1, p.101-109, 2008

DUKE S.P., ABBAS H., **Natural products with potential use as herbicides**; American Chemical Society, Symposium Series, p.348-362, 1995

EINHELLIG, Frank A.; **Allelopathy: Current Status and Future Goals**; in Inderjit, K. M. M.Dakshini, and F. A. Einhellig, ed. Allelopathy, organisms, processes, and applications. Washington, American Chemical Society, p.1-24, 1995

EINHELLIG F.A.,**Mechanisms and modes of action of allelochemicals**; The science of allelopathy, 1ª ed., New York, p.171-188, 1986

EINHELLIG, F.A. and G.R. Leather., **Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production.**; J.Chem. Ecol., v.14, p.1829-1844, 1998

EMBRAPA; <http://www.cnpa.embrapa.br/produtosalgodaopublicacoestrabalhos>; acesso em: 15/02/2009

FERREIRA M.C., SOUZA J.R., FARIAS T.J., **Potenciação alelopática de extratos vegetais na germinação e no crescimento inicial de picão-preto e alface**; Ciênc. agrotec., Lavras, v.31, n. , p.1054-1060, 2007

FERREIRA A.F., SILVA A.A., FERREIRA L.R., **Mecanismo de ação dos herbicidas**, publicações Embrapa, disponível em [http: www.cnpa.embrapa.br/ produtos algodão publicações trabalhos \\_cba5336.pdf](http://www.cnpa.embrapa.br/ produtos algodão publicações trabalhos _cba5336.pdf); acesso em:15/03/2009

FRITZ D., BERNARDI A.P., HAAS J.S., ASCOLI B.M., BORDIGNON A.L., POSER G., **Germination and growth inhibitory effects of *Hypericummyrianthum* and *H. polyanthemum* extracts on *Lactuca sativa* L.**; Brazilian Journal of Pharmacognosy v.17, n.1, p.44-48, 2007

GOVIN; E.S. e colaboradores; < disponível em: [www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9-01-04/pla03104.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9-01-04/pla03104.htm)>acesso em: 10/12/2005

GUIA RURAL: **Ervas e temperos**, ed. Abril, edição especial, p.170, 1991

HAN,C.,PAN K.,WANG J.,LI W.; **Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive**, Science Direct, p.330-336, 2008

HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G., AGUILAR, M. I., KING-DIAZ, B., LOTINA-HENNSEN, B. ;**Inhibition of photosystem II in spinach chloroplasts by trachyloban-19-oic acid**. Pesticide Biochemistry and Physiology, v.77, p.12-17, 2003

HERNÁNDEZ-TERRONES, M. G., MORAIS, S. A. L., NASCIMENTO, E. A., ROBERTO, C., FERREIRA, S. J., SANTOS, D. Q. ; **Estudo fitoquímico e alelopático do extrato de caule de *Pterodon emarginatus* (sucupira branca)**. Planta Daninha, v. 25, p. 755-762,2007

JAVAID A., ANJUM T., **Control of *Parthenium Hysterophorus L.*, by aqueous extracts of allelopathic grasses**;Pak. J. Bot., v.38, p.139-145, 2006.

KARBAN R., **Experimental clipping of sagebrush inhibits seed germination of neighbours**, Ecology Letters, v.10, p. 91–797, 2007

KILINC O., REYNAUD S., PEREZ L., TISSUT M., RAVANEL P., **Physiological and biochemical modes of action of the diphenylether aclonifen**; Pesticide Biochemistry and Physiology, v.93, p.65-71, 2009

KOGAN, M.; PÉREZ JONES, A.; **Herbicidas - Fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción.**; Ediciones Universidad Católica de Chile, 2003.

KRUSE N.D., VIDAL R. A., TREZZI M.M., **Ultrastructural modifications in sunflower (*Helianthus annuus* L.) chloroplasts resulting from the mixture of the herbicides metribuzin and clomazone**; Journal of Food, Agriculture & Environment v.4, p.175-179, 2006

MACHADO R.F., BARROS A.C.S.A., ZIMMER P.D., AMARAL A.S., **Reflexos do mecanismo de ação de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes e na atividade enzimática de plântulas de arroz**; Revista Brasileira de Sementes, v.8, p.151-160, 2006

MATOS; F.J. Abreu; **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**; 1ª ed.: UFC; 1997

MELOS L.R., SILVA L.B., PERES M.T.L.P., MAPELI A.M., FACCENDA O., ANJOS H., TORREA T.G., TIVIROLI S.C., BATISTA A.L., ALMEIDA G.N., FLAUZINO N.S., TIBANA L.A., HESS S.C., HONDA N.K.; **Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum tetraphyllum***, Quim. Nova, v. 30, n.2, p.292-297, 2007

MIRANDA A.C., MOREIRA J.C., CARVALHO R., PERES F., **Neoliberalismo, uso de agrotóxicos e a crise da soberania alimentar no Brasil**; Ciência & Saúde Coletiva, v.12, n.1, p.7-14, 2007

MOREIRAS A.M., PEÑA T.C., REIGOSA M.J., **The natural compound benzoxazolin-2(3H)-one selectively retards cell cycle in lettuce root meristems**; Phytochemistry, v.69, p.2172-2179, 2008



MULLER C., CHAGAS F.F., PERES M.T.L.P, HESS S.C., FACCENDA O., DALOSOS S., **Potencial fitotóxico de algumas espécies *Gleicheniaceae* sobre *Allium cepa* L.**; Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v.5, p.45-47, 2007

MULLER C.H., **The role of chemical inhibition (allelopathy) in vegetation competition**, Bulletin of the club, v.5, p.51-322, 1966

OLIVEIRA D.C., CHRISTIANO J.C.S., SOARES G.L.G., ISAIAS R.M.S., **Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawf. (Hemiptera: Psyllidae)**; Revista Brasil. Bot., v.29, n.4, p.657-667, 2006

OLIVEIRA J.L.T.M., DINIZ M.F.M., LIMA E.O., SOUZA E.L., TRAJANO V.N., SANTOS B.H.C., **Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. Essential oils in Inhibiting the Growth of Bacterial Strains Isolated from the Patients with Conjunctivitis**; Brazilian Archives of biology and technology in an international journal, v.52, n.1, p.45-50, 2009

PASTRE R., MARINHO A.M.R., FILHO E.R., **Diversidade de policetídeos produzidos por espécies de *Penicillium* isoladas de *Melia azedarach* e *Murraya paniculata***; Química Nova, v.30, n.8, p.1867-1871, 2007

PERES, L.P., 2005-USP: <http://www.ceagri.usp.br/lazaropp/FisioVegeGradBio/Met.Sec.pdf+lazaropp+metabolismo+secund%C3%A1rio&hl=pt-Br> acesso em: 10/12/2005

Plantas que curam: **A natureza a serviço de sua saúde**: S.P.: Três livros e fascículos; para língua portuguesa, Copyright, 1996

POVH J.A., PINTO D.D., CORRÊA M.O.G., ONO E.O., **Atividade alelopática de *Machaerium acutifolium* Vog. na germinação de *Lactuca sativa* L.** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v.5, supl.2, p. 447-449, 2007

PRINCE E.K.,MYERS T. L., **Effects of harmful algal blooms on competitors: Allelopathic mechanisms of the red tide dinoflagellate *Karenia brevis***; American Society of Limnology and Oceanography, v.53, p.531–541, 2008

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

PUTNAM A.R., **Allelopathic Chemicals**,C&EN, Special Report, 1983

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

RECTOR B.G,**Molecular biology approaches to control of intractable weeds: New strategies and complements to existing biological practices**; Plant Science Review, v.175, p. 437-448, 2008

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.

RICE,E.L., **Allelopathy**, Academic Press, p.423, New York, 1974

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.

ROZWALKAI L.C., LIMA M.L.R.C.,NAKASHIMA L.L.M.M.T., **Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba**; Ciência Rural,, v.38, n.2, 2008.

SIMÕES C.M.O., SCHENKEL E.P.,GOSMANN G., MELLO J.C.P.,MENTZ L.A., PETROVICK P.R., **Farmacognosia da planta ao medicamento**, UFSC,2ªed.,2000

VIEIRA R. F.; COSTA T.S.A.;SILVA D.B., FERREIRA F.R.;SANO S.M., **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Brasília, 2006

VYVYAN J.R., **Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals**; Tetrahedron, v.58, p.1631-1646, 2001

WAGNER S.B.H., ZGAINSKI E.M., **Plant Drug analysis**; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York Tokyo, 1984

YUNES; Rosendo Augusto e colaboradores; **Plantas medicinais, sob a ótica da química medicinal moderna**:Universidade Argos, 2001

**APÊNDICE – Espectros de massa obtidos a partir dos extratos das folhas e caule de *Origanum majorana L.*, em diclorometano**

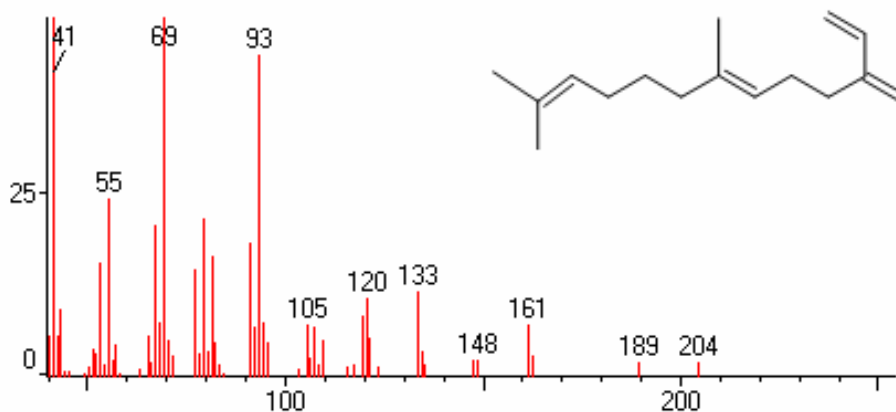


Figura Ia- Espectro da amostra referente ao beta farneseno, pico 1 do cromatograma do extrato das folhas de *Origanum majorana L.* (figura 16), no tempo de retenção 28,7.

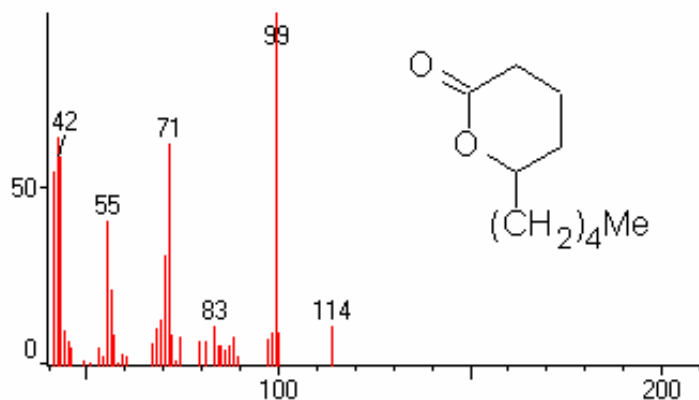


Figura Ib- Espectro da amostra referente a delta-decalactona, pico 2 do cromatograma do extrato das folhas de *Origanum majorana L.* (figura 16), no tempo de retenção 36,95.

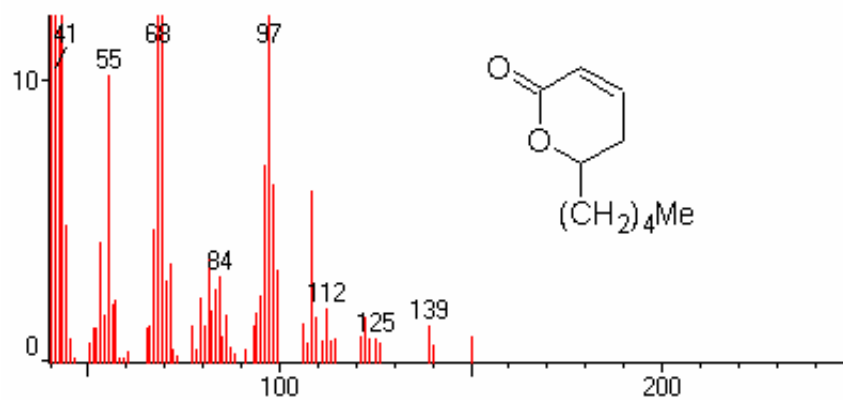


Figura Ic- Espectro da amostra referente a lactona do ácido 5-hidróxi-2-decenóico, pico 3 do cromatograma do extrato das folhas de *Origanum majorana L.* (figura 16), no tempo de retenção 37,60.

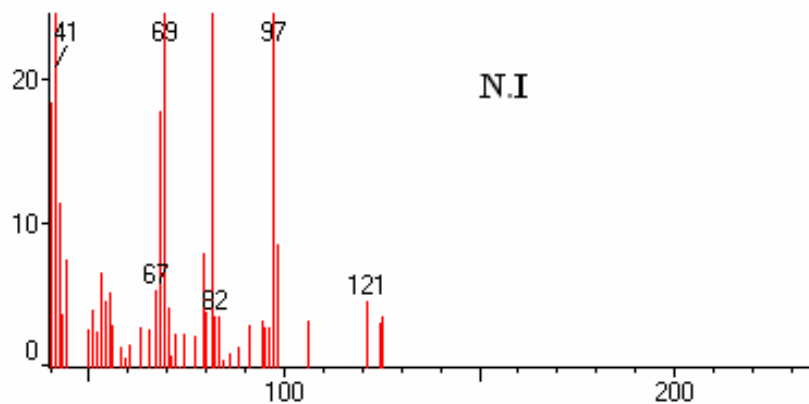


Figura Id- Espectro da amostra referente ao composto não identificado, pico 4 do cromatograma do extrato das folhas de *Origanum majorana L.* (figura 17), no tempo de retenção 38,65.

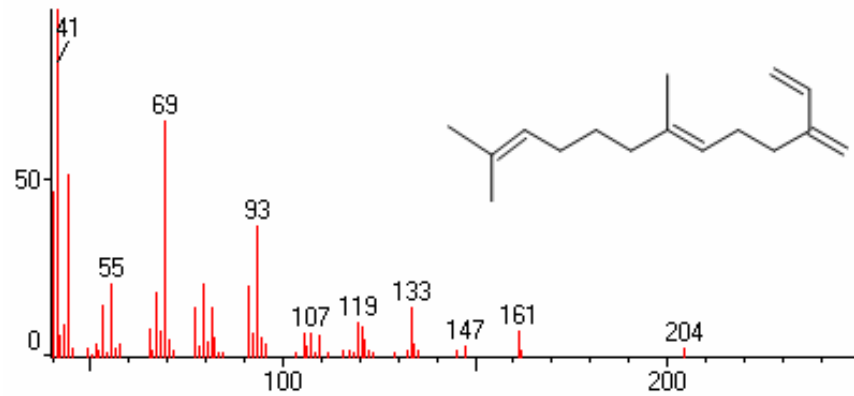


Figura Ie- Espectro da amostra referente ao beta farneseno, pico 1 do cromatograma do extrato do caule de *Origanum majorana L.* (figura 17), no tempo de retenção 28,7.

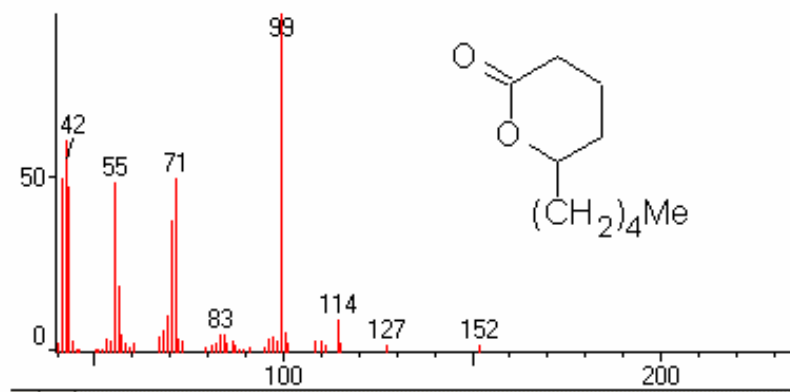


Figura If- Cromatograma da amostra referente a delta-decalactona, pico 2 do cromatograma do extrato do caule de *Origanum majorana L.* (figura 17), no tempo de retenção 36,95.

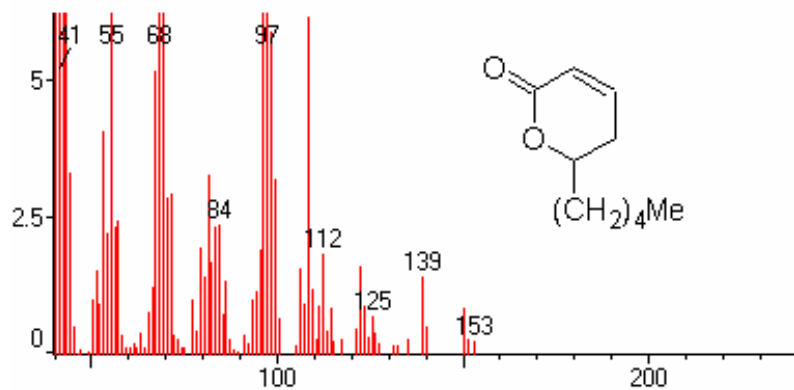


Figura Ig- Espectro da amostra referente a lactona do ácido 5-hidróxi-2-decenóico, pico 3 do cromatograma do extrato do caule de *Origanum majorana L.* (figura 17), no tempo de retenção 37,60.

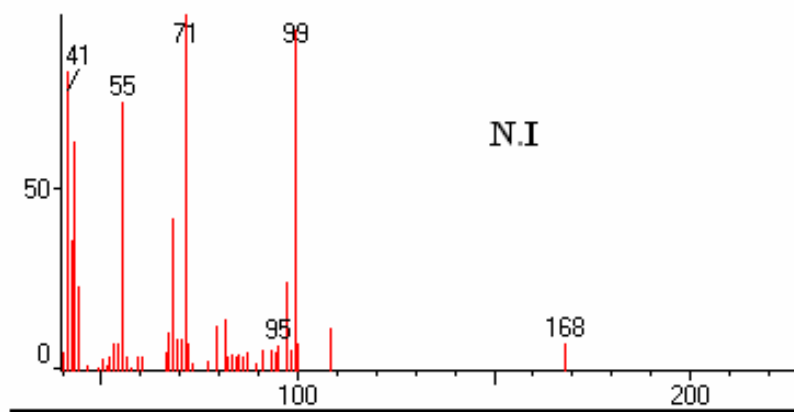


Figura Ih- Espectro da amostra referente ao composto não identificado, pico 4 do cromatograma do extrato do caule de *Origanum majorana L.* (figura 17), no tempo de retenção 38,0.

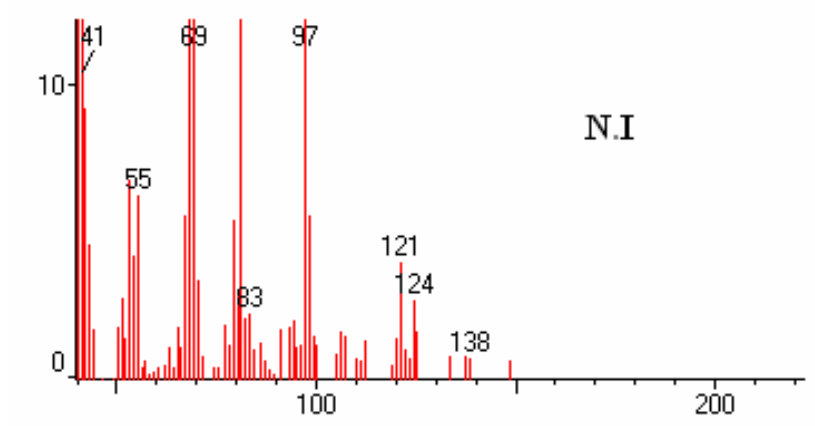


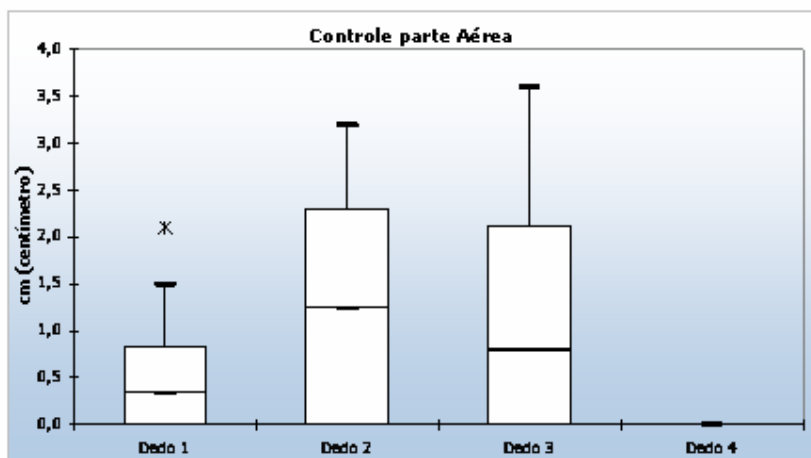
Figura I i- Espectro da amostra referente ao composto não identificado, pico 5 do cromatograma do extrato do caule de *Origanum majorana L.* (figura 17), no tempo de retenção 38,65.



## ANEXO I-Tratamento estatístico dos dados

- Gráfico Box Plot do Controle (Branco) parte aérea

Chart Settings	
<b>Título</b>	Controle parte Aérea
<b>Y</b>	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	1,5	3,2	3,6	
Med	0,4	1,3	0,8	

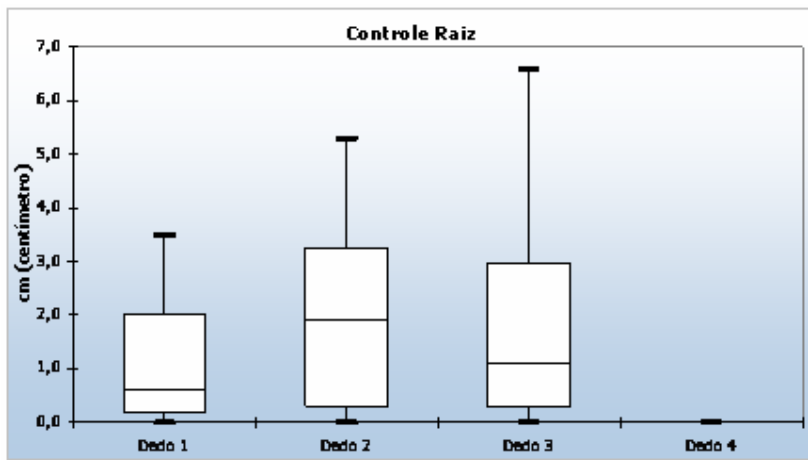
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,4	1,3	0,8		IQR - Outliersm - análise			1,5
Q3	0,8	2,3	2,1		IQR	1,2	3,5	3,2
A. Máx	2,1	3,2	3,6	0,0	Mín	-1,2	-3,5	-3,2
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	2,1	5,8	5,3

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	1 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	2,1			
2				
3				
4				

Conclusão: Pela análise do gráfico identificamos um outlier na primeira gerbox, o ponto 2,1, e nota-se que a gerbox 2 e 3 apresentam maior dispersão.

- Gráfico Box Plot do Controle (Branco) raiz

Chart Settings	
<b>Título</b>	Controle Raiz
<b>Y</b>	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,2	0,3	0,3	
Mín	0,0	0,0	0,0	0,0
Máx	3,5	5,3	6,6	
Med	0,6	1,9	1,1	

Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,6	1,9	1,1		IQR - Outliersm - análise			1,5
Q3	2,0	3,3	3,0		IQR	2,8	4,4	4,1
A. Máx	3,5	5,3	6,6	0,0	Mín	-2,6	-4,1	-3,8
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	4,8	7,7	7,0

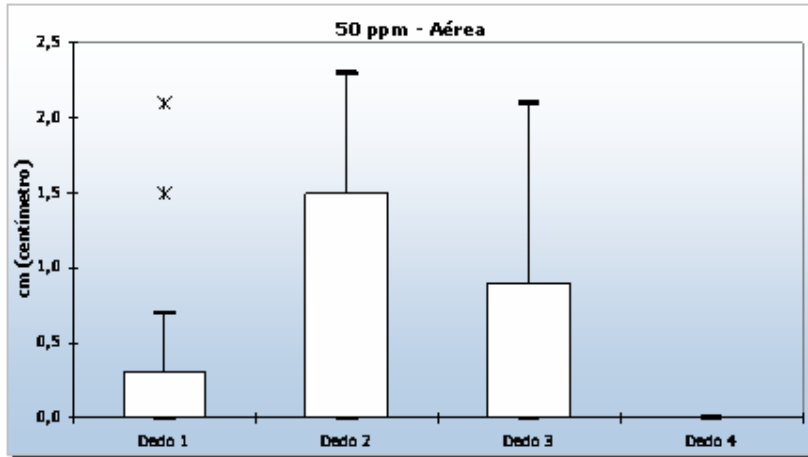
Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1				
2				
3				
4				

Conclusão: Pela análise do gráfico não identificamos outlier e a gerbox 2 apresenta maior dispersão.

### Parte da Planta estudada – Raiz

- Gráfico Box Plot – 50 ppm parte aérea

Chart Settings	
<b>Título</b>	50 ppm - Aérea
<b>Y</b>	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	0,7	2,3	2,1	
Med	0,0	0,0	0,0	

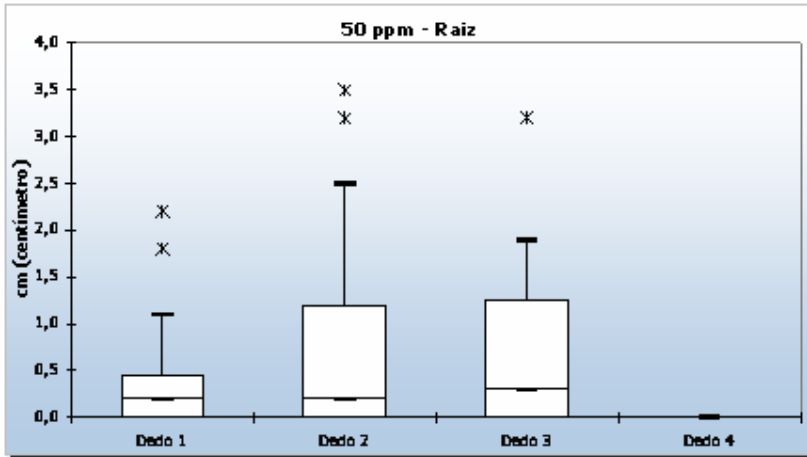
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise			1,5
Q3	0,3	1,5	0,9		IQR	0,5	2,3	1,4
A. Máx	2,1	2,3	2,1	0,0	Mín	-0,5	-2,3	-1,4
A. Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,8	3,8	2,3

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	2 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	2,1			
2	1,5			
3				
4				

Conclusão: Pela análise do gráfico temos dois outliers na gerbox 1, os pontos 2,1 e 1,5. Sendo que esta apresenta menor dispersão dos dados com relação a gerbox 2 e 3.

- Gráfico Box Plot – 50 ppm parte raiz

Chart Settings	
<b>Título</b>	50 ppm - Raiz
<b>Y</b>	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	1,1	2,5	1,9	
Med	0,2	0,2	0,3	

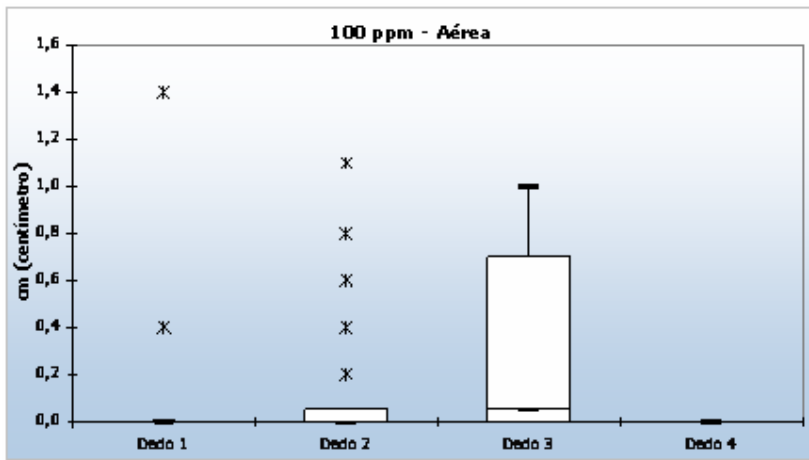
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,2	0,2	0,3		IQR - Outliersm - análise			1,5
Q3	0,5	1,2	1,3		IQR	0,7	1,8	1,9
A. Máx	2,2	3,5	3,2	0,0	Mín	-0,7	-1,8	-1,9
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	1,1	3,0	3,1

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	2 Outlier(s)	2 Outlier(s)	1 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	2,2	3,5	3,2	
2	1,8	3,2		
3				
4				

Conclusão: Temos outliers na gerbox 1 (pontos 1,8 e 2,2), na gerbox 2 (pontos 3,5 e 3,2) e na gerbox 3 o ponto 3,2.

Gráfico Box Plot – 100 ppm parte aérea

Chart Settings	
Título	100 ppm - Aérea
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx			1,0	
Med	0,0	0,0	0,1	

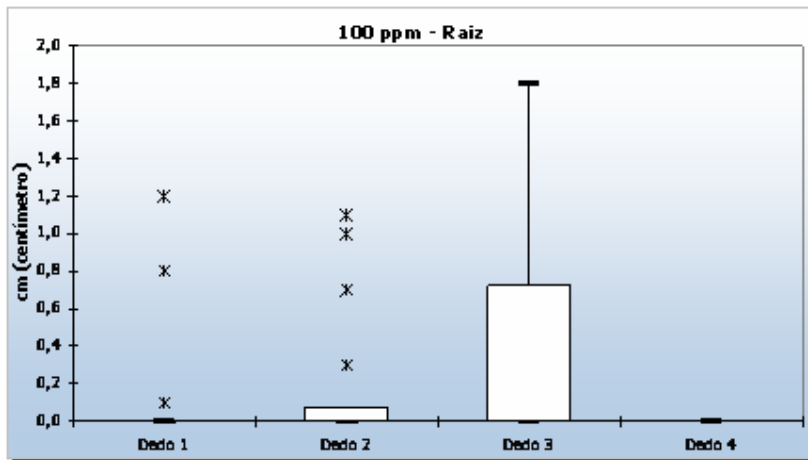
Auxiliares para análise do Box Plot									
Med	0,0	0,0	0,1		IQR - Outliersm - análise				1,5
Q3	0,0	0,1	0,7		IQR	0,0	0,1	1,1	
A. Máx	1,4	1,1	1,0	0,0	Mín	0,0	-0,1	-1,1	
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,0	0,1	1,8	

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	2 Outlier(s)	5 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	1,4	1,1		
2	0,4	0,8		
3		0,6		
4		0,4		
5		0,2		

Conclusão: Na gerbox 1 temos os pontos 0,4 e 1,4 como outliers. Na gerbox 2 temos os pontos 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1,1.

- Gráfico Box Plot – 100 ppm raiz

Chart Settings	
Título	100 ppm - Raiz
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx			1,8	
Med	0,0	0,0	0,0	

Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise			1,5
Q3	0,0	0,1	0,7		IQR	0,0	0,1	1,1
A. Máx	1,2	1,1	1,8	0,0	Mín	0,0	-0,1	-1,1
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,0	0,2	1,8

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	3 Outlier(s)	5 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	1,2	1,1		
2	0,8	1,0		
3	0,1	0,7		
4		0,7		
5		0,3		

Conclusão: Na gerbox 1 temos três outliers (0,1, 0,8 e 1,2) e na gerbox 2 temos cinco (1,1, 1,0, 0,7, 0,7 e 0,3)

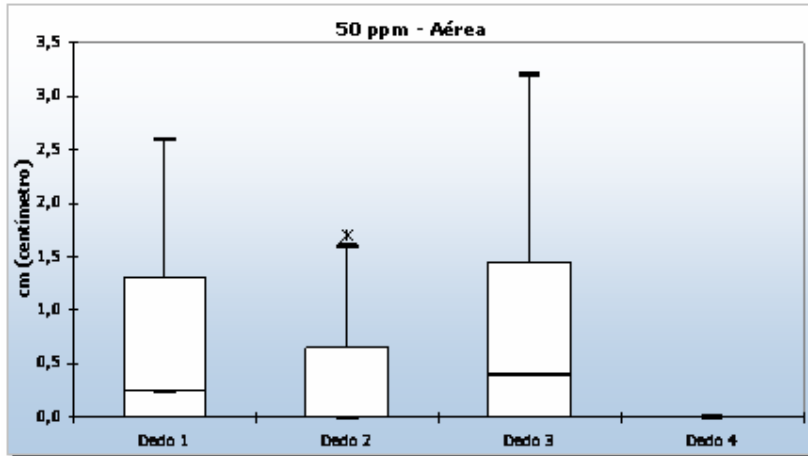
- Gráfico Box Plot – 200 ppm raiz e parte aérea

Não existe outliers.

## Parte da Planta estudada – Caule

- Gráfico Box Plot – 50 ppm parte aérea

Chart Settings	
<b>Título</b>	50 ppm - Aérea
<b>Y</b>	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	2,6	1,6	3,2	
Med	0,3	0,0	0,4	

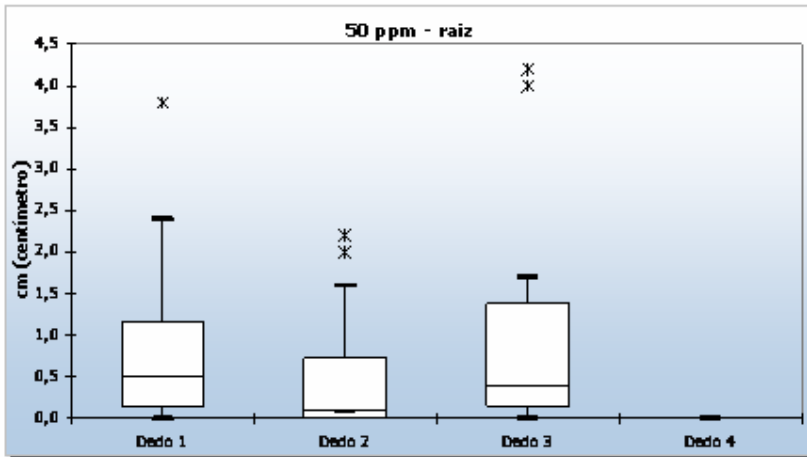
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,3	0,0	0,4		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	1,3	0,7	1,5		IQR	2,0	1,0	2,2
A. Máx	2,6	1,7	3,2	0,0	Mín	-2,0	-1,0	-2,2
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	3,3	1,6	3,6

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	0 Outlier(s)	2 Outlier(s)	0 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1		1,7		
2		1,7		
3				
4				

Conclusão: Os pontos 1,7 na gerbox 2 são outliers.

- Gráfico Box Plot – 50 ppm raiz

Chart Settings	
<b>Título</b>	50 ppm - raiz
<b>Y</b>	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,2	0,0	0,2	
Mín	0,0		0,0	0,0
Máx	2,4	1,6	1,7	
Med	0,5	0,1	0,4	

Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,5	0,1	0,4		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	1,2	0,7	1,4		IQR	1,5	1,1	1,8
A. Máx	3,8	2,2	4,2	0,0	Mín	-1,4	-1,1	-1,7
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	2,7	1,8	3,2

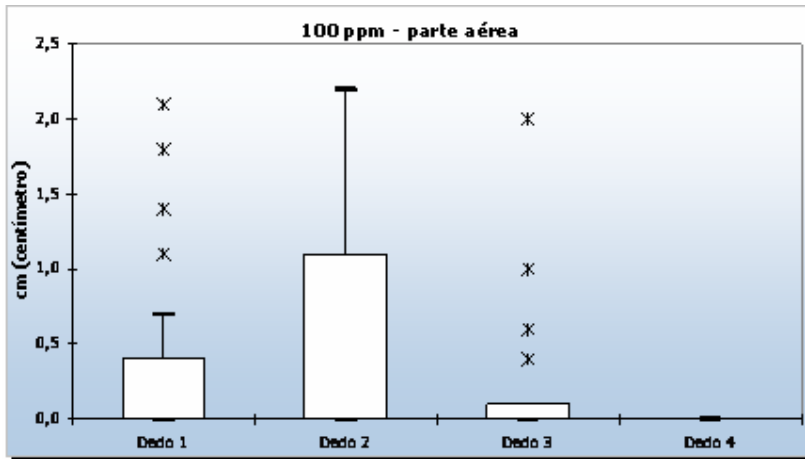
Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	1 Outlier(s)	2 Outlier(s)	2 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	3,8	2,2	4,2	
2		2,0	4,0	
3				
4				

Conclusão: Na gerbox 1 (3,8), na gerbox 2 (2,0 e 2,2) e na gerbox 3 (4,2 e 4,0).

- Gráfico Box Plot – 100 ppm parte aérea

Chart Settings	
Título	100 ppm - parte aérea
Y	cm (centímetro)





Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	0,7	2,2		
Med	0,0	0,0	0,0	

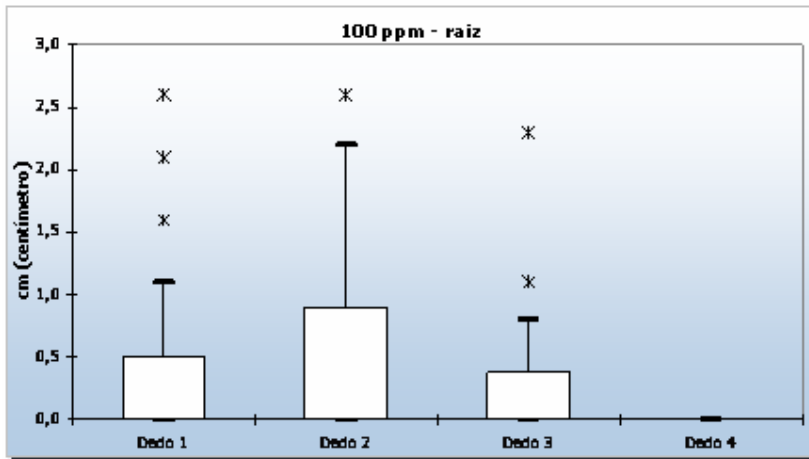
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,4	1,1	0,1		IQR	0,6	1,7	0,2
A. Máx	2,1	2,2	2,0	0,0	Mín	-0,6	-1,7	-0,2
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	1,0	2,8	0,3

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	4 Outlier(s)	0 Outlier(s)	5 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	2,1		2,0	
2	1,8		1,0	
3	1,4		0,6	
4	1,1		0,4	
5			0,4	

Conclusão: Outliers 2,1, 1,8, 1,4 e 1,1 na gerbox 1 e 2,0, 1,0, 0,6, 0,4 e 0,4 na gerbox 3.

- Gráfico Box Plot – 100 ppm raiz

Chart Settings	
Título	100 ppm - raiz
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	1,1	2,2	0,8	
Med	0,0	0,0	0,0	

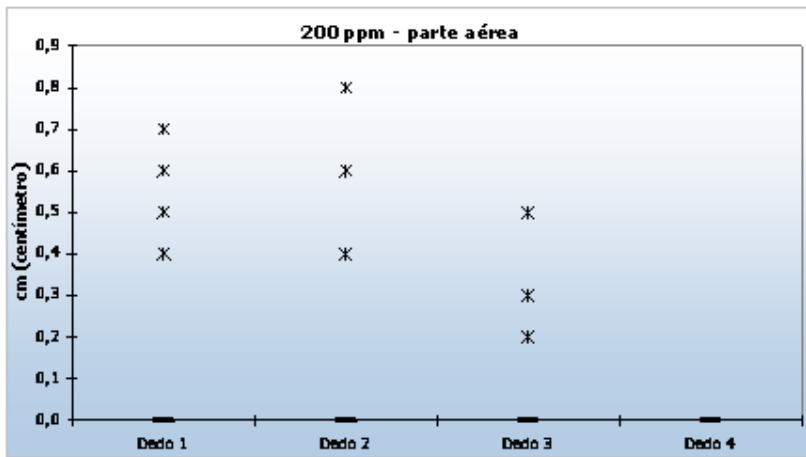
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,5	0,9	0,4		IQR	0,8	1,4	0,6
A. Máx	2,6	2,6	2,3	0,0	Mín	-0,8	-1,4	-0,6
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	1,3	2,3	0,9

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	3 Outlier(s)	1 Outlier(s)	2 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	2,6	2,6	2,3	
2	2,1		1,1	
3	1,6			
4				

Conclusão: 2,6, 2,1 e 1,6 são outliers na gerbox 1. Na gerbox 2 é o 2,6 e na gerbox 3 temos 1,1 e 2,3.

- Gráfico Box Plot – 200 ppm parte aérea

Chart Settings	
Título	200 ppm - parte aérea
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx				
Med	0,0	0,0	0,0	

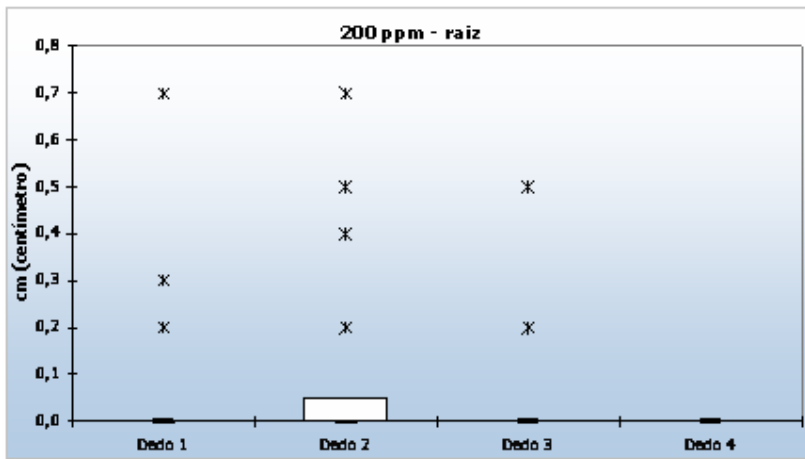
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,0	0,0	0,0		IQR	0,0	0,0	0,0
A. Máx	0,7	0,8	0,5	0,0	Mín	0,0	0,0	0,0
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,0	0,0	0,0

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	4 Outlier(s)	3 Outlier(s)	3 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	0,7	0,8	0,5	
2	0,6	0,6	0,3	
3	0,5	0,4	0,2	
4	0,4			
5				

Conclusão: Todos são outliers.

- Gráfico Box Plot – 200 ppm raiz

Chart Settings	
Título	200 ppm - raiz
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx				
Med	0,0	0,0	0,0	

Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,0	0,1	0,0		IQR	0,0	0,1	0,0
A. Máx	0,7	0,7	0,5	0,0	Mín	0,0	-0,1	0,0
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,0	0,1	0,0

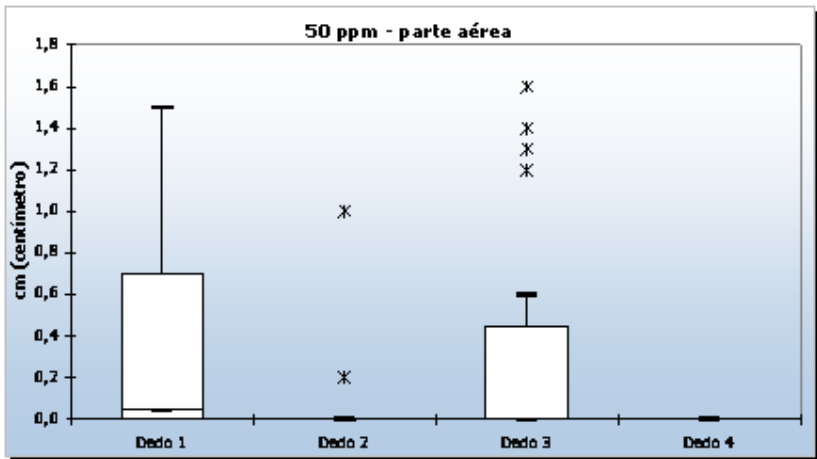
Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	4 Outlier(s)	5 Outlier(s)	2 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	0,7	0,7	0,5	
2	0,3	0,5	0,2	
3	0,2	0,4		
4	0,2	0,2		
5		0,2		

Conclusão: Todos são outliers.

## Parte da Planta estudada – Folha

- Gráfico Box Plot – 50 ppm parte aérea

Chart Settings	
Título	50 ppm - parte aérea
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	1,5		0,6	
Med	0,1	0,0	0,0	

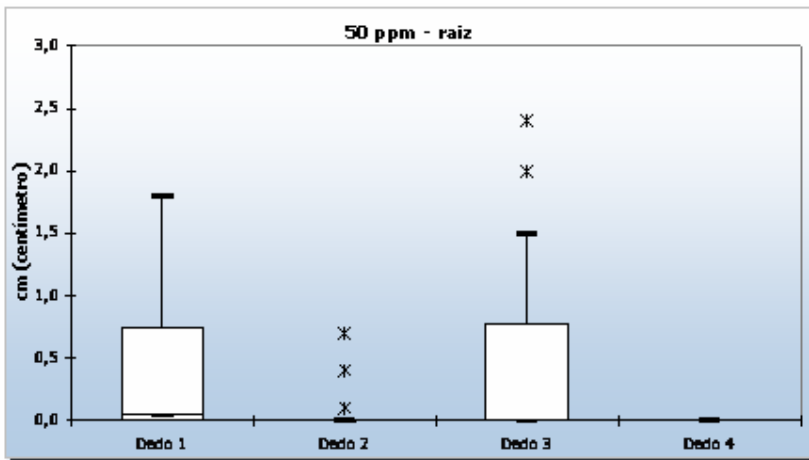
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,1	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,7	0,0	0,5		IQR	1,1	0,0	0,7
A. Máx	1,5	1,0	1,6	0,0	Mín	-1,1	0,0	-0,7
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	1,8	0,0	1,1

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	0 Outlier(s)	3 Outlier(s)	4 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1		1,0	1,6	
2		0,2	1,4	
3		0,2	1,3	
4			1,2	
5				

Conclusão: Na gerbox 2 temos os outliers 0,2 e 1,0, já na gerbox 3 temos 1,2, 1,3, 1,4 e 1,6.

- Gráfico Box Plot – 50 ppm raiz

Chart Settings	
Título	50 ppm - raiz
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx	1,8		1,5	
Med	0,1	0,0	0,0	

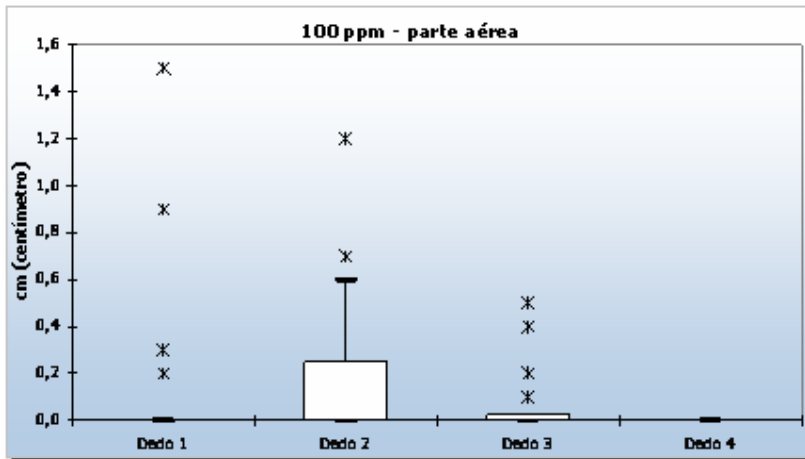
Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,1	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,8	0,0	0,8		IQR	1,1	0,0	1,2
A. Máx	1,8	0,7	2,4	0,0	Mín	-1,1	0,0	-1,2
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	1,9	0,0	1,9

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	0 Outlier(s)	3 Outlier(s)	2 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1		0,7	2,4	
2		0,4	2,0	
3		0,1		
4				

Conclusão: Na gerbox 2 temos os outliers 0,7, 0,4 e 0,1, já na gerbox 3 temos 2,4 e 2,0.

- Gráfico Box Plot – 100 ppm parte aérea

Chart Settings	
Título	100 ppm - parte aérea
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx		0,6		
Med	0,0	0,0	0,0	

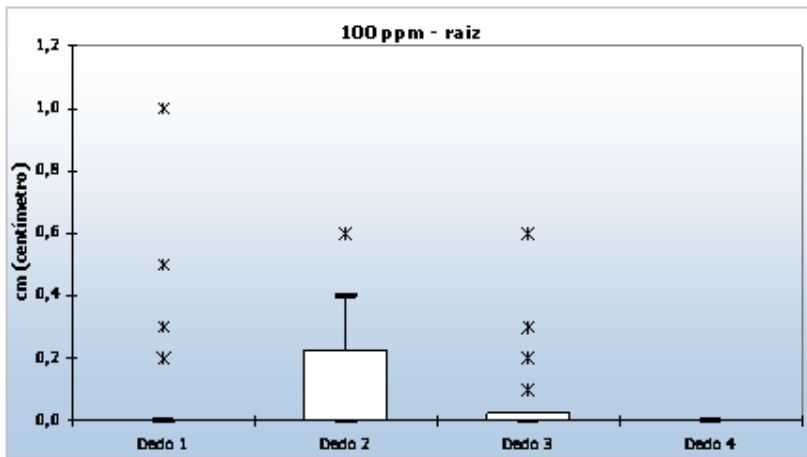
Auxiliares para análise do Box Plot						
Med	0,0	0,0	0,0		<b>IQR - Outliersm - análise</b>	<b>1,5</b>
Q3	0,0	0,3	0,0		IQR	0,0
A. Máx	1,5	1,2	0,5	0,0	Mín	-0,4
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,6

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	4 Outlier(s)	2 Outlier(s)	5 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	1,5	1,2	0,5	
2	0,9	0,7	0,5	
3	0,3		0,4	
4	0,2		0,2	
5			0,1	

Conclusão: Na gerbox 1 (1,5, 0,9, 0,3 e 0,2), na gerbox 2 (1,2 e 0,7) e na gerbox 3 (0,1, 0,2, 0,4 e 0,5).

- Gráfico Box Plot – 100 ppm raiz

Chart Settings	
Título	100 ppm - raiz
Y	cm (centímetro)



Box Plot - análise				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Q1	0,0	0,0	0,0	
Mín				0,0
Máx		0,4		
Med	0,0	0,0	0,0	

Auxiliares para análise do Box Plot								
Med	0,0	0,0	0,0		IQR - Outliersm - análise		1,5	
Q3	0,0	0,2	0,0		IQR	0,0	0,3	0,0
A. Máx	1,0	0,6	0,6	0,0	Mín	0,0	-0,3	0,0
A.Mín	0,0	0,0	0,0	0,0	Máx	0,0	0,6	0,1

Outliers (até 10)				
	Dado 1	Dado 2	Dado 3	Dado 4
Tot.	4 Outlier(s)	1 Outlier(s)	5 Outlier(s)	0 Outlier(s)
1	1,0	0,6	0,6	
2	0,5		0,3	
3	0,3		0,3	
4	0,2		0,2	
5			0,1	

Conclusão: Na gerbox 1 (1,0, 0,5, 0,3 e 0,2), na gerbox 2 (0,6) e na gerbox 3 (0,1, 0,2, 0,3 e 0,6).

- Gráfico Box Plot – 200 ppm raiz e parte aérea

Não existe outliers.