

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS
QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS**

TALITA DALBOSCO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DOS EXTRATOS
FOLIARES BRUTOS DO CAPIM-ANNONI-2 (*Eragrostis plana* Nees) E
ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2013

TALITA DALBOSCO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DOS EXTRATOS
FOLIARES BRUTOS DO CAPIM-ANNONI-2 (*Eragrostis plana* Nees) E
ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco.

Orientadora: Sirlei Dias Teixeira
Coorientadora: Beatriz Helena L. N. S. Maia

PATO BRANCO

2013

DALBOSCO, T. **Avaliação do potencial alelopático dos extratos foliares brutos do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) e estudo do óleo essencial.** 2013. 104 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal de Paraná, Pato Branco, 2014.

ERRATA

Folha	Citação no trabalho	Citação correta
35	SCHEFFER-BASSO et al., 2012	NASCIMENTO & HALL, 1978; ABICHEQUER et al., 2009 apud SCHEFFER-BASSO et al., 2012.
36	SCHEFFER-BASSO et al., 2012	MEDEIROS & FOCHT, 2007 apud SCHEFFER-BASSO et al., 2012.

Folha	Onde se lê	Leia-se
37	Parágrafo 03: <i>E. plana</i> Nees, apresenta constantes renovações(...), sendo o controle mecânico um método alternativo para minimizar sua ocorrência. (SCHEFFER-BASSO et al., 2012).	Sem Efeito – retirada da dissertação.
38	Esta espécie ativa os mecanismos de crescimento, inibindo a germinação e o crescimento inicial de outras espécies vizinha (SCHEFFER-BASSO et al., 2012).	Sem Efeito – retirada da dissertação.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Câmpus Pato Branco
 Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
 Processos Químicos e Bioquímicos



TERMO DE APROVAÇÃO Nº 7

Título da Dissertação

Capim Annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) – Avaliação do Potencial Alelopático dos Extratos Foliare Brutos e Estudo do Óleo Essencial

Autor

Talita Dalbosco

Esta dissertação foi apresentada às 8 horas e 30 minutos do dia 06 de novembro de 2013, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS – Linha de Pesquisa Biotecnologia – no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. O autor foi arguido pela Banca Examinadora abaixo assinada, a qual, após deliberação, considerou o trabalho aprovado.

Prof.ª Dra. Sirlei Dias Teixeira – UTFPR
 Orientadora

Prof. Dr. Michelangelo Muzelli Trezzi - UTFPR
 Examinador

Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima – UTFPR
 Examinador

Visto da Coordenação

Prof.ª Dra. Raquel Dalla Costa da Rocha
 Coordenadora do PPGTP

Prof.ª Dra. Raquel Dalla Costa da Rocha
 Coordenadora do Programa de Mestrado
 em Tecnologia de Processos
 Químicos e Bioquímicos
 UTFPR – Câmpus Pato Branco

Dedico a minha mãe, Maria Carmen e ao meu companheiro Angelo A.
Granville Jr.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e pelo espírito de luta que em momento algum permitiu a minha desistência, me iluminando ao longo desta caminhada.

Agradeço a meus pais, Irineu e Maria Carmen, pela educação. Do fundo do meu coração, o agradecimento especial a minha Mãe e às minhas irmãs Juliana e Milene pelo incentivo, amor e dedicação, e, principalmente, por acreditarem em mim.

Especialmente, a minha professora e orientadora, Prof^ª. Dra. Sirlei Dias Teixeira, que com muita dedicação e toda a sua competência conduziu este trabalho. Obrigada por sua paciência, pelos momentos dedicados, pelos conselhos e ideias dados, pela compreensão, e principalmente, pela amizade. A coorientadora, Prof^ª. Dra. Beatriz Helena L. N. Sales Maia, pelo apoio e sugestões que propiciaram maior aprimoramento deste trabalho. A vocês, a minha gratidão.

Aos meus colegas, de Mestrado e de trabalho, e amigos, que conviveram comigo durante este percurso, vivenciando as minhas alegrias, esforços e minhas dificuldades. Obrigada, pelo companheirismo, conselhos e também pelos momentos de descontração. Aos amigos André Loregian e Elouize Xavier pela amizade e colaboração na etapa experimental deste projeto.

Ao Departamento de Agronomia da UTFPR pelo suporte para o andamento deste trabalho. Em especial, ao Prof. Dr. Michelangelo Trezzi pelas orientações, conhecimentos e colaborações vivenciadas no decorrer das atividades. Ao professor Vanderlei Aparecido de Lima, pelo apoio e suporte prestado ao estudo.

Ao meu companheiro Angelo A. Granville Junior, muito obrigada pelo amor, incentivo e compreensão nos momentos de falha e ausência. Obrigada por sempre me apoiar, acreditar e confiar em mim.

E a todos, que direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

Minha vida mudou muito nos últimos anos. Eu mudei muito nos últimos anos. Mudei sem oferecer a menor resistência. Mudei sem me surpreender com as mudanças. Elas simplesmente apareceram, aconteceram, me invadiram e se instalaram. Então, eu finalmente me senti em casa dentro de mim mesma. E hoje, mais do que nunca, sinto que não devo nada para ninguém. A gente demora demais para se livrar de pesos e culpas. Mas um dia, finalmente, a gente acorda. E descobre que tem uma vida inteirinha pela frente.

RESUMO

DALBOSCO, Talita. Avaliação do potencial alelopático dos extratos foliares brutos de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) e estudo do óleo essencial. 2013. 105 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

O capimannoni-2, *Eragrostis plana* Nees, é uma espécie vegetal africana conhecida por sua capacidade invasora e, por este motivo, classificada como planta daninha, sendo considerada a mais agressiva e de mais difícil controle nos campos sulinos. Esta espécie ativa mecanismos de inibição de crescimento e germinação de outras espécies vizinhas no fenômeno denominado alelopatia. O estudo fitoquímico de *E. plana* Nees, justifica-se por se tratar de uma espécie com suposta atividade alelopática, bem como, em função de suas características e do impacto biológico e econômico causado por ela. Com o objetivo de identificar e caracterizar moléculas bioativas e avaliar seus efeitos alelopáticos, foram realizados os experimentos. As folhas de *E. plana* Nees, foram coletadas no inverno e verão, para análise fitoquímica, e a obtenção do óleo essencial das amostras foi feita por hidrodestilação e, posteriormente, filtrados e refrigerados até a análise cromatográfica gasosa acoplada a espectrometria de massas. Para os metabólitos secundários não voláteis, o material botânico foi submetido a extração exaustiva a frio, com éter de petróleo e acetato de etila. Os extratos foram submetidos à técnica de Infravermelho. Na identificação alelopática foram utilizadas sementes da espécie *Ipomoea grandifolia* em dois bioensaios comumente realizados em estudos alelopáticos. Os testes, de germinação e alongamento de radícula e hipocótilo foram monitorados diariamente por 7 dias, em condições controladas e realizados em câmaras BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Para os dois testes foram empregados 5 doses com diferentes concentrações de cada extrato em volume de 5 mL em cada placa de Petri. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições, sendo água destilada e Tween 80 + solvente extratores como testemunhas. Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias, pelo teste de Cochran C e à análise de normalidade pelo teste de Shapiro–Wilk, com posterior análise de variância, ANOVA e teste de Tukey a 5% de significância para as variáveis homogêneas. O efeito alelopático apresentado pelas folhas de *E. plana* Nees, pode estar relacionado com os teores de terpenos observados na análise do óleo essencial, uma vez que os mesmos, possuem propriedades alelopáticas, conforme relatos da literatura. Os extratos brutos expressaram o potencial alelopático da *E. plana* Nees, interferindo no desenvolvimento da espécie receptora. A utilização destes extratos de forma direta ou como fonte de moléculas químicas, pode colaborar no desenvolvimento de novos bio-herbicidas.

Palavras chave: Alelopatia. Planta daninha. Fitoquímica. *Eragrostis plana* Nees.

ABSTRACT

DALBOSCO, Talita. Assessment of allelopathic potential of plant extracts raw lovegrass 2 (*Eragrostis plana* Nees) and study the essential oil. 2013. 105 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

The grass - 2 lovegrass , *Eragrostis plana* Nees , is an African plant species known for its invasive capacity and , therefore , classified as a weed , and is considered the most aggressive and more difficult to control in the southern fields . This species active mechanisms of inhibition of germination and growth of neighboring species in the phenomenon called allelopathy . The phytochemical study of *E. plana* Nees , is justified because it is a species with alleged allelopathic activity and, depending on its characteristics and the biological and economic impact caused by it . In order to identify and characterize bioactive molecules and evaluate their allelopathic effects , the experiments were performed . The leaves of *E. plana* Nees were collected in winter and summer , for phytochemical analysis , and obtain the essential oil sample was taken by hydrodistillation and subsequently filtered and chilled to the gas chromatographic analysis coupled with mass spectrometry . For non- volatile secondary metabolites , the plant material was subjected to exhaustive cold extraction with petroleum ether and ethyl acetate . The extracts were subjected to IR technique . In allelopathic identification seeds of *Ipomoea grandifolia* species commonly performed in two bioassays in allelopathic studies were used . The tests , germination and radicle and hypocotyl elongation were monitored daily for 7 days under controlled and conducted in chambers BOD (Biochemical Oxygen Demand) conditions . For both tests 5 doses with different concentrations of each extract volume of 5 mL in each Petri dish were used. The experimental design was completely randomized with 4 replications, with distilled water and Tween 80 + solvent extractors as witnesses . The data were submitted to variance homogeneity test, the Cochran C and analysis of normality by the Shapiro - Wilk test, with subsequent analysis of variance , ANOVA and Tukey test at 5 % significance level for the homogeneous variables. The allelopathic effect exhibited by the leaves of *E. Nees* plane can be related to the levels observed in the analysis of terpenes of essential oil , since they possess allelopathic effects , as reported in the literature. The extracts expressed the allelopathic potential of *E. plana* Nees , interfering with the development of the receiving species . The use of these extracts directly or as a source of chemical molecules , can collaborate in developing new bio - herbicides.

Keywords: Allelopathy. Weed. Phytochemistry. *Eragrostis plana* Nees

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01: Formas de liberação de aleloquímicos no ambiente.....	21
Figura 02: Métodos de avaliação alelopática.....	25
Figura 03: Principais métodos de extração de óleos essenciais.....	30
Figura 04: Aparelho de Clevenger para hidrodestilação.....	31
Figura 05: Touceira do capim-annoni-2.....	35
Figura 06: Área infestada de capim-annoni-2.....	37
Figura 07: <i>E. plana</i> Nees coletada na Área experimental da UTFPR – Câmpus de Pato Branco.....	39
Figura 08: Aparelhos de Clevenger utilizados na hidrodestilação do capim-annoni-2.....	41
Figura 09: Sementes de <i>Ipomoea grandifolia</i> utilizadas nos testes alelopáticos como espécie receptora.....	43
Figura 10: diferença de densidade, que pode ser verificada no Teste de Schardakow, entre uma solução de concentração conhecida de sacarose e uma quantidade (gota) de uma amostra qualquer, com concentração previamente estabelecida.....	45
Figura 11: Placa de Petri com as sementes receptoras.....	46
Figura 12: Cinco sementes pré-germinadas de <i>I. grandifolia</i> em contato com um tratamento.....	48
Figura 13: Sementes de <i>Ipomoea grandifolia</i> pré-germinadas em caixa Gerbox.....	48
Figura 14: Área experimental da UTFPR – Câmpus de Pato Branco – infestada por capim-annoni-2.....	50
Figura 15: Espectro do extrato de éter de petróleo/verão.....	51
Figura 16: Espectro do extrato de éter de petróleo/inverno.....	52
Figura 17: Espectro do extrato de acetato de etila/verão.....	52
Figura 18: Espectro do extrato de acetato de etila/inverno.....	52
Figura 19: Cromatograma do óleo essencial obtido de folhas de <i>E. plana</i> Nees coletadas no verão.....	54
Figura 20: Espectro de massas do Abieta-(8(14),13(15)-diene.....	56

Figura 21: Espectro de massas do Sandaracopimarinal.....	57
Figura 22: Espectro de massas do Manool 7- α -hydroxy.....	58
Figura 23: Estruturas dos componentes majoritários identificados na análise do óleo essencial.....	58
Figura 24: Regressão verificada com acetato de etila/verão – TMG X VMG.....	60
Figura 25: Regressão verificada com acetato de etila/verão – PG X IVG.....	60
Figura 26: Regressão verificada com acetato de etila/inverno – TMG X VMG.....	61
Figura 27: Regressão verificada com acetato de etila/inverno – PG X IVG.....	62
Figura 28: Regressão verificada com éter de petróleo/verão – PG X IVG.....	63
Figura 29: Regressão verificada com éter de petróleo/verão – TMG X VMG.....	63
Figura 30: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – PG X IVG.....	64
Figura 31: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – TMG X VMG.....	65
Figura 32: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – TMG X IVG.....	65
Figura 33: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – VMG X IVG.....	66
Figura 34: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X IVG.....	67
Figura 35: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X TMG.....	68
Figura 36: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X VMG.....	68
Figura 37: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X PG.....	69
Figura 38: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X comprimento da radícula.....	70
Figura 39: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X comprimento do hipocótilo.....	71
Figura 40: Semente de <i>Ipomoea grandifolia</i> deformada em contato com acetato de etila/verão a 400 ppm.....	72
Figura 41: Sementes de <i>Ipomoea grandifolia</i> apresentando necroses em contato com acetato de etila/verão a 400 ppm.....	72
Figura 42: Sementes de <i>Ipomoea grandifolia</i> necrosadas e com fungos em contato com acetato de etila/verão a 400 ppm.....	73
Figura 43: Quadruplicada realizada com a espécie <i>I. grandifolia</i> no tratamento com acetato de etila/verão a 400 ppm.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Massas obtidas dos extratos de <i>E. plana</i> Nees.....	51
Tabela 02: Teor (%) de compostos presentes no óleo essencial extraído de folhas de <i>E. plana</i> Nees.....	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 <i>ALELOPATIA</i>	15
2.1.1 Aleloquímicos	18
2.1.1.1 Liberação de Aleloquímicos	21
2.2 <i>ALELOPATIA DAS PLANTAS DANINHAS</i>	24
2.3 <i>MÉTODOS DE AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA</i>	26
2.4 <i>PLANTAS DANINHAS E USO DE HERBICIDAS</i>	28
2.5 <i>PRINCIPAIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS</i>	30
2.5.1 Enfloração ou enflourage.....	31
2.5.2 Hidrodestilação	31
2.5.3 Arraste a vapor.....	32
2.5.4 Prensagem a frio.....	33
2.5.5 Extração com solventes	33
2.5.6 Extração com CO ₂ supercrítico.....	34
2.5.7 Aeração (<i>headspace</i>)	34
2.6 <i>OBTENÇÕES DE EXTRATOS BRUTOS</i>	34
2.7 <i>CAPIM-ANNONI-2 (Eragrostis Plana Nees)</i>	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1 <i>MATERIAL VEGETAL – IDENTIFICAÇÃO E COLETA</i>	40
3.1.1 Obtenção de metabólitos secundários voláteis	41
3.1.1.1 Hidrodestilação	41
3.1.1.2 Análise do óleo essencial.....	42
3.1.2 Metabólitos secundários não voláteis.....	43
3.1.2.1 Obtenção dos extratos.....	43
3.2 <i>AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA</i>	43
3.2.1 Espécie receptora	43
3.2.1.1 Limpeza e desinfecção.....	44
3.2.2 Preparo das diluições.....	45
3.2.2.1 Teste de Schardakow	45
3.2.2.2 Tratamentos utilizados.....	46
3.2.3 Bioensaio de germinação	46
3.2.4 Bioensaio de alongamento.....	48
3.2.5 Delineamento experimental.....	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 <i>INFRAVERMELHO</i>	52
4.2 <i>ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL</i>	54
4.3 <i>TESTES ALELOPÁTICOS</i>	60
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
REFERÊNCIAS	77
ANEXOS	86
<i>ANEXO 01: Tabelas dos resultados estatísticos originais</i>	87

1 INTRODUÇÃO

As interações entre organismos são fundamentais para a determinação da abundância e padrão de distribuição das plantas na comunidade, da produtividade de várias espécies cultivadas e do grau de interferência sobre plantas daninhas (TREZZI, 2002).

As plantas daninhas são um dos fatores mais importantes a impor limitações ao desenvolvimento da atividade agrícola no mundo. O sucesso das plantas daninhas nos diferentes sistemas de cultivo está associado, em parte, à sua capacidade de produzir, estocar e liberar ao ambiente, substâncias químicas com propriedades alelopáticas (INOUE et al., 2010).

A alelopatia pode ser definida como um processo pelo qual produtos químicos do metabolismo de uma planta são liberados, impedindo a germinação, crescimento e desenvolvimento de outras plantas vizinhas (ALVES et al., 2004).

Uma das preocupações atuais diz respeito à capacidade que algumas espécies daninhas exóticas têm de invadir uma determinada área, passando a dominar outras espécies, modificando a composição botânica e química de comunidades de plantas (TREZZI, 2002).

O capimannoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) é uma espécie da família Poaceae, tropical, perene, estival (nasce ou produz no verão), exótica, originária da África (FERREIRA et al., 2008). Esta espécie foi introduzida no Rio Grande do Sul na década de cinquenta, como potencial forrageiro (GOULART et al., 2009). No entanto, avaliações efetuadas mostraram que a mesma não apresentava vantagens forrageiras, pela baixa qualidade nutricional, reduzindo o consumo voluntário pelos animais e, por conta disso, foi proibida a comercialização, transporte, importação e exportação de sementes e mudas (MEDEIROS; FOCHT, 2007). O capimannoni-2 apresenta alta rusticidade, adaptação a solos pobres e grande capacidade de multiplicação por sementes, o que é determinante para sua capacidade invasora (GOULART et al., 2009). As plantas de capimannoni-2 não são comumente atacadas por pragas, observação essa, que tem contribuído para que se estude o processo de alelopatia desempenhado por parte desta planta (FOCHT, 2008).

Não foram encontrados na literatura científica artigos que tratem da prospecção de substâncias alelopáticas em *E. plana* Nees. Justifica-se o estudo fitoquímico da mesma por

tratar-se de uma espécie com potencial alelopático estimado, havendo grande chance de identificação de compostos ativos com ação herbicida. O estudo fitoquímico da *E. plana* Nees também se justifica em função das características da espécie e do impacto biológico, social e econômico causado por ela.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As plantas podem interagir de maneira negativa, positiva ou neutra, sendo comum a interação de maneira negativa, inibindo o crescimento ou emergência de plantas vizinhas (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). Algumas espécies são altamente competitivas em relação a plantas nativas, pois são invasoras dominantes e superiores em termos de taxa de crescimento ou uso de recursos. Podem ter vantagem devido à liberação de “inimigos naturais” ou, ainda, pelo fato de se tornarem superiores através de processos evolutivos (MURRELL et al., 2011).

As plantas superiores desenvolveram a capacidade de sintetizar, secretar e acumular imensa variedade de metabólitos secundários, que estão associados a estratégias químicas de adaptação às condições ambientais e que aparentemente não possuem nenhuma função no metabolismo primário (SILVA; SILVA, 2007).

As interações que englobam diversos mecanismos são divididas em: a) alelospolia ou competição: há uma redução de um ou mais fatores de crescimento e prejudica o desenvolvimento normal de organismos na comunidade (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). Ocorre quando duas plantas disputam recursos, tais como água, luz e nutrientes, limitados no meio, onde ambas saem prejudicadas (VIDAL, 2010); b) alelopatia: interferência provocada por substâncias químicas produzidas por alguns organismos, afetando outros componentes das comunidades; c) alelomeiação: reflexo aos seres vizinhos por alterações provocadas por organismos em ambientes físicos ou biológicos (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001).

2.1 ALELOPATIA

As plantas são capazes de produzir substâncias químicas com propriedades que afetam benéfica ou maleficamente outras espécies vegetais no fenômeno denominado alelopatia (ALMEIDA et al., 2008). De origem grega, o termo alelopatia foi criado com a junção das

palavras gregas *alléton* (mútuo) e *pathos* (prejuízo) (FERNANDES; MIRANDA; SANQUETTA, 2007). Este termo foi enunciado pelo pesquisador alemão Hans Molisch em 1937 e empregado como o efeito prejudicial e/ou benéfico entre as plantas através de interações bioquímicas, incluindo micro-organismos. Tais interações ocorrem devido a liberação de substâncias químicas (aleloquímicos) produzidos via metabolismo das plantas (BORELLA et al., 2009). Faz parte de uma rede de comunicação química entre os organismos, contribuindo para a defesa de plantas (VIDAL, 2010).

Inicialmente, os estudos envolvendo alelopatia estavam restritos a países da Europa e América do Norte. Entretanto, ao longo dos últimos 70 anos, essa ciência se espalhou pelo mundo, sendo hoje exercida em países da América do Sul, Ásia e Oriente Médio (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

O termo alelopatia tem sido empregado na caracterização de interações bioquímicas entre todos os tipos de plantas, inclusive nos micro-organismos (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Pode ser definida como o efeito de uma planta no crescimento e estabelecimento de outra, incluindo os micro-organismos, através de liberação de compostos químicos para o ambiente (ALMEIDA, 2006). Este termo refere-se na interferência quimicamente mediada entre as plantas a fim de suprir o crescimento e a forma física de outras espécies (MURRELL et al., 2011).

O fenômeno da alelopatia explica, em âmbito ecológico, os mecanismos de sucessão vegetal, onde espécies invasoras podem excluir espécies nativas a partir de resíduos e substâncias liberadas para o ambiente. Pode interferir em populações vegetais tanto em sistemas agrícolas, quanto nos naturais (ALMEIDA, 2006). Ela é definida por INOUE et al.,(2010) como (...) “ciência que estuda interações bioquímicas entre plantas.” Ainda, produz efeitos sobre a diversidade de ecossistemas terrestres e aquáticos, como a inibição da fixação de nitrogênio e nitrificação, influência nos padrões das vegetações, inibição de germinação e decomposição de sementes (DE LIMA et al., 2011).

É um mecanismo bioquímico de interação entre plantas, sendo considerado uma forma de adaptação defensiva química das plantas, além de ser um fator de estresse ambiental para muitas espécies (MARCO et al., 2012). Em ambientes naturais, desempenha um importante papel na dominância, sucessão e formação de comunidades vegetais além de ser uma das estratégias de colonização de muitas plantas exóticas sobre a comunidade natural (OLIVEIRA et al., 2012).

A alelopatia pode ocorrer entre micro-organismos, entre plantas e micro-organismos, entre plantas cultivadas, entre plantas daninhas e entre plantas daninhas e plantas cultivadas

(OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). Os produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, a fim de impedir a germinação e desenvolvimento de plantas próximas a eles (ROSADO et al., 2009). Num sentido amplo, tal interação proporciona uma maior adaptação evolutiva entre as espécies (COELHO et al., 2011).

Esse fenômeno pode ser definido como um mecanismo onde qualquer processo envolvendo, essencialmente, metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e/ou fungos, são capazes de influenciar no crescimento e no desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos. É, ainda, definido como um mecanismo importante a ditar variações na dinâmica da população de plantas, sendo responsável por alterações na densidade, diversidade e desempenho das espécies, resultando em alterações na sustentabilidade dos agrossistemas (GUSMAN; VIEIRA; VESTENA, 2012).

Na ecologia química, as interações alelopáticas também podem ser chamadas de interespecíficas, pois envolvem compostos químicos de espécies diferentes, onde o organismo de uma espécie afeta o crescimento, saúde e comportamento de organismos de outras espécies (ANDRADE et al., 2010). A autotoxicidade é uma forma de alelopatia intraespecífica ocorrida quando uma espécie libera as substâncias químicas, inibindo ou atrasando a germinação e crescimento da mesma espécie de planta (ASADUZZAMAN; ASAO, 2012).

As substâncias alelopáticas fazem parte de diferentes classes de compostos secundários e os avanços na química de produtos naturais, contribuem para a identificação destes compostos inibitórios, podendo ser pesquisados por meio de extratos orgânicos ou aquosos derivados das espécies (COELHO et al., 2011). Uma das técnicas mais utilizadas para se estudar a alelopatia está associada ao preparo de extratos aquosos foliares ou de sistema radicular, onde se observam a influência destes extratos na germinação e crescimento da raiz. Nestes estudos é necessário isolar e identificar as substâncias que provocam o efeito tóxico, a fim de se conhecer a composição dos extratos e associar aos efeitos (ALMEIDA, 2006). Grande parte da interferência alelopática ocorre na fisiologia vegetal, onde muitos efeitos inibitórios são estudados em função de parâmetros como índices de velocidade, tempo de germinação e número de sementes germinadas (DA SILVA et al., 2012).

Uma vez determinada essa característica em uma espécie, seja em testes de laboratório ou de campo, esta poderá servir como mais uma opção no controle de plantas infestantes. Na agricultura, os efeitos alelopáticos possuem várias utilizações, tais como: redução no uso de herbicidas sintéticos, busca de novos defensivos, manejo e controle de espécies daninhas. (SILVEIRA; MAIA; COELHO, 2012).

A identificação da atividade alelopática em espécies de plantas assume papel importante do ponto de vista ecológico, principalmente em relação ao seu potencial para controlar diferentes espécies de plantas daninhas, um dos principais fatores de problemas no desenvolvimento de atividades agrícolas em regiões tropicais (SOUZA FILHO et al., 2009).

2.1.1 Aleloquímicos

Os compostos químicos produzidos pelas plantas, através de seu metabolismo, e que participam da atividade alelopática, são chamados aleloquímicos, substâncias aleloquímicas ou, ainda, fitotoxinas (OLIVEIRA et al., 2011). Estes compostos químicos podem influenciar, por exemplo, na vegetação de um local, na sucessão de plantas, na germinação de sementes, na produtividade de culturas, dentre outros (DEMUNER et al., 2005).

Uma vez liberados no meio ambiente, podem afetar a planta alvo de várias maneiras. De forma indireta provocam alterações nas propriedades e características nutricionais do solo e também das populações ou nas atividades dos organismos que habitam o solo. Já os efeitos diretos compreendem alterações em níveis celulares e metabólicos, incluindo mudanças no funcionamento das membranas, na absorção de nutrientes e de água, na atividade fotossintética, respiratória, entre outras (BORELLA et al., 2009).

Estes compostos são sinais químicos transmitidos ao ambiente, geralmente em pequena quantidade, sendo responsáveis pelas interações químicas positivas ou negativas entre diferentes organismos (ALMEIDA, 2006), seja na fase aquosa do solo ou do substrato ou pelas substâncias gasosas volatilizadas no ar que cercam as plantas terrestres (FERNANDES; MIRANDA; SANQUETTA, 2007). Não estão relacionados diretamente com nenhuma função do metabolismo primário, porém, estão associados a mecanismos químicos de adaptação às condições ambientais, pois representam vantagem contra a ação de micro-organismos, vírus, insetos, e outros predadores, inibindo ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (SILVA; SILVA, 2007). As substâncias do metabolismo primário originam, através de rotas bioquímicas e com uso de energia, os metabólitos secundários (VIDAL, 2010).

Cada espécie pode produzir um conjunto diferente de aleloquímicos, com ação sobre os componentes da comunidade em que está inserida (INOUE et al., 2010). A quantidade de

compostos produzidos e sua composição dependem da espécie e de condições ambientais. Todas as plantas são hábeis em produzir aleloquímicos, estando presentes em todos os seus órgãos: folhas, caules, raízes, flores, frutos e sementes (SILVA; SILVA, 2007). Por serem encontradas em diversas partes das plantas, estes compostos são distribuídos, nas espécies, em concentrações variadas durante seu ciclo de vida (ALMEIDA et al., 2008).

As interferências atribuídas à alelopatia são o resultado não só da ação de um único, mas de diferentes aleloquímicos, que são liberados para o ambiente em concentrações, quantidades e épocas distintas (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010). O potencial de ação destas moléculas está diretamente relacionado com o seu grupo funcional e suas propriedades químicas. Alguns atuam somente quando em presença de outros, sendo específicos em combinação e proporção, ou seja, atuam em sinergismo, onde apenas um composto secundário não atinge a concentração mínima necessária para exercer efeito na planta receptora (DA SILVA et al, 2012).

A natureza química das substâncias alelopáticas varia desde simples hidrocarbonetos até compostos complexos com pesos moleculares elevados e sua presença varia em quantidade e qualidade e de espécie para espécie (VIDAL, 2010). Conforme os autores Souza Filho, Trezzi e Inoue :

A distribuição dessas substâncias nas diferentes partes das plantas não é uniforme, tanto no aspecto qualitativo como quantitativo, no espaço e no tempo. (...) esses metabólitos podem ser encontrados em folhas, sementes, colmos, caules, cascas de troncos e de raízes, frutos, pólen, flores, rizomas, vagens e raízes de diferentes espécies de plantas. (...) a localização dos aleloquímicos nas plantas está relacionada com dois aspectos básicos: facilidade de liberação para o ambiente e função que podem desempenhar nas plantas, o que pode tornar seus efeitos mais imediatos e de maior magnitude (SOUZA FILHO; TREZZI; INOUE, 2011).

Na maioria das vezes, os aleloquímicos são seletivos em suas ações e também as plantas apresentam seletividade em suas respostas (OLIVEIRA et al., 2011). Os efeitos dos compostos alelopáticos dependem de sua concentração e quantidade total de fitotoxina disponível para absorção, pois as plantas competem pelas toxinas disponíveis, assim como competem por nutrientes (SILVA; SILVA, 2007). Dentre os principais compostos com atividades alelopáticas, destacam-se: taninos, glicosídeos, alcaloides, terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010).

Os taninos são substâncias fenólicas, solúveis em água, de elevado peso molecular e apresentam a habilidade de formar complexos insolúveis em água, sendo constituídos de unidades de açúcar e ácido gálico e derivados. Localizam-se nos vacúolos, combinados com alcaloides e proteínas, desempenhando função defensiva contra insetos (ACOSTA, 2008).

Os glicosídeos, compostos nitrogenados com função de proteção, podem hidrolisar facilmente, liberando substâncias voláteis altamente tóxicas. Os alcaloides constituem uma classe de metabólitos secundários representada por um número grande de substâncias com estruturas diversas e de difícil definição química. São compostos orgânicos cíclicos com um nitrogênio em estado de oxidação e originam-se de aminoácidos (SIMÕES et al., 2004).

Os terpenos, ou terpenoides, são sintetizados a partir de uma unidade básica, o isopentenil difosfato (IPP). O IPP pode ser formado pela rota do ácido mevalônico, ou a partir de intermediário da glicose ou do ciclo de redução fotossintética do carbono, através de um conjunto de reações denominado de rota do metileritritol fosfato (MEP), que ocorre nos cloroplastos e outros plastídeos. O isopentenil difosfato e seu isômero, o dimetilalil difosfato (DMAPP) são as unidades pentacarbonadas ativas na biossíntese dos terpenos que se unem para formar moléculas maiores. Inicialmente o IPP e o DMAPP reagem e formam o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a partir da qual são formados os monoterpenos. O GPP pode, então, ligar-se a outra molécula de IPP, formando um composto de 15 carbonos, farnesil difosfato (FPP), precursor da maioria dos sesquiterpenos. A adição de outra molécula de IPP forma o geranylgeranyl difosfato (GGPP), composto de 20 carbonos precursor dos diterpenos. Finalmente, FPP e GGPP podem dimerizar para formar triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀), respectivamente. No geral, os terpenóides são os constituintes predominantes dos óleos essenciais das plantas, mas muitos dos óleos essenciais também podem ser compostos de outros produtos químicos, os fenilpropanóides (JAKIEMIU, 2008).

Os flavonoides constituem um grupo de pigmentos vegetais de ampla distribuição na natureza (SIMÕES et al., 2004). São, entre os compostos naturais, os mais disseminados nas plantas e possuem ações antimicrobianas, inseticidas, agentes alelopáticos, inibidores de enzimas, atração polinizadora e proteção aos raios ultravioleta (SASAKI, 2008). São relatados como antioxidantes por sua capacidade de capturar várias espécies oxidantes, como os radicais hidroxila ou peróxido (VASCONCELOS et al., 2009). Dois anéis aromáticos unidos por uma ponte de três átomos de carbono é o esqueleto básico dos flavonoides (SIMÕES et al., 2004). Os isoflavonoides são uma classe de compostos com ação antipatógenos, como os rotenoides.

Os rotenoides são isolados a partir de uma matriz bastante diversificada de plantas medicinais em países tropicais e foram originalmente aplicados como pesticidas, mas atualmente, também estão sendo investigados para convencionais bioativos médicos, como antibacterianos, antimaláricos, propriedades antifúngicas e anti-cancerígeno (SANGTHONG et al., 2011). Mostraram atividade contra insetos. A rotenona, o primeiro rotenoide a ser

identificado, foi utilizado como um inseticida antes dos inseticidas sintéticos. Recentemente, tem se mostrado ativa contra tumores, incluindo câncer de pele (ANDREI et al., 2002).

Estes produtos agem diretamente na fisiologia dos vegetais, principalmente no que diz respeito à divisão, alongamento e estrutura celular, além de interferirem nos mecanismos de indução do crescimento, permeabilidade das membranas celulares, fotossíntese, respiração, síntese proteica, lipídica e de ácidos graxos (FERREIRA; MEDEIROS; SOARES, 2008). Interferem na conservação, dormência e germinação de sementes, no crescimento de plântulas e no vigor de plantas adultas, podendo também influenciar a competição entre espécies (GUSMAN; VIEIRA; VESTENA, 2012). Avanços notáveis vêm sendo obtidos, o que permite o entendimento mais amplo do papel dos aleloquímicos (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

2.1.1.1 Liberação de Aleloquímicos

As substâncias alelopáticas são liberadas dos tecidos das diversas partes da planta para o ambiente de diferentes formas: por volatilização, exsudação radicular, lixiviação e decomposição de resíduos vegetais. Eles podem ser liberados em solos como exsudatos de raízes, lixiviados de folhas e de produtos de decomposição do tecido vegetal, como apresentado na figura 01. A degradação destas substâncias no solo é resultado de ionização, sorção em solo das sementes, absorção pela raiz e transformação ou utilização pelos microorganismos (ZHANG; PAN; LI, 2010). O efeito desses compostos pode ser influenciado pelas características de cada espécie e idade da planta (GUSMAN; VIEIRA; VESTENA, 2012).

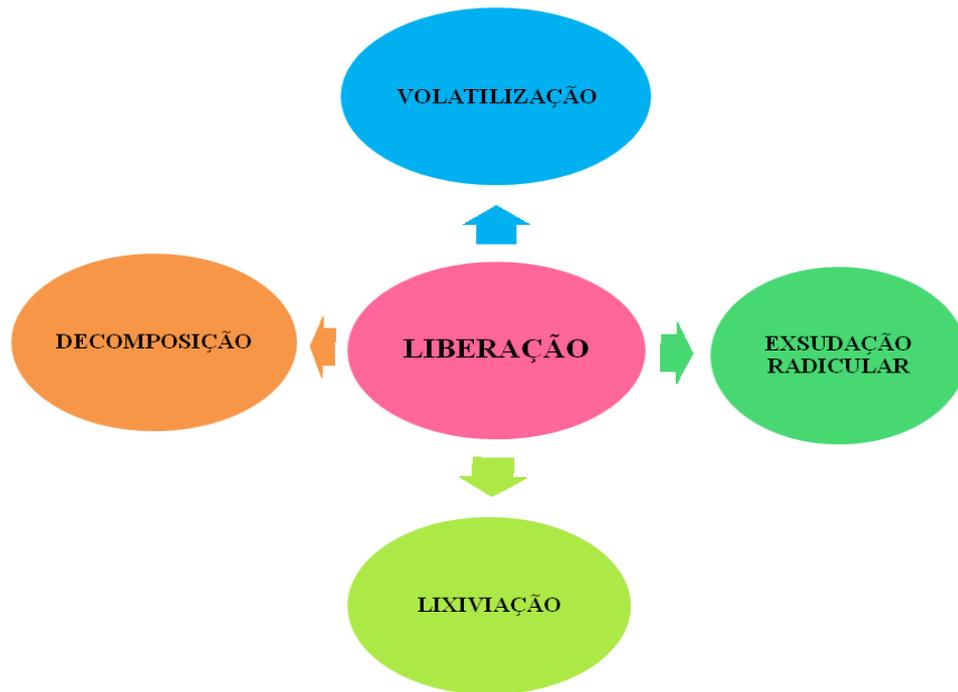


Figura 01: Formas de liberação de aleloquímicos no ambiente.

A taxa da liberação destas substâncias depende da forma em que ocorre esta liberação, da concentração nos tecidos e de condições ambientais (TREZZI, 2002). Esta liberação deve ser contínua e seus efeitos persistentes até os cultivos subsequentes (SILVEIRA; MAIA; COELHO, 2012). As células de plantas que produzem estes produtos, normalmente, possuem mecanismos específicos de transporte especializado dentro das células vegetais para mover estes compostos em torno e para fora da célula (WESTON; RYAN; WATT, 2012). São sintetizados e armazenados em diferentes células das plantas, na forma livre ou conjugada com outras moléculas e, que, liberadas no ambiente, atuam como uma resposta a fatores de estresse biótico e abiótico (OLIVEIRA et al., 2012).

As estruturas secretoras distribuem-se em diferentes órgãos das espécies; as substâncias podem ser obtidas a partir de flores, frutos, sementes, folhas, caules, raízes e rizomas, onde o teor e a composição destas substâncias podem variar de acordo com o órgão e o estágio de desenvolvimento da planta (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

- **Volatilização:** os aleloquímicos liberados de forma volátil são de difícil detecção, identificação e quantificação, ocorrendo, frequentemente, em regiões áridas e com temperaturas elevadas (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). Os compostos aromáticos são volatilizados pelas folhas, flores, caules e raízes e podem ser absorvidos por outras plantas, atuando por meio dos próprios vapores ou condensados no orvalho e, quando alcançam o solo, são absorvidos pelas raízes (ALMEIDA et al., 2008).

Os óleos voláteis, liberados para o ambiente, apresentam importante função no ecossistema, agindo como defesa e/ou inibição de crescimento, sendo indispensável o estudo fitoquímico para o reconhecimento desses compostos, possibilitando maior compreensão da relação entre vegetal e ambiente (ALMEIDA et al., 2006). Os terpenos voláteis, componentes de óleos essenciais, mostram ação alelopática importante (MARCO et al., 2012).

- Exsudação radicular: as plantas exsudam aleloquímicos através das raízes, porém é difícil saber precisamente se as substâncias encontradas no solo são provenientes diretamente das raízes, ou produzidas por micro-organismos a elas associadas pela decomposição de resíduos orgânicos (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). Como resultado, os exsudatos podem repelir herbívoros e/ou micróbios, alterar as propriedades do solo, e inibir o crescimento de espécies competidoras. A exsudação radicular é variável ao longo do eixo da raiz (WESTON; RYAN; WATT, 2012).
- Lixiviação: as fitotoxinas solúveis em água são lixiviadas pela parte aérea e raiz da planta, bem como pela chuva ou orvalho, carregadas até o solo (ALMEIDA et al., 2008).
- Decomposição de resíduos vegetais: a liberação dos aleloquímicos por decomposição pode ocorrer das partes aéreas e subterrâneas e pela ação de micro-organismos responsáveis pelo processo de decomposição. Perdas de integridade da membrana celular permite a liberação de um alto número de compostos tóxicos aos organismos vizinhos (ALMEIDA et al., 2008). Em alguns casos, os agentes decompostos são mais tóxicos do que o produto original (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). A liberação dos compostos através da decomposição microbiana é dependente da composição dos tecidos das plantas, onde os tecidos mais ricos em celulose e lignina são decompostos mais lentamente quando comparados com os ricos em carboidratos (VIDAL, 2010).

É possível, em alguns casos, que um aleloquímico liberado em grande quantidade na planta doadora apresente efeito reduzido sobre a planta alvo, devido a sua atuação depender da ação no ambiente e na planta. Não há consenso em relação a velocidade da decomposição destas substância no ambiente, uma vez que acredita-se que as substâncias contidas no metabolismo primário das espécies seriam degradadas mais rapidamente do que as do metabolismo secundário, devido sua maior complexidade (DA SILVA, 2009).

2.2 ALELOPATIA DAS PLANTAS DANINHAS

Os termos “plantas daninhas” ou “ervas daninhas” são também designadas como plantas rudes, silvestres, mato ou inço, pois se baseiam em sua relação indesejável a atividades humanas (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). O conjunto de plantas que infestam áreas agrícolas, pecuárias e outros setores de interesse humano e que ocupam locais onde e por qualquer motivo, são conceituadas como daninhas (PITELLI, 1987).

Uma planta pode ser daninha em determinado momento, se estiver interferindo negativamente nos objetivos do homem, porém pode ser útil em outra situação como controle de erosão, reciclagem de nutrientes ou até mesmo, algumas, com poder medicinal (SILVA; SILVA, 2007). O impacto das plantas daninhas nas culturas depende de sua infestação constante, persistente e abundante (VIDAL, 2010). A infestação crescente destas espécies nos sistemas agrícolas é um dos principais problemas enfrentados pelos agricultores, elevando o custo de produção por causar prejuízos às lavouras, com decréscimos na produtividade, seja pela competição direta por fatores de produção ou pelos compostos alelopáticos liberados no meio (FORMAGIO et al., 2011).

As plantas daninhas podem ser disseminadas por diversos fatores. Normalmente, produzem grande quantidade de sementes, o que assegura rápida infestação. A disseminação também pode ser feita pelo vento, água, animais e pelo próprio homem (SILVA; SILVA, 2007). As elevadas produções de sementes, juntamente com a dispersão e dormência, garantem a prolongada ocorrência de diversos indivíduos de daninhas por unidade de área (VIDAL, 2010).

O fato das plantas daninhas obterem sucesso, em relação às plantas cultivadas, ocorre por possuírem maior agressividade e capacidade de se adaptarem a fatores ambientais, proporcionando, em grandes culturas, a redução qualitativa e quantitativa na produção (INOUE et al., 2010). Estas reduções são uma das consequências da competição das plantas daninhas por recursos ambientais (OLIVEIRA et al., 2011).

Quanto maior a população da comunidade infestante, maior será a quantidade de indivíduos que disputam os recursos do meio e, mais intensa será esta competição com a cultura (SOARES et al., 2010). Os genes que controlam as características morfológicas e fisiológicas em plantas daninhas são os responsáveis pela vantagem adaptativa e pela elevada habilidade competitiva das mesmas comparadas as plantas cultivadas (VIDAL, 2010).

Quando não manejadas adequadamente, estas plantas interferem diretamente no processo produtivo, competindo pelos recursos do meio, principalmente por água, luz e nutrientes, liberando, assim, compostos alelopáticos, atuando como hospedeiras de pragas e doenças, provocando interferência nas colheitas. Essa competição acontece quando o ambiente não consegue suprir as quantidades de compostos essenciais para o crescimento normal de uma população de plantas (SANTOS et al., 2010). Quando as daninhas e espécies cultivadas convivem numa mesma área, há redução dos recursos do meio, de forma que ambas sejam prejudicadas, sendo a água o primeiro recurso a ficar limitante ao crescimento destes indivíduos (VIDAL, 2010).

A alelopatia vem sendo reconhecida como um importante mecanismo ecológico, influenciando o tipo de vegetação existente em um ecossistema, a dominância e sucessão de plantas, o manejo e produtividade de culturas. Esta interação alelopática ocorre através de mecanismos adquiridos ao longo do processo de evolução de cada uma delas (OLIVEIRA, 2011).

As plantas daninhas podem ser suprimidas por meio de plantas vivas ou de seus resíduos, pelas quais a alelopatia poderia ser manipulada no manejo destas plantas, através de três propostas:

Transferência de genes responsáveis pela síntese de aleloquímicos entre as culturas; uso de rotação de culturas, combinando culturas companheiras capazes de reduzir a população de plantas daninhas por meio do seu potencial alelopático e; uso de aleloquímicos obtidos das plantas como herbicidas, sendo um método seguro e efetivo, uma vez que são produtos naturais biodegradáveis e não persistem no solo como poluentes (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001).

A competição entre plantas é um processo importante tanto em comunidades naturais quanto em ambientes agrícolas. O impacto vegetativo das ervas daninhas em agroecossistemas é considerado competição se houver redução nos recursos disponíveis para a cultura. A competição entre as raízes das plantas daninhas e das culturas interfere tanto na disponibilidade de água e nutrientes quanto nas competições por luz, nas partes aéreas (RIZZARDI et al., 2001). Sua intensidade é avaliada, geralmente, através da redução no crescimento da planta cultivada ou por meio de decréscimos da produção, como agente de resposta pela competição de recursos de crescimento disponíveis no ambiente (SOARES et al., 2010).

Várias plantas daninhas possuem o poder alelopático, podendo contribuir para o controle de outras plantas daninhas através de exsudatos, lixiviados e compostos voláteis. No entanto, esta influência pode afetar não somente as daninhas, como também as culturas por

meio de atrasos de germinação de sementes ou redução do crescimento das culturas (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). A germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas são utilizados para avaliar o efeito alelopático, sendo usados extratos vegetais ou os aleloquímicos isolados, onde, a sensibilidade a estes compostos varia de acordo com a concentração aplicada e com a composição química do extrato (ALMEIDA, 2006).

2.3 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA

Ao longo do processo evolutivo, foram elaborados procedimentos experimentais que permitiram o isolamento e a identificação de compostos químicos envolvidos na alelopatia das plantas. Técnicas de avaliação da atividade alelopática, principalmente em relação aos efeitos sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas, de espécies cultivadas ou de plantas daninhas, foram estabelecidas, como mostradas na figura 02. Isto possibilitou a identificação e quantificação de aleloquímicos em diferentes frações de plantas doadoras, bem como a caracterização de propriedades alelopáticas (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

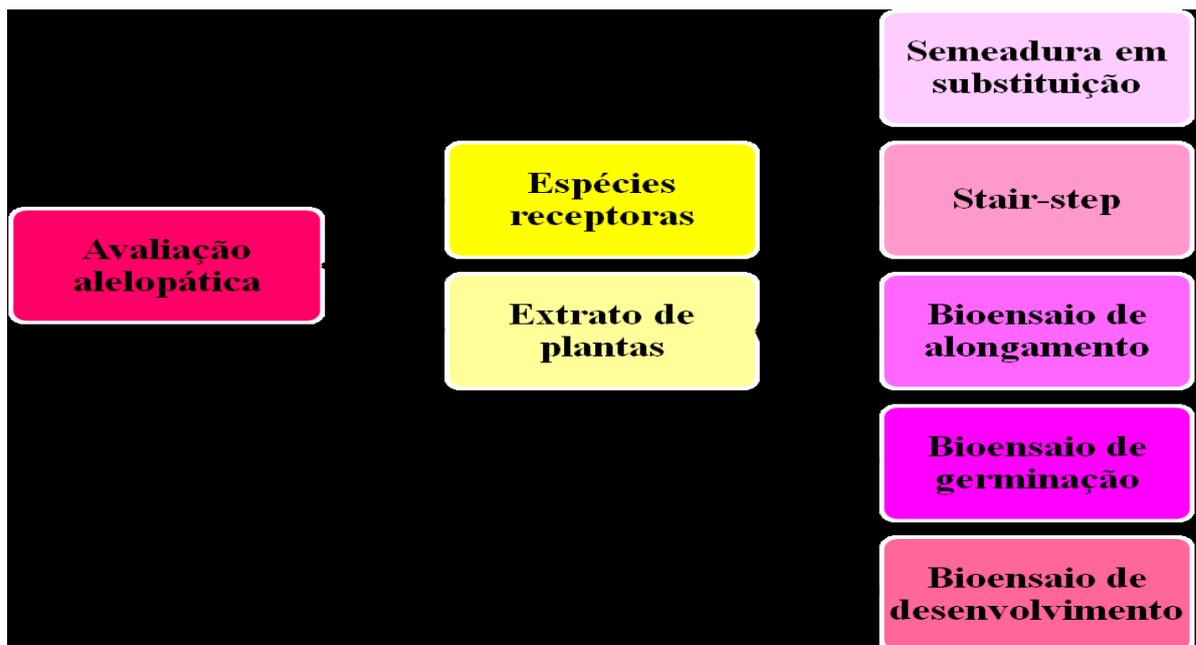


Figura 02: Métodos de avaliação alelopática.

Há diversos métodos que podem ser utilizados na identificação de substâncias alelopáticas e, muitos destes em laboratório, são baseados na obtenção de extratos de plantas, onde podem ser empregados solventes, como o etanol, metanol ou acetato de etila, e a água, sendo um dos mais utilizados (VIDAL, 2010). Em estudos de exploração inicial, quando não há informação sobre a espécie, o ideal é que se preparem dois tipos de extrato: um com baixa polaridade, utilizando extração exaustiva, e outro de alta polaridade. Esse procedimento permitirá avaliação mais realista das potencialidades da planta como fornecedora de agentes alelopáticos (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

Na seleção de espécies receptoras para os testes alelopáticos, é comum deparar-se com características favoráveis, ou não, das mesmas. A espécie ideal seria aquela que responde aos aleloquímicos presentes no ambiente, de forma mais próxima possível com a situação real de campo (DA SILVA, 2009). Em trabalhos encontrados na literatura, observa-se a utilização de uma única espécie receptora; em outros, duas ou mais espécies, sendo que, a mais utilizada, é a alface (*Lactuca sativa*). A resistência aos aleloquímicos é de média especificidade, existindo espécies receptivas mais sensíveis que outras (PELEGRINI; CRUZ-SILVA, 2012). O uso de mais de uma planta receptora permite melhor dimensionamento das potencialidades alelopáticas das doadoras, bem como possibilitar maiores interferências e mais próximas da realidade (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

Outro método utilizado na identificação de potencial alelopático é a semeadura em substituição, que consiste na semeadura da planta doadora em placas de Petri ou em caixas gerbox e, alguns dias após, faz-se a semeadura da espécie receptora, que se desenvolverá juntamente com plântulas da doadora (VIDAL, 2010).

No sistema avaliativo “stair-step”, as plantas doadoras e receptoras são cultivadas em potes individuais em um sistema de escada. O substrato utilizado é a areia e os nutrientes são fornecidos para o desenvolvimento destas plantas, onde há a permissão de coleta, isolamento e identificação das substâncias alelopáticas liberadas pelas raízes (DA SILVA, 2009).

A germinação de sementes é um bom indicativo das potencialidades de um aleloquímico, sendo muito utilizado em bioensaios de atividades alelopáticas e fazendo uso de semeadura em placas de Petri. Podem-se avaliar os efeitos sobre a germinação total, bem como, o índice de velocidade de germinação. Este bioensaio é realizado em câmaras de germinação, em condições controladas de temperatura e luz, em tempo variável em torno de 7 a 10 dias. Em alguns casos, contam-se as sementes germinadas ao final do período de incubação e calcula-se os efeitos; em outros casos, a contagem se dá diariamente, onde as germinadas são eliminadas (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010). Nestes

procedimentos, considera-se germinadas, as sementes cuja extensão radicular seja igual ou superior a 2 milímetros (TREZZI, 2002).

Na germinação, os efeitos dos aleloquímicos estão associados ao estresse oxidativo, devido a formação de espécies reativas de oxigênio que atuam de forma direta ou como sinalizadores nos processos de degradação celular, gerando efeitos danosos a processos fisiológicos vitais, alterando o desenvolvimento e uniformidade da cultura (DA SILVA et al., 2012). A quantificação experimental é muito mais simples, pois para cada semente o fenômeno é dito discreto: germina ou não germina (PELEGRINI; CRUZ-SILVA, 2012).

Os bioensaios de desenvolvimento envolvem a incubação em placas de Petri ou caixas gerbox, em determinado período de tempo, onde, ao final, realiza-se a contagem de sementes germinadas e mede-se as raízes e o hipocótilo da espécie receptora do aleloquímico. O desejável é realizar este bioensaio separadamente do ensaio de germinação (ALVES et al., 2004). O hipocótilo e a radícula são originados a partir do eixo embrionário que é a parte vital da semente, este contém tecidos em suas duas extremidades, apresentando condições de crescimento para dois sentidos, com condições de fixação ao solo e de fotossintetizar substâncias necessárias (SASAKI, 2008).

Os bioensaios de alongamento das raízes têm se mostrado mais sensível aos efeitos alelopáticos do que a germinação em sementes. Porém, no caso de óleos essenciais, variações podem ser observadas em relação a alelopatia sobre a germinação e o desenvolvimento da raiz, podendo ser da mesma intensidade ou mais intensos na germinação de sementes (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

A inibição da germinação das sementes e do crescimento inicial das plântulas é a etapa mais afetada nas interações alelopáticas, sendo o crescimento inicial das plântulas mais sensível que a germinação, pois para cada semente, o fenômeno é discreto, germinando ou não (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2012).

2.4 PLANTAS DANINHAS E USO DE HERBICIDAS

A grande aceitação de herbicidas sintéticos por produtores agrícolas em suas culturas é atribuída ao fato do controle das plantas daninhas proporcionarem algumas vantagens, dentre elas: menor dependência de mão de obra na quantidade e qualidade necessárias; é mais

eficiente, mesmo em tempos chuvosos; não afeta o sistema radicular das culturas; permite o plantio direto; controla a propagação das daninhas. Há de considerar a periculosidade do uso destes herbicidas ao aplicador e ao ambiente (SILVA; SILVA, 2007).

Os herbicidas atuais têm provocado mudanças nas populações de espécies invasoras além do risco de contaminação ambiental e o aumento da resistência a esses compostos (OLIVEIRA et al., 2012). Os agrotóxicos ao permanecerem no ambiente ou ao atingirem o meio aquático, oferecem riscos para espécies animais por sua toxicidade, além da possibilidade de acumulação ao longo da cadeia alimentar (DE LIMA et al., 2011).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é a capacidade de algumas espécies, dentro de uma determinada população de plantas, de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose do herbicida que normalmente seria letal. É apresentado com referência ao comportamento de um indivíduo frente aos mecanismos de resistência e aos herbicidas dos quais é resistente (CHRISTOFFOLETI, 2003).

O uso indiscriminado de herbicidas tem levado ao desenvolvimento de espécies altamente resistentes aos mesmos, o que acarreta uma demanda de novos compostos químicos cujos mecanismos e ações sejam distintos dos até então usados (OLIVEIRA et al., 2011). Conforme GOULART et al., (2012), os herbicidas “são metabolizados nas plantas por reações de oxiredução, hidrólise, hidroxilação, desmetilação, conjugação com aminoácidos, glutatona ou glicose, e por compartimentalização no vacúolo ou na parede celular”.

O desejo crescente da substituição dos produtos químicos sintéticos nos agroecossistemas por materiais produzidos naturalmente é o ponto de motivação para as pesquisas relacionadas à alelopatia. Esta pode ser utilizada para melhorar a sustentabilidade dos sistemas de produção e conservar a vegetação natural, pois representam alternativa biológica com ação específica e menor prejuízo ao meio ambiente (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2010). Os compostos naturais são mais seguros ao ambiente, uma vez que, em sua maioria, solúveis em água e não são halogenados, enquanto que a maioria dos sintéticos são lipofílicos e halogenados (VIDAL, 2010). Os estudos com aleloquímicos podem levar à produção de outro tipo de herbicida, quer para uso direto dos compostos descobertos quer como modelos moleculares para síntese de novos agroquímicos (OLIVEIRA et al., 2012).

Uma vez que os aleloquímicos são comuns em vegetais e atuam toxicamente em plantas, com ação seletiva, o conhecimento da estrutura química do componente ativo envolvido, possibilita a obtenção a partir desses produtos naturais, de herbicidas com vantagens ecológicas. Portanto, em substituição aos herbicidas artificiais podem ser utilizados como “herbicidas naturais” os aleloquímicos formados por alcaloides, derivados do ácido

cinâmico e cumarinas, em função dos altos poderes alelopáticos atribuídos a estas classes de compostos (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001). Moléculas aromáticas, tais como rotenoides são essenciais para a maior parte da crescente área da química natural de herbicidas e inseticidas. A principal motivação para a busca de novos produtos naturais aromáticos é a sua aplicação em grande potencial como farmacologicamente e alelopaticamente úteis (PEREIRA et al., 1998).

Em razão de vários fatores, como os já citados, vem se verificando a crescente procura por defensivos de culturas agrícolas alternativos para o efetivo controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e baixo impacto ao meio ambiente. Técnicas atuais consistem no emprego de extratos vegetais e óleos essenciais como alternativas alelopáticas no controle biológico de patógenos (NASCIMENTO et al., 2008). Em fases iniciais de pesquisa, os protocolos empregados envolvem a utilização de diferentes frações da planta ou a planta inteira, com extrações com eluentes cuja polaridade seja alta, isoladamente ou em mistura em diferentes proporções, em concentrações fixas ou variadas (SOUZA FILHO et al., 2009).

2.5 PRINCIPAIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são geralmente líquidos oleosos voláteis dotados de aroma forte provenientes do metabolismo secundário. Existentes em quase duas mil espécies, e distribuídos em sessenta famílias, são normalmente elaborados e condicionados nas folhas, armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular do vegetal (SILVA et al., 2005). São frações voláteis naturais, extraídas de plantas aromáticas que evaporam à temperatura ambiente. O conjunto dessas substâncias químicas voláteis, presentes nos óleos essenciais, é formado por inúmeras classes orgânicas (SANTOS et al., 2004).

Inúmeros métodos podem ser usados na obtenção de óleos essenciais (figura 03), dependendo do valor comercial, e do órgão da planta onde se concentra o óleo. Dentre os mais utilizados destacam-se a hidrodestilação e o arraste a vapor, porém, em função de que, uma das características do óleo essencial ser a alta volatilidade, fez-se necessário o desenvolvimento de novos métodos de obtenção (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

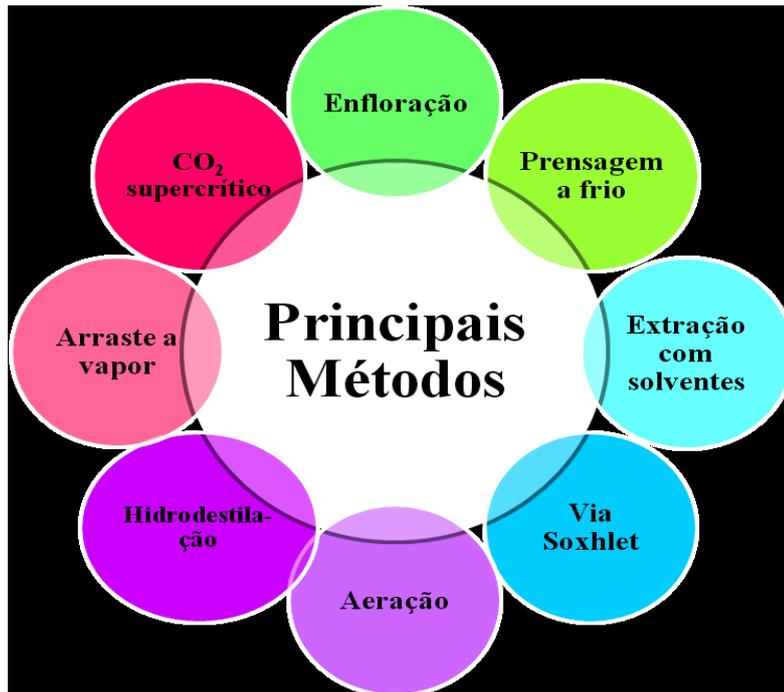


Figura 03: Principais métodos de extração de óleos essenciais.

2.5.1 Enfloração ou enflourage

Algumas flores continuam sua produção de óleo essencial por algum período, mesmo após a colheita. O método da enfloração se baseia na grande capacidade de gorduras absorverem os constituintes voláteis emitidos pelas flores e consiste na extração dos óleos a partir da colocação manual das flores e/ou pétalas, sobre placas com gordura em temperatura ambiente, por um determinado tempo. Esse processo é repetido até que a gordura fique saturada, sendo então removida, com espátulas e a gordura com o óleo essencial é derretida através de aquecimento, separando-a do óleo essencial por meio de solventes. A gordura utilizada não pode ter consistência enrijecida, pois diminui a absorção dos compostos voláteis (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

2.5.2 Hidrodestilação

O termo destilação faz referência à separação de componentes de uma mistura devido a diferença de pressão de vapor. Deste modo, o óleo essencial do material vegetal em contato com a água aquecida recebe pressão das moléculas de vapor d'água, entrando em ebulição. Em seu estado volátil, estes constituintes são arrastados pela água até um resfriador, onde são condensados e separados da água (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

A técnica da hidrodestilação é empregada com o uso de um aparelho do tipo Clevenger (Figura 1), que consiste em um balão de vidro conectado ao condensador também de vidro. A manta aquecedora fica em contato com o balão com temperatura regulada. (BIASI; DESCHAMPS, 2009). Este sistema é o mais conhecido e utilizado em escala laboratorial, podendo operar em sistema aberto ou fechado (SANTOS et al., 2004). O óleo essencial obtido deve ser seco com sulfato de sódio anidro para se evitar possíveis perdas por hidrólise durante o armazenamento (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

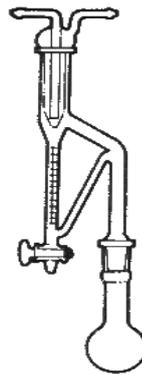


Figura 04 - Aparelho de Clevenger para hidrodestilação
Fonte: SILVA et al., 2005.

2.5.3 Arraste a vapor

O método mais usado é o de arraste a vapor, que requer maior número de etapas de manipulação por parte do operador, em função da coleta do óleo ser feita continuamente, pois na maioria das vezes, o processo de extração é conduzido em sistemas de operação em aberto (SANTOS et al., 2004). O material vegetal entra em contato com o vapor d'água, porém é produzido em separado e transferido em pressão superior a atmosférica, para a destilação (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

2.5.4 Prensagem a frio

É utilizado principalmente na obtenção dos óleos essenciais cítricos. Neste processo, as frutas são prensadas e delas extraídos o óleo e o suco, onde é feita a decantação, centrifugação ou destilação fracionada para a obtenção apenas do óleo essencial (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

2.5.5 Extração com solventes

Este método tem como objetivo principal a obtenção de um aroma mais próximo daqueles observados em outros métodos, além de aumentar o rendimento da extração. A extração de óleo essencial com solvente é um processo de transferência de constituintes solúveis (o óleo essencial) de um material inerte (a matriz graxa) para um solvente com o qual a matriz se acha em contato (BRUM; ARRUDA; ARCE, 2009). As extrações com solventes orgânicos podem utilizar uma ampla variedade de solventes com polaridades distintas. São técnicas comumente aplicadas nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos diversos (BRUM, 2010).

O material é colocado em contato com o solvente em temperatura ambiente. O solvente penetra no material extraindo os constituintes do óleo essencial, além de ceras e pigmentos. A solução obtida em seguida é mantida em evaporador para remoção do solvente, tendo como resultado o óleo essencial (SANTOS et al., 2004).

O fator mais importante neste método é o solvente utilizado. Este deve ser seletivo, removendo os constituintes do óleo essencial, com baixo ponto de ebulição para que permita sua remoção sem a utilização de altas temperaturas, ser quimicamente inerte, apresentar ausência de resíduos após a evaporação, além de, preferencialmente, ser de baixo custo e não inflamável. O éter de petróleo e o benzeno são os mais utilizados mesmo não obtendo todas as características citadas (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

2.5.6 Extração com CO₂ supercrítico

O CO₂ é um solvente atrativo para aplicação em alimentos. É completamente miscível com hidrocarbonetos de baixo peso molecular e compostos orgânicos oxigenados, possui alta volatilidade se comparado aos compostos orgânicos, baixa viscosidade e alto coeficiente de difusão. Possui baixo gasto de energia para separação soluto-solvente, e suas propriedades de solvatação no estado supercrítico são melhores do que no estado líquido, solubilizando assim um maior número de compostos. É uma técnica em ascensão, amplamente estudada, que utiliza o poder solvente do CO₂ em temperatura e pressão nas vizinhanças do ponto crítico (BRUM, 2010).

É um método rápido e eficiente, onde o produto é completamente livre de solventes. O CO₂ supercrítico é obtido em altas pressões e temperatura acima de 31°C. Nestas condições, alcança um estado em que sua viscosidade corresponde a de um gás, com a capacidade de solubilização semelhante ao de um líquido. Após a extração, a pressão é reduzida e o CO₂ retorna ao estado gasoso, sendo eliminado (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

2.5.7 Aeração (*headspace*)

O sistema de aeração constitui na passagem do ar por um filtro de carvão ativado, em seguida pelas amostras e finalmente por uma coluna contendo uma resina adsorvente. A vazão do ar é controlada por um rotâmetro, localizado no final da aparelhagem (NICARETA, 2006).

Baseia-se na extração de analitos a partir da matriz da amostra por meio de uma fibra de sílica fundida recuperado com um material adsorvente, que na maioria dos casos é de natureza polimérica. A fim de separar e identificar os produtos, a dessorção dos analitos é feita pela temperatura (MÁRQUEZ et al, 2011).

2.6 OBTENÇÕES DE EXTRATOS BRUTOS

Nos últimos anos muitos avanços foram feitos em termos de descoberta de novos princípios ativos em plantas. Uma das etapas mais importantes na busca pelo isolamento de novas substâncias é o processo de extração. Nesta etapa, além do método de extração, outra escolha fundamental é o solvente extrator a ser utilizado, pois a informação química a ser obtida, tanto qualitativa quanto quantitativa dependerá desses dois fatores. O planejamento de misturas permite identificar as interações entre os solventes utilizados, ou mesmo constatar que não há interação significativa entre eles, auxiliando na obtenção de uma resposta (SOARES, 2010).

2.7 CAPIM-ANNONI-2 (*Eragrostis Plana* Nees)

Dentre as estratégias adotadas pelas plantas daninhas para a dominância em comunidades vegetais, a que se sobressai é a liberação de aleloquímicos, que podem ser encontrados em qualquer parte da planta, e seus degradados sendo liberados ao ambiente através de compostos solúveis em água ou voláteis (FERREIRA; MEDEIROS; SOARES, 2008).

No Rio Grande do Sul, a pastagem natural vem sendo degradada pelo excessivo pastejo, queimadas, práticas de cultivo, erosão e pela invasão da daninha africana *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni-2) (MEDEIROS; FOCHT, 2007). Esta espécie caracteriza-se como uma gramínea da família das *Poaceae* exótica, cespitosa (da mesma raiz, nascem vários troncos), perene de difícil erradicação e com alta capacidade de competição com espécies forrageiras de pastagens (CARLOTTO et al., 2010).

O gênero *Eragrostis*, em geral, é conhecido pelo seu alto valor nutritivo, sendo usado como forragem verde para a alimentação de gado. Porém algumas espécies de *Eragrostis*, como a *viscosa* ou *plana* Nees, não são nutritivas e os animais se recusam a ingerí-las. Na medicina popular da África, a *E. viscosa* é usada com propriedades repelentes às cobras (SEBASTIÃO et al., 2010).

Nativa da África do Sul, o capim-annoni-2, teve sua disseminação acidentalmente no estado do Rio Grande do Sul na década de 50 (ALFAYA et al., 2002). Sua introdução no estado se deu devido à contaminação de sementes de outras espécies forrageiras importadas do continente africano (NACHTIGAL et al., 2009).

Nos anos 70, começou-se a investigação de possíveis qualidades nutricionais da planta, bem como, o uso desta gramínea como forrageira em pastejos de animais. Em 1979, devido a seus resultados pouco promissores e a proibição de sua comercialização, foi classificada como planta invasora, concentrando-se os esforços em sua erradicação ou controle (ALFAYA et al., 2002). A invasão desta gramínea é devido à sua fácil disseminação, baixa qualidade nutricional, pouca aceitação pelos animais, alta competitividade e resistência à seca (SCHEFFER-BASSO et al, 2012).

A espécie forma touceiras profundamente enraizadas, podendo atingir, quando florescidas, 110 centímetros de altura, como pode ser visto na figura 05, reproduzindo-se vegetativamente pela expansão lateral destas touceiras. Sua ocorrência é maior em solos secos, mas pode ser encontrada em solos mal drenados e sua população tende a aumentar em locais mal manejados (FOCHT, 2008).



Figura 05 : touceira do capim-annoni-2

Fonte: www.iap.pr.gov.br/modules/galeria/uploads/2/normal_180pxEragrostis_variabilis.jpg

Esta planta é considerada inapta para utilização em pastejo, devido a sua baixa qualidade nutritiva e a sua elevada resistência, rusticidade e adaptação em solos pobres (GOULART et al., 2009). As pastagens naturais são a base alimentar dos rebanhos do Rio Grande do Sul e a expansão do capim-annoni-2 nesse recurso, pelo seu baixo teor nutricional, é rejeitada pelos animais, produzindo grande quantidade de sementes e como consequência, tornou-se uma invasora de difícil controle na região (LISBOA et al., 2009). Possui alto teor de fibras e baixos níveis de proteínas, fato que a torna dispensável à alimentação animal (PICCININI et al., 2012).

Na primavera, melhor período de crescimento de pastagens, os animais dão preferência às nativas com maior valor nutricional em vez do capim-annoni-2. Nesta época, o capim cresce com baixa concorrência, intensamente de novembro a março, período em que

começa a escassez da qualidade da pastagem nativa. Logo, os animais compensam sua dieta com o capimannoni-2, ingerindo parte das sementes que são excretadas juntamente com as fezes. A outra parte cai no solo, formando bancos de sementes (FOCHT; MEDEIROS, 2012).

A espécie tem várias características indesejáveis: conferem uma vantagem competitiva sobre as espécies locais, incluindo o rápido crescimento, uma longa fase reprodutiva, um efeito alelopático e um banco de sementes persistente (BARBOSA et al, 2012). A expansão da *E. plana* Nees é preocupante, uma vez que seu controle, após sua incidência é de difícil erradicação, exigindo o uso de herbicidas, roçadas e queimadas, o que gera danos ambientais e sociais, sendo que as ervas daninhas são uma das maiores ameaças de destruição de biodiversidades (PICCININI et al., 2012).

Considerada a mais agressiva erva daninha, de mais difícil controle nos campos, é a responsável pela infestação de cerca de um milhão de hectares no estado do Rio Grande do Sul (SCHEFFER-BASSO et al, 2012). Aproximadamente 20% da vegetação dos campos no Sul do país encontram-se infestadas com a espécie, o que corresponde a uma área de 3,1 milhões de hectares, podendo, um único indivíduo, gerar em torno de 300 mil sementes (GOULART et al., 2009). A figura 06 mostra uma área infestada pelo capim-annoni-2 na cidade de Pato Branco/PR.

A infestação pelo capim é de larga escala geográfica, sendo encontrada, também, nos estados de Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná, Bahia, São Paulo, Mato Grosso, Tocantins e no Uruguai (MEDEIROS; FOCHT, 2007). Sua expansão para as outras regiões ocorreu pelo transporte de animais e o fluxo de veículos, sendo dominante em acostamentos viários, constituindo-se no principal foco disseminador da espécie (MEDEIROS; FERREIRA, 2011). A espécie é, atualmente, uma erva invasora em várias regiões da Ásia, Índia, América do Sul e Estados Unidos (BARBOSA et al, 2012).



Figura 06: área infestada de capim-annoni-2

A produção de sementes e a germinação destas são altas, pois, como são pequenas, possuem a habilidade de enterrar-se, de evitar sua germinação precoce e de formar bancos de sementes, uma vez que quanto mais profunda a semente estiver, maior sua capacidade germinativa (MEDEIROS; FOCHT, 2007). Estas sementes, quando ingeridas por animais, se mantêm viáveis mesmo depois da passagem pelo trato digestivo de ruminantes, podendo ser encontradas frações destas sementes nas fezes bovinas, quando excretadas nos campos (LISBOA et al., 2009). As sementes são viáveis nas fezes por até três dias após a ingestão (FOCHT; MEDEIROS, 2012).

E. plana Nees, apresenta constantes renovações em sua estrutura basal onde há a compactação de inúmeros ramos laterais, denominados perfilhos, distribuição subterrânea e alongamento das raízes apenas na fase reprodutiva, sendo o controle mecânico um método alternativo para minimizar sua ocorrência. (SCHEFFER-BASSO et al, 2012).

O controle desta daninha restringe-se ao controle químico, com uso de herbicidas, e cultural, com o manejo das áreas convertidas para a agricultura. O controle biológico consiste no uso de inimigos naturais para manter a população da espécie alvo em níveis controlados, reduzindo, assim, o dano (NACHTIGAL et al., 2009). Herbicidas pré-emergentes aplicados sobre a pastagem devem se localizar na superfície do solo para atuarem sobre a emergência do capim-annoni-2 (GOULART et al., 2009).

A semelhança genética do capim-annoni-2 com as espécies forrageiras nativas ou mesmo as cultivadas, limitam o controle químico com herbicidas aplicados em área total. O gênero *Eragrostis*, uma vez pertencente à família *Poaceae*, é a mesma família de forrageiras importantes dos gêneros *Paspalum*, *Panicum* e *Andropogon*, por exemplo. Sendo assim, herbicidas que afetam poáceas têm potencial para controlar o capim-annoni-2, mas igualmente podem causar intoxicação em espécies forrageiras desta família (GOULART et al., 2012).

Desse modo, os atributos dados a esta planta classificada como invasora é feita através da rejeição dos animais, ser rápida em crescimento, ter longa fase reprodutiva, ter sementes persistentes e por apresentar o fenômeno da alelopatia. Os efeitos alelopáticos prejudicam a germinação e/ou crescimento de culturas nativas, fato que pode estar contribuindo para a expansão do capim-annoni-2 sobre os campos (FERREIRA; MEDEIROS; SOARES, 2008). Esta espécie ativa os mecanismos de crescimento, inibindo a germinação e o crescimento inicial de outras espécies vizinhas (SCHEFFER-BASSO et al, 2012).

Pesquisas sobre o potencial alelopático do capim-annoni-2 na inibição de outras espécies daninhas, faz-se necessário devido à carência de estudos neste sentido.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL – IDENTIFICAÇÃO E COLETA

A coleta da *E. plana* Nees foi realizada na área experimental da UTFPR - Câmpus Pato Branco, no verão e no inverno, onde as touceiras da mesma foram retiradas manualmente, com todas suas partes: raízes, folhas e inflorescências. Sua exsicata, após identificação realizada pela Prof^a. Ilsi Iob Boldrini foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências – PPG Botânica, sob o número ICN nº 174417. Após a coleta, as touceiras foram colocadas em sacos plásticos para o transporte (figura 07) para posterior separação das folhas.



Figura 07. *E. plana* Nees coletada na Área experimental da UTFPR – Câmpus de Pato Branco

As folhas foram separadas das raízes e inflorescências manualmente, com auxílio de tesoura, depois de separadas, foram submetidas à secagem em estufa em temperatura de 40 °C. Segundo Melo, Radünz e Melo, 2004, p. 308:

Os constituintes voláteis aromáticos presentes nas plantas medicinais são os componentes mais sensíveis ao processo de secagem (...). A secagem pode aumentar o número de modificações físicas e químicas negativas, alterando a qualidade da matéria-prima para a sua comercialização como, por exemplo, mudanças em aparência (coloração), cheiro e possíveis perdas de constituintes voláteis (MELO; RADÜNZ; MELO, 2004).

A secagem atua reduzindo o teor de água e diminuindo a possibilidade de deterioração do material vegetal. Reduzindo-se a água, aumenta-se a quantidade de princípios ativos presentes na planta em relação a sua massa seca (MELO; RADÜNZ; MELO, 2004), além de aumentar a conservação do vegetal para posterior uso ou comercialização.

O processo não deve ser muito rápido, para não se perderem princípios ativos importantes e nem muito lento, pois, neste caso, pode-se propiciar o aparecimento de micro-organismos indesejáveis (MONTANHER et al., 2011).

A temperatura de secagem de plantas medicinais pode variar entre 20 e 40 °C, para folhas e flores (MELO; RADÜNZ; MELO, 2004). Alguns trabalhos já realizados mostram temperaturas de secagem entre 40 e 60°C para as folhas de plantas, sem causar alterações significativas na quantidade e qualidade dos constituintes químicos. Portanto, a temperatura de secagem deve ser controlada e estudada de acordo com a espécie de planta utilizada, visando assegurar que compostos químicos não sejam degradados nem sofram alterações (MONTANHER et al., 2011).

3.1.1 Obtenção de metabólitos secundários voláteis

3.1.1.1 Hidrodestilação

Uma vez o material vegetal seco, o mesmo foi triturado e pesado. A obtenção do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação, em aparelho de Clevenger, no laboratório de química da UTFPR, Campus Pato Branco. Cada amostra de material vegetal (folhas/verão), foi submetida a 2 horas de hidrodestilação, em triplicata; em média 60 gramas de folhas para cada litro de água. Foram necessárias diversas repetições do processo de

hidrodestilação, a fim de possibilitar a obtenção de óleo essencial em quantidade satisfatória para as análises. O óleo essencial assim obtido foi retirado do aparelho de Clevenger com o auxílio de porções de éter etílico ($C_4H_{10}O$). Sulfato de sódio anidro foi utilizado para secagem das amostras, que foram, em seguida, filtradas. Finalmente, as amostras de óleo essencial foram armazenadas em *vials* e mantidas sob refrigeração até a análise. Na figura 08, pode-se observar aparelhos de Clevenger utilizados para a hidrodestilação realizada.



Figura 08: Aparelhos de Clevenger utilizados na hidrodestilação do capim-annoni-2.

3.1.1.2 Análise do óleo essencial

O óleo essencial obtido (em triplicata) foi analisado em cromatógrafo gasoso (Varian 431-CG), acoplado a um espectrômetro de massas (Varian 210-MS), nas seguintes condições: coluna VF-5ms (30m x 0,25mm x 0,25um), temp. inj. 250° C, rampa de aquecimento 60° C - 3° C/min -240° C, gás hélio, fluxo de 1 mL/min.

A identificação dos constituintes foi realizada com base nos índices de retenção (Adams 2007, Van del Dol e Kratz 1964), calculados a partir da co-injeção de uma mistura de *n*-alcanos, e por comparação dos seus espectros de massas.

3.1.2 Metabólitos secundários não voláteis

3.1.2.1 Obtenção dos extratos

O material botânico após seco, moído e pesado, foi submetido à extração exaustiva a frio, com solventes em ordem crescente de polaridade (éter de petróleo e acetato de etila). Cada solvente permaneceu em contato com as folhas de capim-annoni-2 por um período de 15 dias. O resíduo remanescente foi desprezado. Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida, à temperatura de 35 °C (ANDREI et al., 2002). Este procedimento foi realizado igualmente com amostras obtidas nas estações climáticas do verão e do inverno.

Após completa secagem, pequenas quantidades dos extratos foram retiradas e submetidas aos testes de potencial alelopático.

Todos os extratos concentrados foram submetidos ao infravermelho, utilizando um Spectrum one FT-IR Spectrometer para a análise das amostras. As amostras foram empastilhadas com KBr (brometo de potássio) para espectroscopia da VETEC Química Fina em prensa hidráulica mod. Specac.

3.2 AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA

3.2.1 Espécie receptora

Foi utilizada a espécie corda de viola (*Ipomoea grandifolia*), mostrada na figura 09, como espécie receptora dos extratos. As sementes foram obtidas de empresa especializada na produção de sementes de plantas daninhas e multiplicadas na Área Experimental da UTFPR, Câmpus Pato Branco, passando por processo de limpeza, desinfecção e seleção de sementes.



Figura 09: Sementes de *Ipomea grandifolia* utilizadas nos testes alelopáticos como espécie receptora.

3.2.1.1 Limpeza e desinfecção

Anteriormente a realização dos testes, as sementes da espécie receptora passaram por um protocolo de limpeza, desinfecção e quebra de dormência. Primeiramente, as sementes foram desinfetadas com álcool 50% por 1 minuto. Em seguida utilizou-se hipoclorito de sódio 3:1 (água destilada:hipoclorito de sódio) por 10 minutos, seguido de lavagem com água destilada (FERREIRA; BORGUETTI, 2004).

Para a quebra de dormência, após limpeza e desinfecção, as sementes foram acondicionadas em um béquer, onde adicionou-se água quente (98°C) em quantidade suficiente para encobrir as sementes, por um período de 1 (uma) hora. Logo após, as sementes

foram retiradas, resfriadas e secas a temperatura ambiente, para posterior realização dos bioensaios.

3.2.2 Preparo das diluições

Com os extratos brutos da folha do capim-annoni-2, então com os solventes evaporados, foram realizadas as diluições, para os posteriores testes alelopáticos, nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500 ppm e duas testemunhas: a água e o branco.

Para todas as diluições foi utilizado o emulsificante Tween® 80 na proporção 1:1. Isto porque, devido a consistência oleosa dos extratos, o Tween® 80 auxiliou na homogeneização do extrato com água, atuando como agente dispersante no preparo de soluções (NASCIMENTO et al., 2008).

Para a preparação do branco, foi utilizado o Tween® 80 e o solvente do respectivo extrato na maior massa. Banho de ultrassom também foi utilizado para melhor solubilização.

3.2.2.1 Teste de Schardakow

Todas as diluições, de todos os extratos, foram, primeiramente, submetidas ao teste de Schardakow, que testa o potencial osmótico da amostra. Isto porque, como foi necessária a utilização do emulsificante nas mesmas e de solventes orgânicos nos extratos, estes poderiam vir a mascarar ou comprometer os resultados dos testes alelopáticos (NASCIMENTO et al., 2008).

Este método baseia-se na transferência líquida de água entre amostras de tecido vegetal e soluções-testes de pressões osmóticas conhecidas. A transferência é determinada pela mudança de densidade das soluções-testes. A densidade das soluções-testes aumenta, diminui ou permanece invariável, conforme o tecido apresente potencial hídrico menor, maior ou igual ao da solução externa, respectivamente (LOUREIRO, 2009).

Com concentrações de sacarose conhecidas, entre $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, o teste permitiu determinar a concentração das soluções dos extratos de capim-annoni-2. As soluções

de sacarose foram postas em tubos de ensaios e nas soluções testes foi adicionado azul de bromotimol, apenas para conferir as mesmas, coloração azul, auxiliando no sistema visual. Em concentrações menores de sacarose, as soluções do extrato testadas, descem e, com o aumento das concentrações de sacarose, o oposto acontece, como pode ser verificado na figura 10. Até a ocorrência da estabilização da solução do extrato de *E. plana* Nees, na solução conhecida de sacarose, a determinação da concentração destes extratos foi testada.

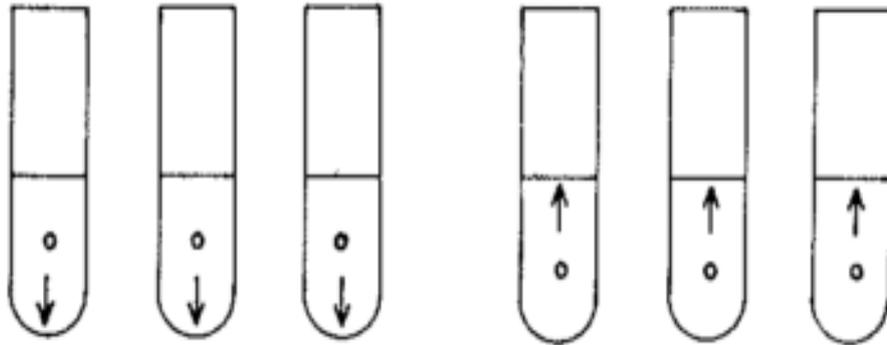


Figura 10: diferença de densidade, que pode ser verificada no Teste de Schardakow, entre uma solução de concentração conhecida de sacarose e uma quantidade (gota) de uma amostra qualquer, com concentração previamente estabelecida.

3.2.2.2 Tratamentos utilizados

Para todos os testes, foram empregadas 5 doses com concentração de 100, 200, 300, 400 e 500 ppm de cada extrato bruto obtido (éter de petróleo e acetato de etila no verão e inverno), em quatro repetições, adicionando-se o volume de 5,0 mL em cada placa de Petri. As soluções testes foram adicionadas apenas uma vez, quando do início dos bioensaios sendo, a partir de então, adicionado apenas água destilada, sempre que necessário. Como testemunha 1, utilizou-se água destilada e, como testemunha 2 (ou branco), a mistura do solvente orgânico do extrato com Tween® 80, totalizando 7 (sete) tratamentos.

3.2.3 Bioensaio de germinação

Para todos os extratos brutos (acetato de etila/verão; éter de petróleo/verão; acetato de etila/inverno; éter de petróleo/inverno) foram utilizados os mesmos tratamentos e repetições. Cada placa de Petri recebeu 10 sementes de *I. grandifolia* (figura 11), e uma alíquota de 5,0 mL de cada um dos tratamentos.



Figura 11: Placa de Petri com as sementes receptoras.

A germinação foi monitorada por um período de 7 dias, com contagens diárias, cujo critério de germinação foi a apresentação de extensão da raiz primária igual ou superior a 2 mm. Os testes foram realizados em câmaras tipo BOD, com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Todas as placas de Petri foram forradas com duas folhas de papel filtro qualitativas.

Ao final de cada bioensaio, foi possível calcular o índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG), conforme as expressões abaixo.

IVG (índice de velocidade de germinação):

$$IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots Gn/Nn$$

Onde: G1, G2, ... Gn = número de sementes germinadas nas observações diárias;

N1, N2, ... Nn = número de dias após a semeadura;

Unidade: dia⁻¹. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

PG (porcentagem de germinação):

$$PG \rightarrow \%G = (\sum n_i \cdot N^{-1}) \cdot 100$$

Onde: $\sum n_i$ = número total de sementes germinadas em relação ao número de sementes dispostas para germinar (N);

Unidade: porcentagem (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

TMG (tempo médio de germinação):

$$TMG \rightarrow \bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k}$$

Onde: t_i = tempo entre o início e o fim do bioensaio (hora);

n_i = número de sementes que germinaram no tempo t_i (não considera-se o número acumulado);

k = último dia de observação;

Unidade: hora (SANTANA E RANAL, 2000).

VMG (velocidade média de germinação):

$$VMG \rightarrow 1/TMG$$

Onde: Unidade: hora⁻¹ (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

3.2.4 Bioensaio de alongamento

Os testes de alongamento de raiz e hipocótilo foram realizados em câmaras tipo BOD, em condições controladas de 25 °C de temperatura constante e fotoperíodo de 12 horas, com os mesmos tratamentos utilizados no bioensaio anterior, com o diferencial de que as placas de Petri, forradas com papel filtro, receberam cinco sementes pré-germinadas (figura 12), em caixas do tipo Gerbox, um dia após a protusão (germinação) da radícula em 2 mm (figura 13).



Figura 12: cinco sementes pré-germinadas de *I. grandifolia*, em contato com um tratamento.



Figura 13: Sementes de *I. grandifolia* pré-germinadas em caixa Gerbox.

Foram realizadas as medições de hipocótilo e radícula diariamente num período de 7 dias para cada extrato. Ao final das medições diárias, foi possível calcular a média de crescimento das partes em cada repetição e em cada dose.

3.2.5 Delineamento experimental

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, além de duas testemunhas.: testemunha 1 (água) e testemunha 2 (branco). O conjunto de dados compostos pelas variáveis dependentes: inibição de germinação, alongamento do hipocótilo e da radícula da espécie receptora, em cada um dos extratos, foi submetido à análise de homogeneidade de variâncias pelo teste de Cochran C e à análise de normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis dependentes que apresentaram homocedasticidade entre suas variâncias foram submetidas à análise de variância (*ANOVA*) e ao teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerada a planta daninha de maior agressividade nos campos e pastagens naturais, o capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) pode alcançar a altura de um metro em forma de touceiras (figura 14) e tendo como principal forma de disseminação, a propagação de suas sementes. Seus danos são evidenciados tanto na redução da biodiversidade dos sistemas de flora, bem como na redução da qualidade nutricional da pastagem do gado (GOULART et al., 2012).



Figura 14: Área experimental da UTFPR – Câmpus de Pato Branco - infestada por capim-annoni-2

As folhas coletadas no inverno e no verão foram submetidas à extração exaustiva com éter de petróleo e acetato de etila e após evaporação do solvente tiveram suas massas quantificadas (tabela 01)

Tabela 01. Massas obtidas dos extratos de *E. plana* Nees.

Extrato da folha de <i>E. plana</i> Nees	Massa seca (g)
Éter de petróleo/verão	4,682
Acetato de etila/verão	2,470
Éter de petróleo/inverno	1,238
Acetato de etila/inverno	2,135

4.1 INFRAVERMELHO

Frações de todos os extratos acima foram utilizadas para análise em infravermelho. A espectroscopia de infravermelho é uma das técnicas analíticas mais importantes disponíveis atualmente, com a vantagem de poder gerar espectros de amostras sólidas ou líquidas sem tratamento prévio, tendo se mostrado uma técnica eficaz e econômica na análise de amostras de diversas origens, como farmacêuticas, ambientais e agrícolas (FRANCESQUETT et al., 2013).

Os espectros das amostras encontram-se abaixo, nas figuras 15, 16, 17 e 18.

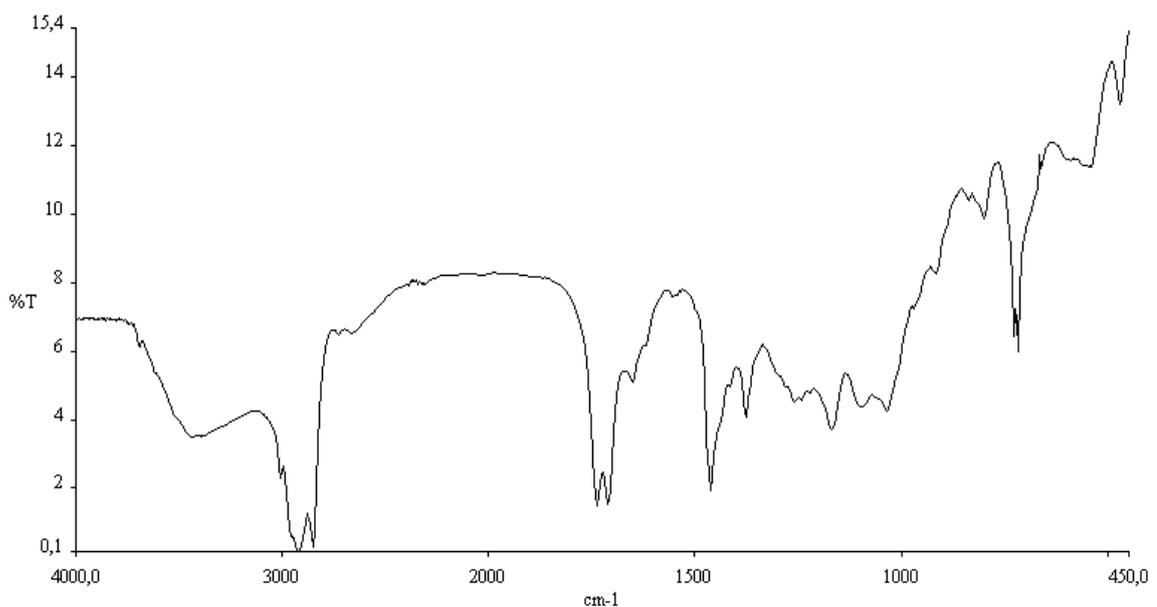


Figura 15: espectro do extrato de éter de petróleo/verão

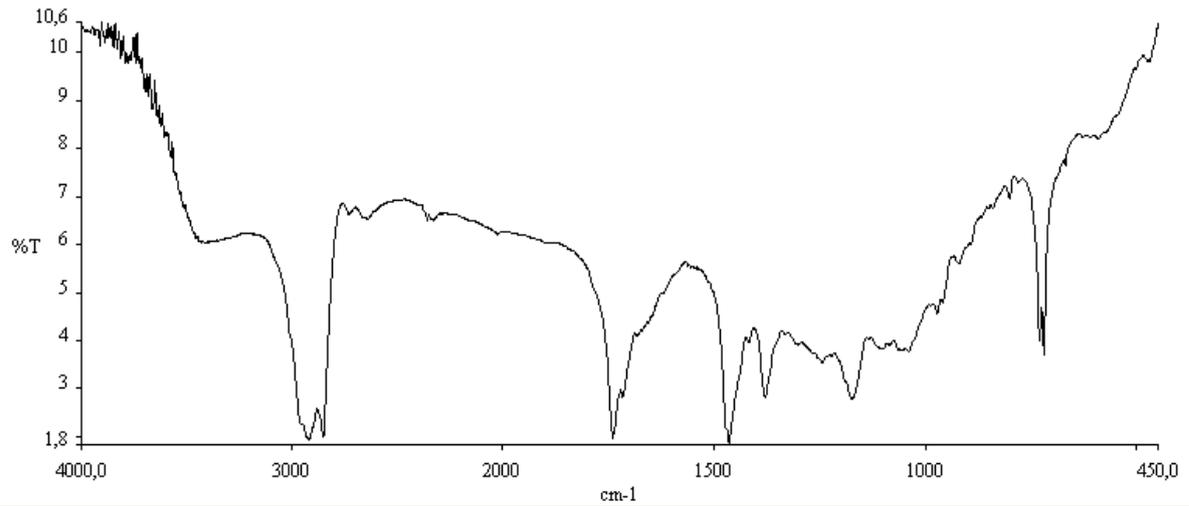


Figura 16: espectro do extrato de éter de petróleo/inverno

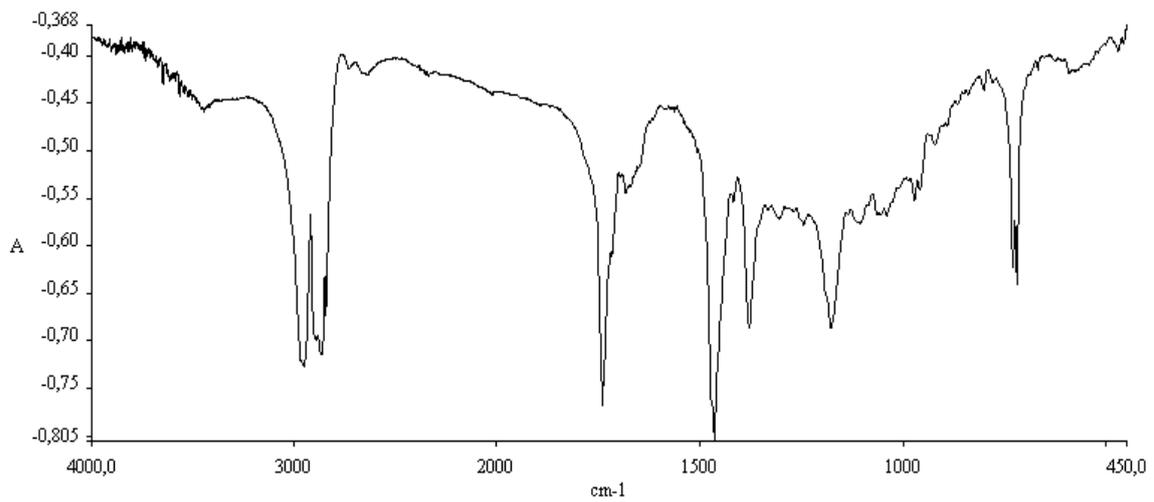


Figura 17: espectro do extrato de acetato de etila/verão.

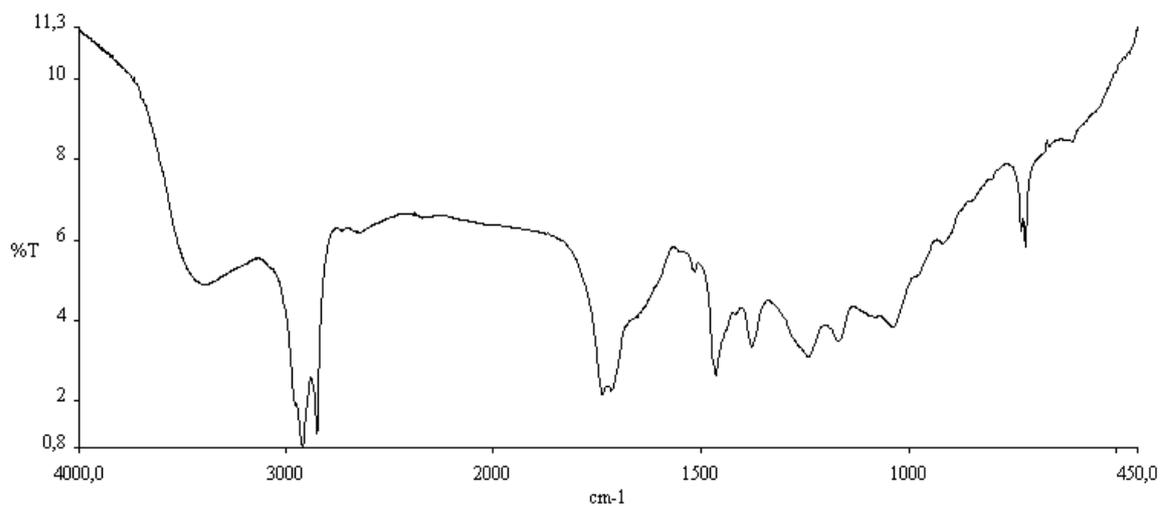


Figura 18: espectro do extrato de acetato de etila/inverno.

De maneira geral, os espectros de infravermelho dos extratos brutos obtidos (figuras 15, 16, 17 e 18) mostraram-se semelhantes entre si. Constatou-se absorções na região de $3.550\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$, correspondente a vibrações de deformação axial do grupamento hidroxila (OH). Observou-se também, bandas de deformação axial de C – H de aromáticos entre 3000 e 3100 cm^{-1} , que associados aos sinais encontrados nas regiões de baixa frequência, entre 900 e 675 cm^{-1} , reforçam a presença de compostos aromáticos, uma vez que esses sinais, muitas vezes são os que mais dão informações sobre a estrutura desses compostos. As bandas entre 3000 e 2760 cm^{-1} , podem ser atribuídas a deformações axiais observadas para C – H de grupos metila e metileno, na região de 1700 cm^{-1} (C=O), 1460 a 1065 cm^{-1} deformação angular CH_2 e/ou CH_3 , deformação axial C=C, deformação axial $\text{CH}_3\text{-CO}$. E, finalmente, entre 1260 e 1000 cm^{-1} são usualmente designadas como bandas de deformação axial C–O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

Observando-se os espectros de forma mais detalhada, destaca-se a diferença entre os extratos de *acetato de etila/inverno*, *éter de petróleo/inverno* e *acetato de etila/verão* com relação a banda na região de 1700 cm^{-1} , muito mais nítida neste último quando comparado com a mesma região no espectro de *acetato de etila/inverno* e *éter de petróleo/inverno*. O espectro do extrato *éter de petróleo/verão* apresenta banda nessa região com aspecto diferenciado em relação aos demais – uma banda com dois picos.

O espectro de *acetato de etila/ verão* é o que mais se diferencia em relação aos outros três – banda de OH não bem definida e região de 3000 cm^{-1} com dois picos bem definidos.

Portanto, pode-se considerar que, comparando-se solventes diferentes e/ou estações diferentes, é possível perceber diferenças entre os espectros de infravermelho dos extratos brutos estudados, mostrando a riqueza em termos de classes de compostos químicos presentes em cada um dos extratos.

4.2 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL

A análise dos constituintes do óleo essencial de *E. plana* Nees, foi realizada através de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas. Essa análise indicou 15 componentes presentes no óleo essencial de Capimannoni-2, sendo que destes, 10 foram

identificados com base nos índices de retenção (Adams, 2007), calculados a partir da co-injeção de uma mistura de *n*-alcanos, e por comparação dos seus espectros de massas.

Com relação ao óleo essencial, é importante destacar a dificuldade na obtenção, de quantidades suficientes para análise. Em função dessa dificuldade, várias repetições do procedimento de hidrodestilação foram feitos até que, sob condições otimizadas, foi possível coletar volume de óleo essencial suficiente para ser analisado.

Na Figura 19 é mostrado o cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de *E. plana* Nees, coletadas no verão:

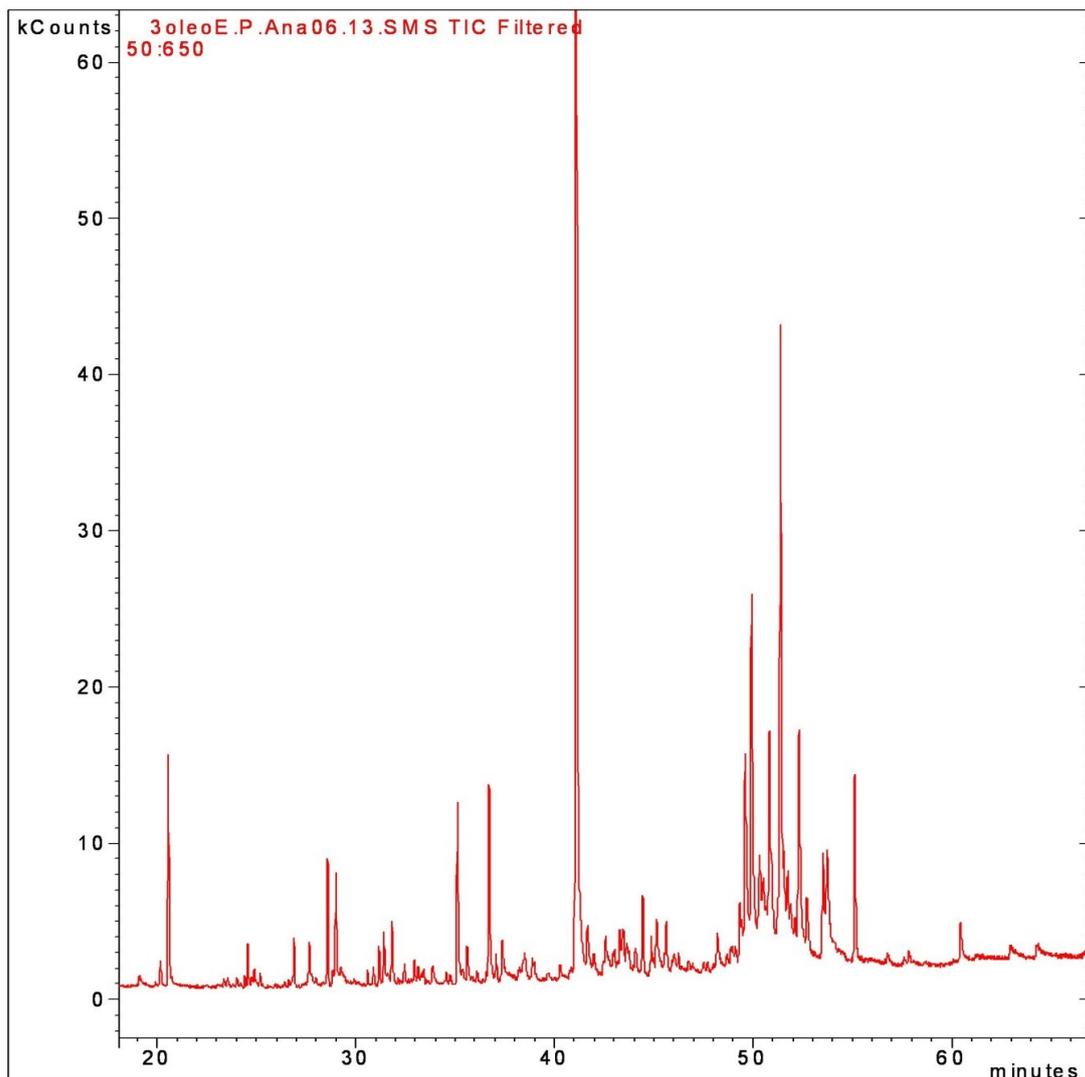


Figura 19 – Cromatograma do óleo essencial obtido de folhas de *E. plana* Nees coletadas no verão.

Na tabela 02, são apresentados os constituintes identificados com seus respectivos índices de retenção ou índice de Kovats calculado (IR Calculado), encontrado na literatura (IR Literatura), além do teor de cada componente (%), do óleo essencial de *E. plana* Nees.

Tabela 02: Teor (%) de compostos presentes no óleo essencial extraído de folhas de *E. plana* Nees

	Componente	IR Calculado	IR Literatura	Porcentagem %
1	Undec-(9 <i>E</i>)-en-1-al	1309,67	1312	2,58
2	Butylated hydroxytoluene	1504,46	1515	1,45
3	(<i>E</i>)-dihydro-Apofarnesal	1515,16	1521	1,51
4	(<i>E</i>)-Citronellyl tiglate	1674,73	1668	2,38
5	Cedroxyde	1718,71	1713	2,84
6	Abieta-(8(14),13(15)-diene	2121,67	2154	15,52
7	Sandaracopimarinal	2170,82	2184	15,12
8	7- α -hydroxy-Manool	2203,01	2237	5,40
9	(<i>E</i>)-Methyl communate	2254,35	2257	2,95
10	<i>n</i> -Tricosane	2304,74	2300	4,45
	Não identificados			45,80
	Identificados			54,20

O diterpeno Abieta-(8(14),13(15)-diene, foi o componente identificado em maior percentual na amostra de *E. plana* Nees 15,52%. E, praticamente com o mesmo teor, 15,12%, foi identificado o diterpeno oxigenado, o Sandaracopimarinal. Em seguida, o também diterpeno oxigenado, 7- α -hydroxy-Manool, com 5,40%. A análise do cromatograma apresentou como majoritário (38,02 %), um componente com tempo de retenção de 41 minutos e índice de retenção calculado (IR), com valor de 1842, mas não foi possível identificá-lo, da forma como foi utilizada para os demais – com base nos índices de retenção e por comparação do seu espectro de massas.

Estudos posteriores serão realizados no sentido de elucidar sua estrutura.

Os espectros de massas dos componentes que se apresentaram em maior concentração no óleo essencial de *E. plana* Nees são mostrados nas figuras 20, 21 e 22 respectivamente:

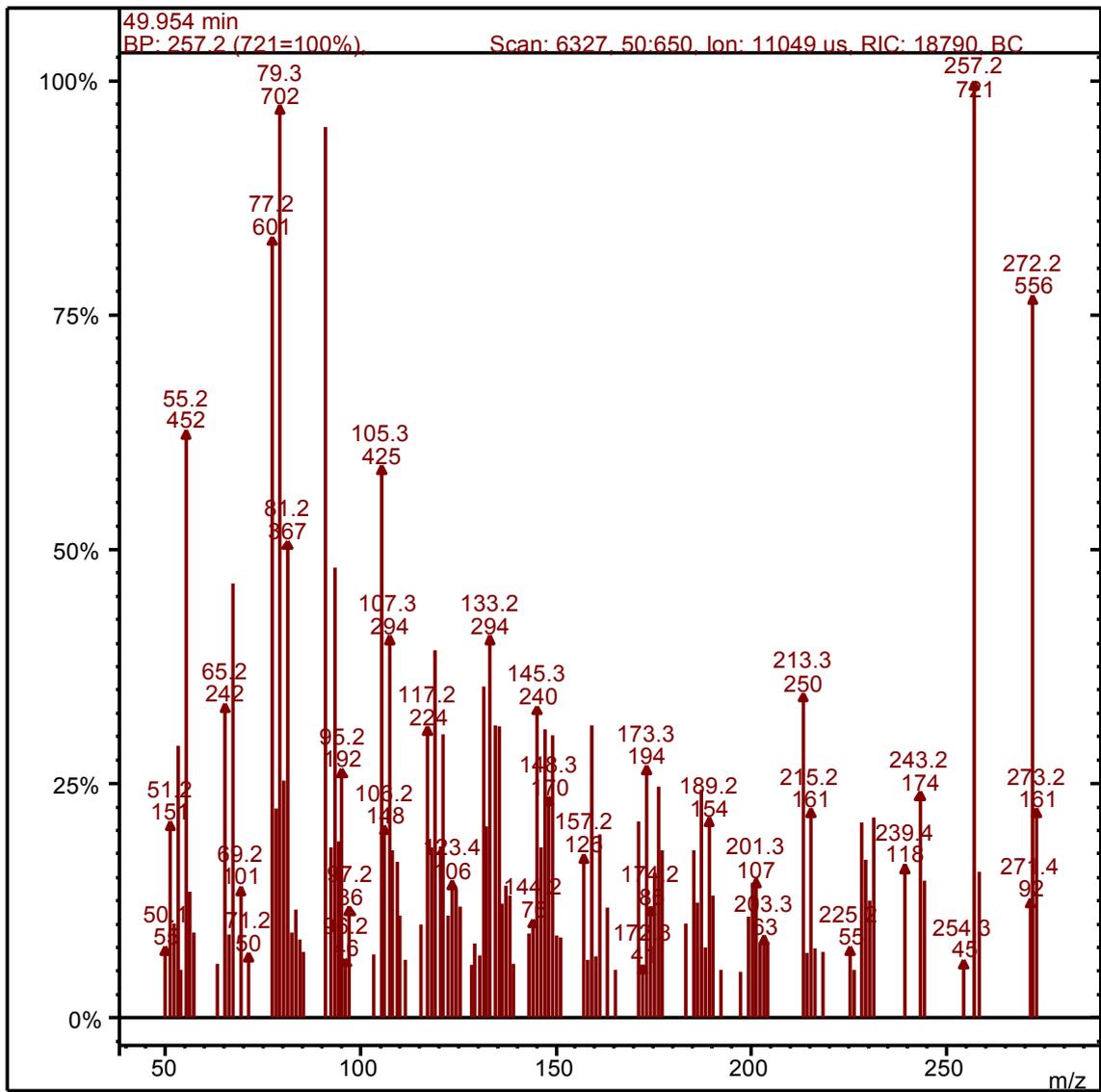


Figura 20: Espectro de massas do Abieta-(8(14),13(15)-diene (15,52%)

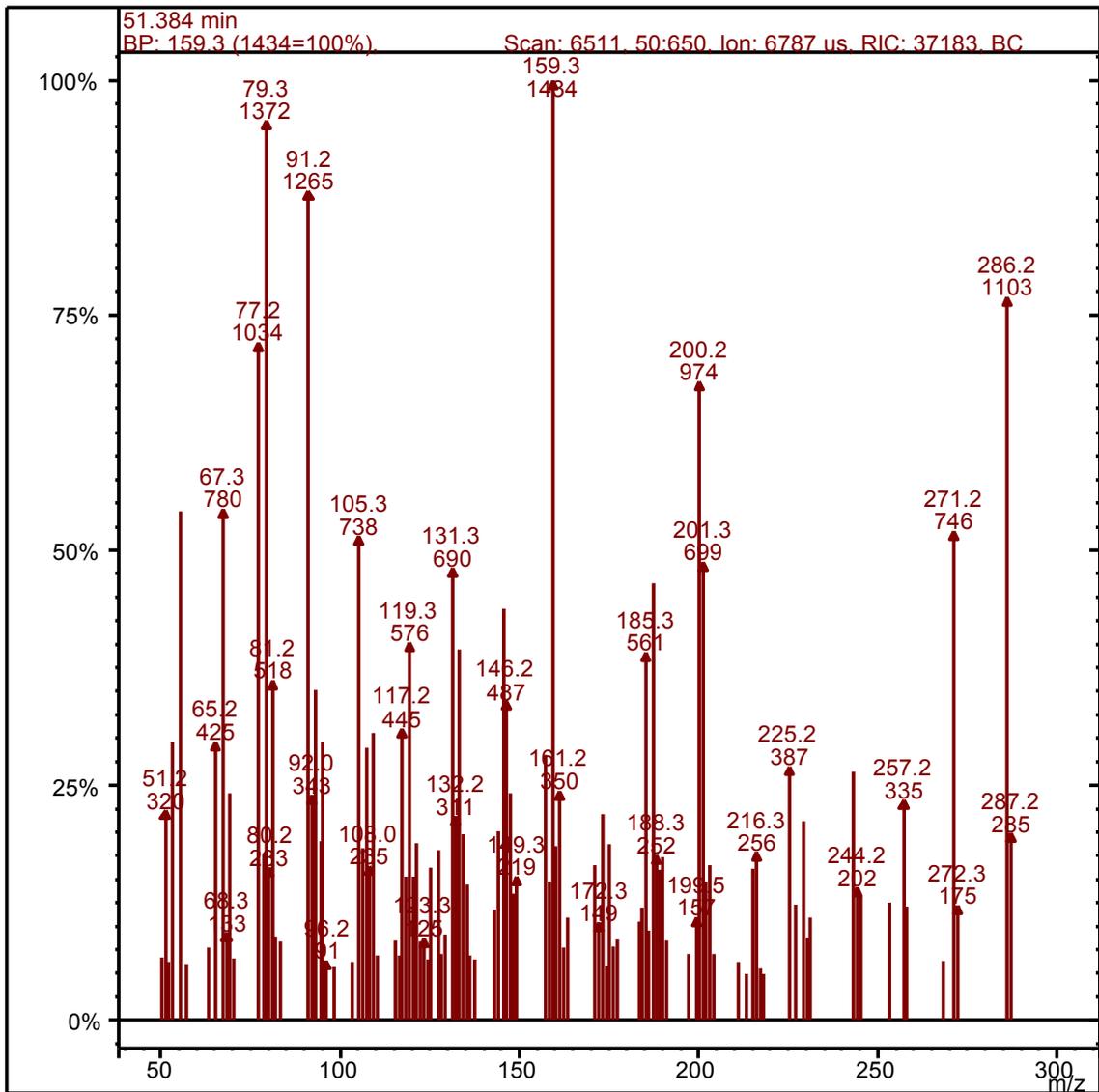


Figura 21: Espectro de massas do Sandaracopimarinal (15,12%).

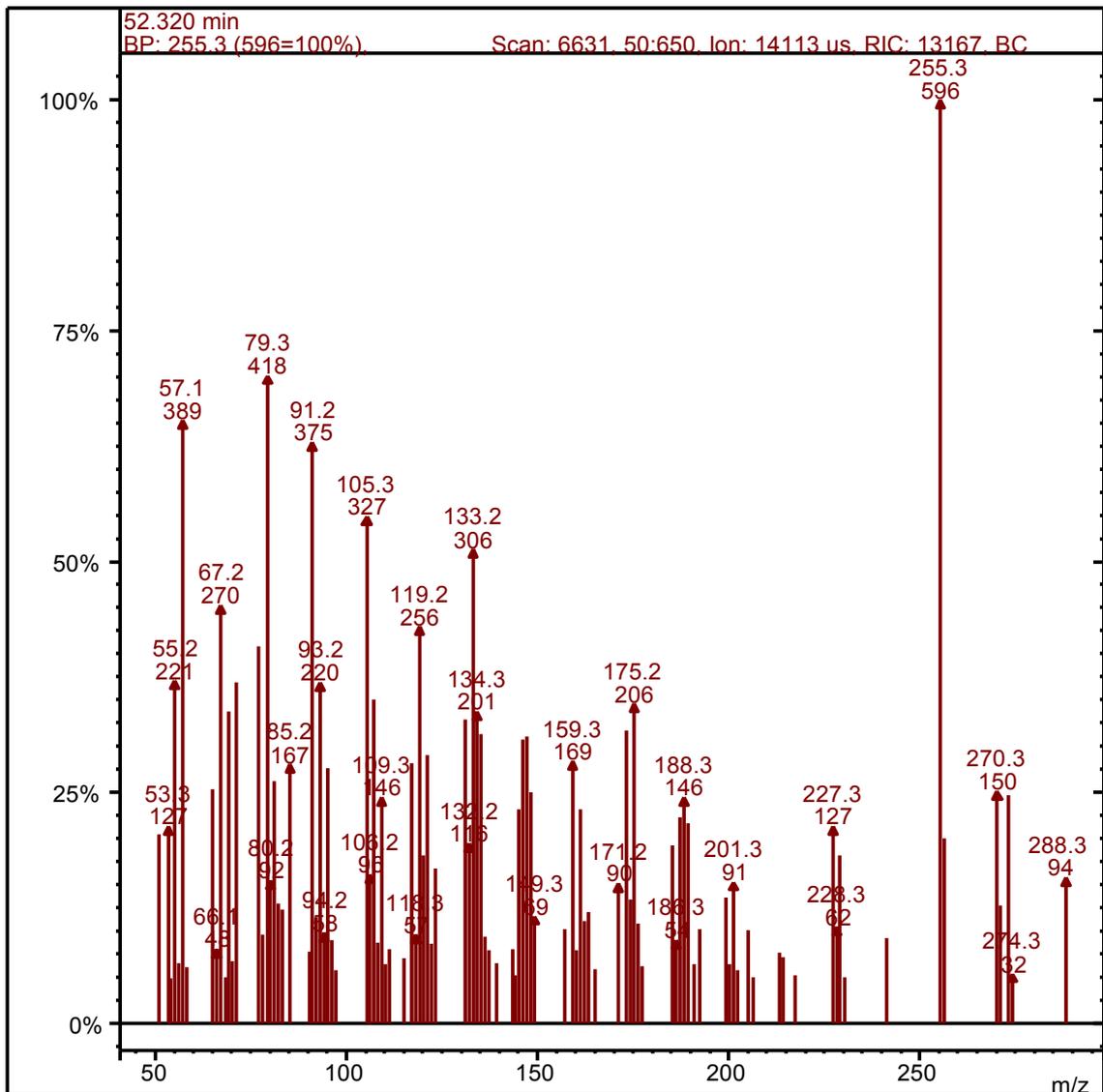


Figura 22: Espectro de massas do 7- α -hydroxy- Manool (5,40%).

A figura 23 apresenta as estruturas correspondentes aos componentes identificados em maior concentração, na análise do óleo essencial de folhas de capim annoni 2. Componentes de alto peso molecular.

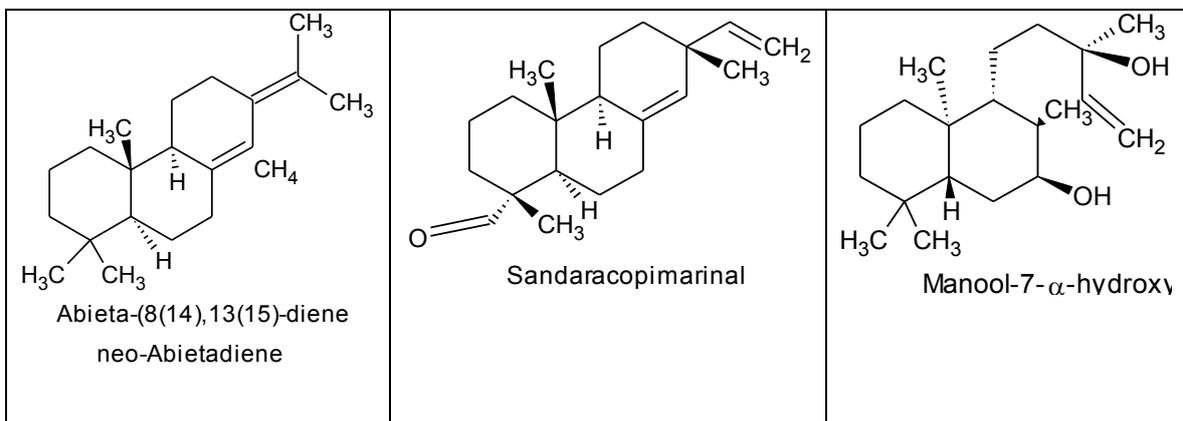


Figura 23: Estruturas dos componentes majoritários identificados na análise do óleo essencial.

4.3 TESTES ALELOPÁTICOS

Anteriormente aos testes alelopáticos, as sementes de *I. grandifolia* receberam um tratamento prévio de quebra de dormência, bem como limpeza e desinfecção e as soluções de *E. plana* Nees foram submetidas ao teste de Schardakow, onde verificou-se que, para todas as diluições, as concentrações se mostraram iguais ou menores que as de sacarose. As sementes, previamente escolhidas manualmente, limpas e secas, foram submetidas aos testes.

Aplicando a análise estatística observam-se os gráficos de regressão.

Para o extrato de acetato de etila/verão, observa-se na figura 24, que conforme ocorre o aumento do tempo médio de germinação, a velocidade de germinação diminui. Isto porque estas duas variáveis são inversamente proporcionais, o que pode ser verificado na fórmula utilizada na obtenção de tais valores.

O TMG é utilizado na quantificação da germinação sob o ponto de vista cinético, isto é, informa quanto tempo foi necessário para determinada amostra de sementes germinar. Outra forma utilizada nesta quantificação é o cálculo da velocidade média de germinação, a VMG, que se constitui no inverso do TMG (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Observa-se, também, na figura 25, que quanto maior o IVG, maior será a porcentagem de germinação.

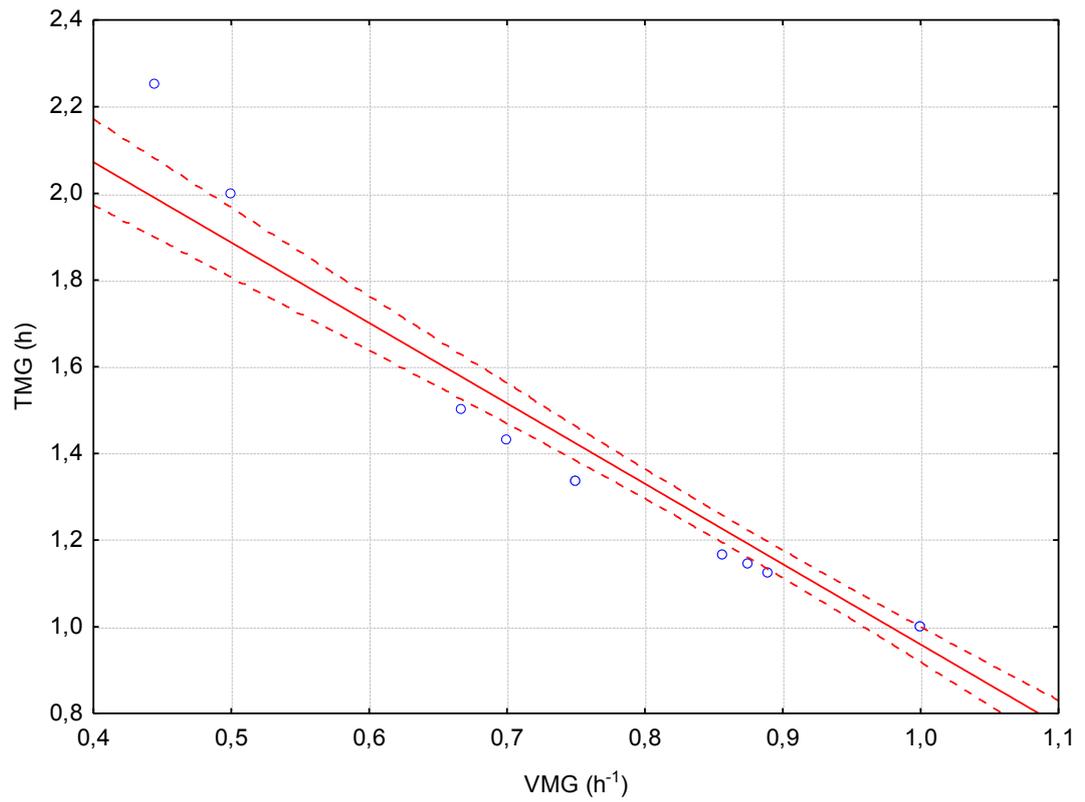


Figura 24:: Regressão verificada com acetato de etila/verão – TMG X VMG

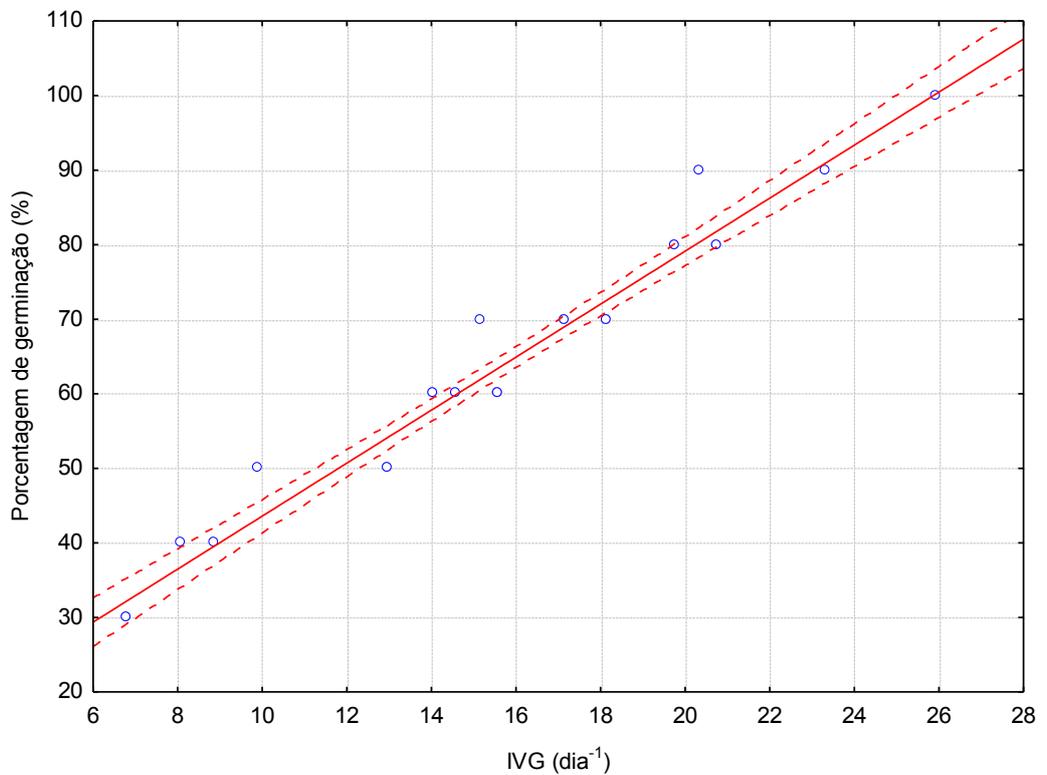


Figura 25: Regressão verificada com acetato de etila/verão – PG X IVG

Para o extrato de acetato de etila/inverno, foram repetidas as mesmas condições que para o extrato anterior (figuras 26 e 27), porém ao serem comparados os gráficos de regressão dos dois extratos brutos, percebe-se que o extrato bruto de acetato de etila/verão reduziu de forma mais significativa a porcentagem de germinação e, conseqüentemente, diminuiu também de forma mais acentuada os valores de IVG das sementes germinadas.

Na comparação entre os dois extratos de acetato de etila (verão e inverno), o tempo médio de germinação das sementes foi superior no extrato de verão, ou seja, as sementes neste extrato demoraram mais na germinação, e conseqüentemente, o VMG foi inferior. Isto pode ser explicado pelo fato de que no inverno, a concentração de água no vegetal é superior, logo, com maior umidade, a tendência é de que ocorra uma maior germinação.

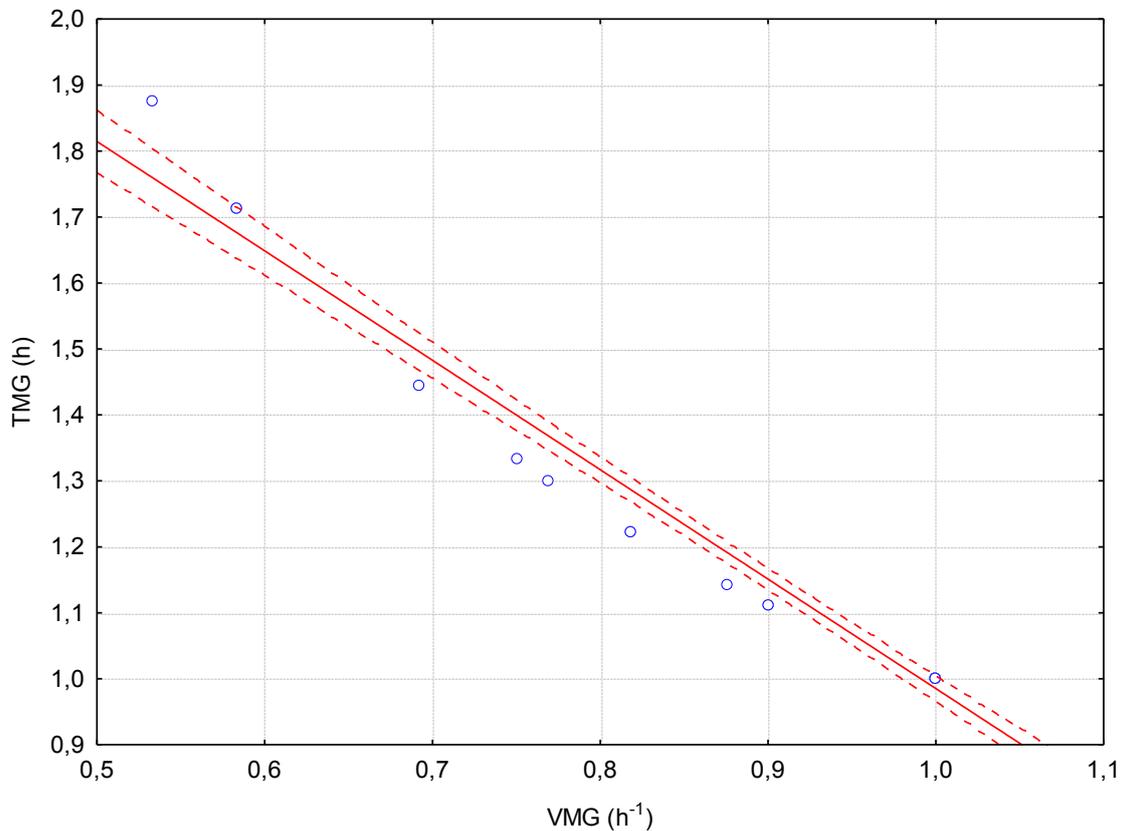


Figura 26: Regressão verificada com acetato de etila/inverno – TMG X VMG

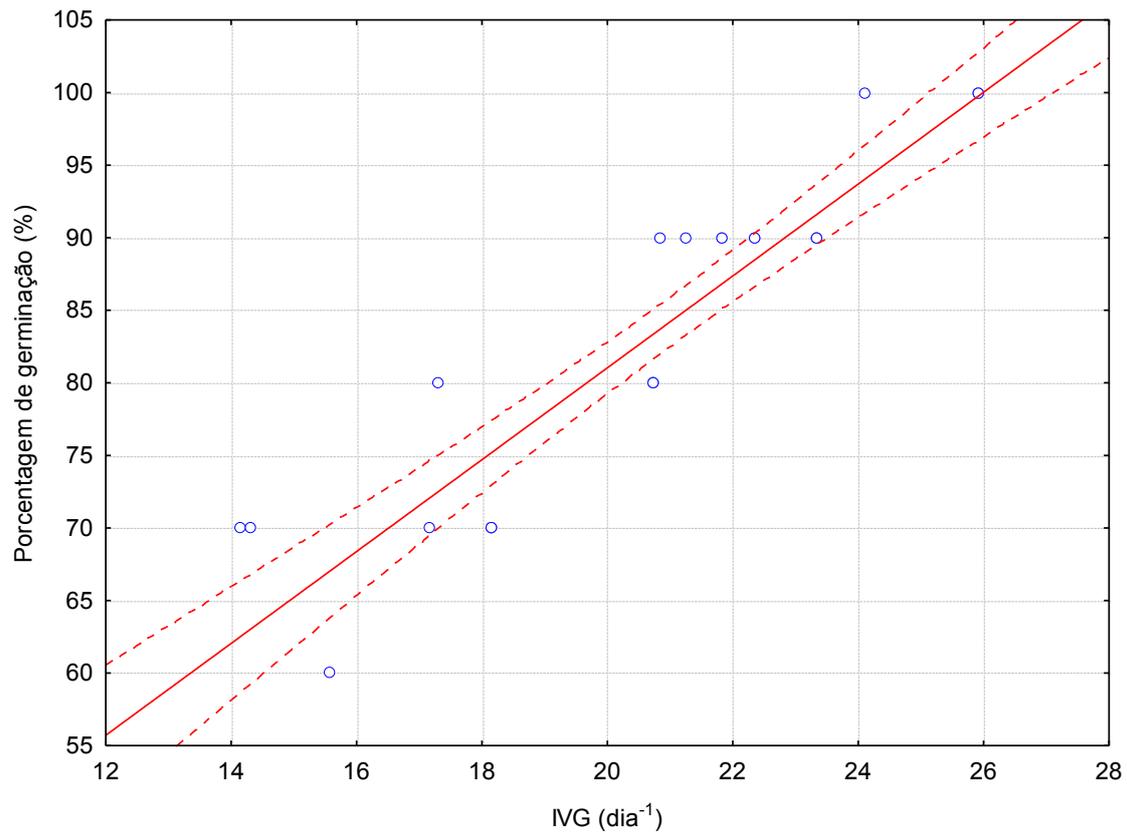


Figura 27: Regressão verificada com acetato de etila/inverno – PG X IVG

Já para o extrato contendo éter de petróleo/verão, a porcentagem de germinação se mostrou relativamente baixa, não atingindo em nenhum ponto a margem de 100% de germinação, diferentemente para os demais extratos, apresentando redução significativa na figura 28 -IVG x PG. A germinação observada das sementes de *I. grandifolia* foi baixa, portanto, o valor de IVG resultante também apresentou-se reduzido, indicando que o extrato utilizado foi eficiente na inibição da germinação.

Na figura seguinte, 29, mostra que quanto maior o TMG, menor a VMG, o que comprova que estes fatores são inversamente proporcionais.

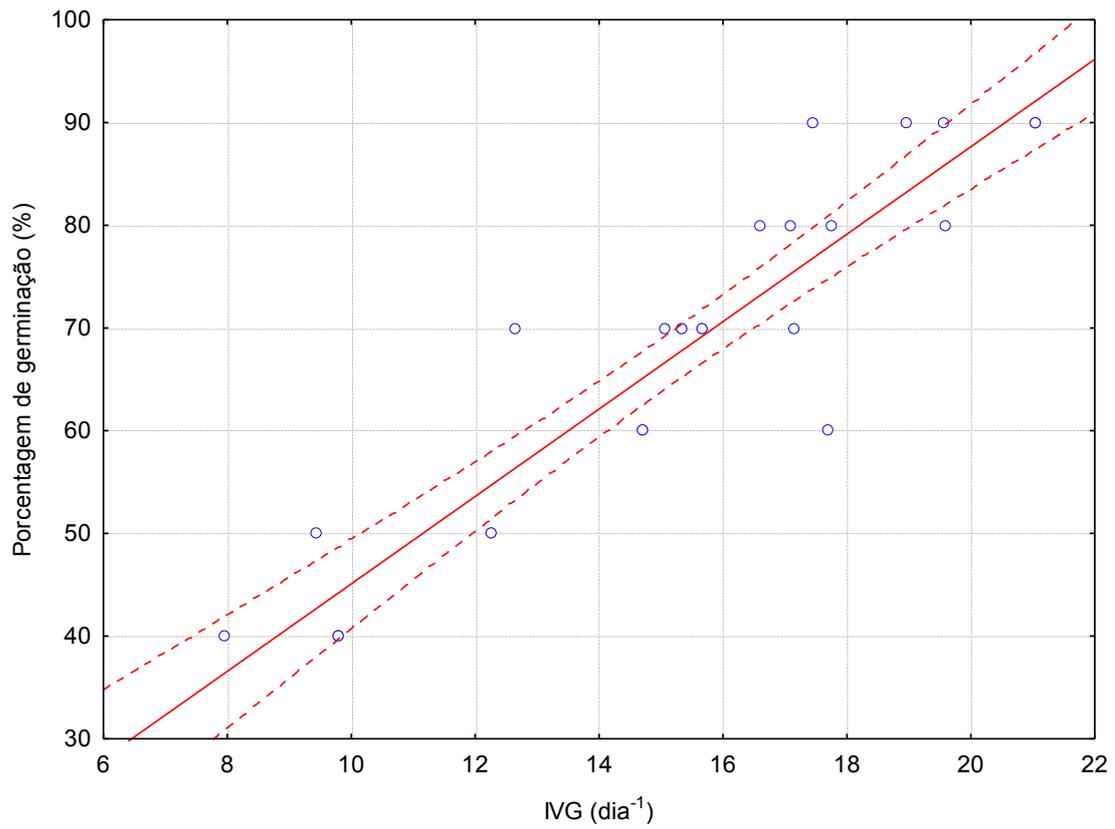


Figura 28: Regressão verificada com éter de petróleo/verão – PG X IVG

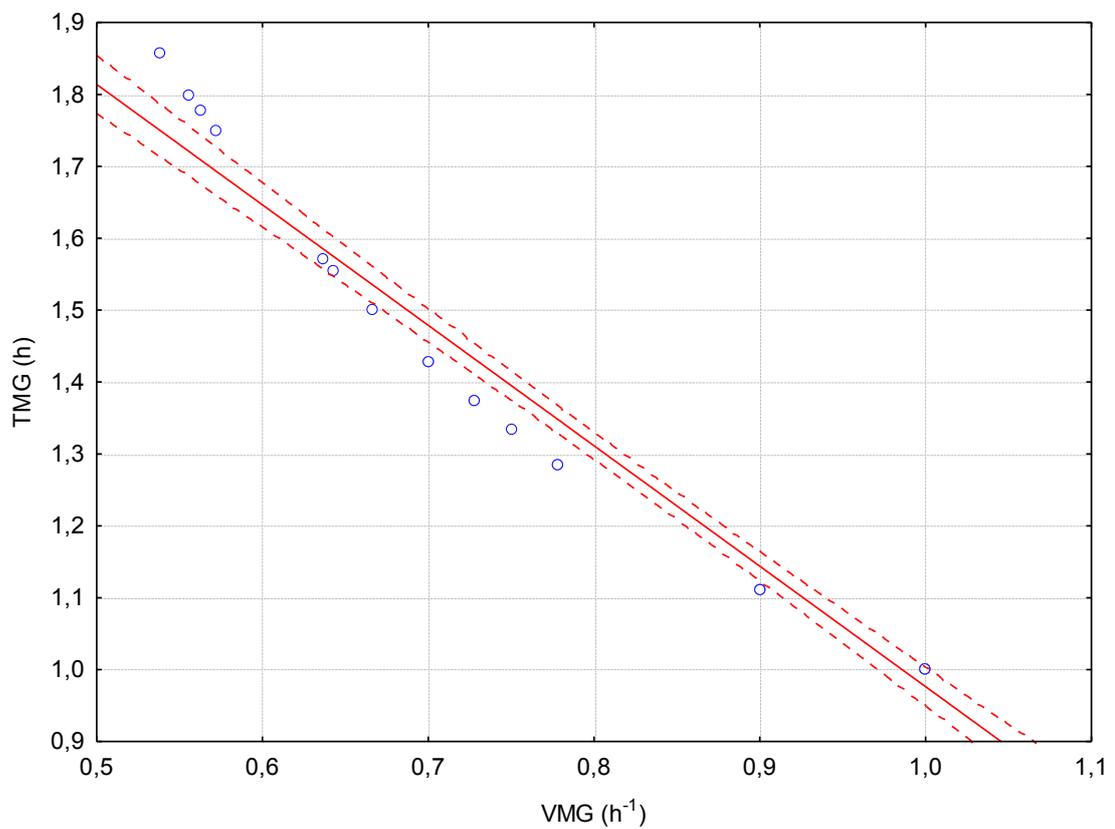


Figura 29: Regressão verificada com éter de petróleo/verão – TMG X VMG

E para o extrato de éter de petróleo/inverno, a porcentagem de germinação foi superior ao extrato deste solvente no verão, atingindo a germinação máxima (100%), com consequente aumento do IVG também, conforme figura 30. A regressão TMG x VMG mostrou-se semelhante ao extrato de verão (figura 31).

O extrato de éter de petróleo/inverno mostrou-se mais eficiente em valores de germinação, pois apresentou resultados reduzidos quando as variáveis TMG e IVG foram comparadas, conforme figura 32. Quanto maior o TMG, maior foi o IVG.

Em relação a figura 33, observa-se que na medida em que aumenta o IVG, aumenta-se a VMG, mostrando que são diretamente proporcionais.

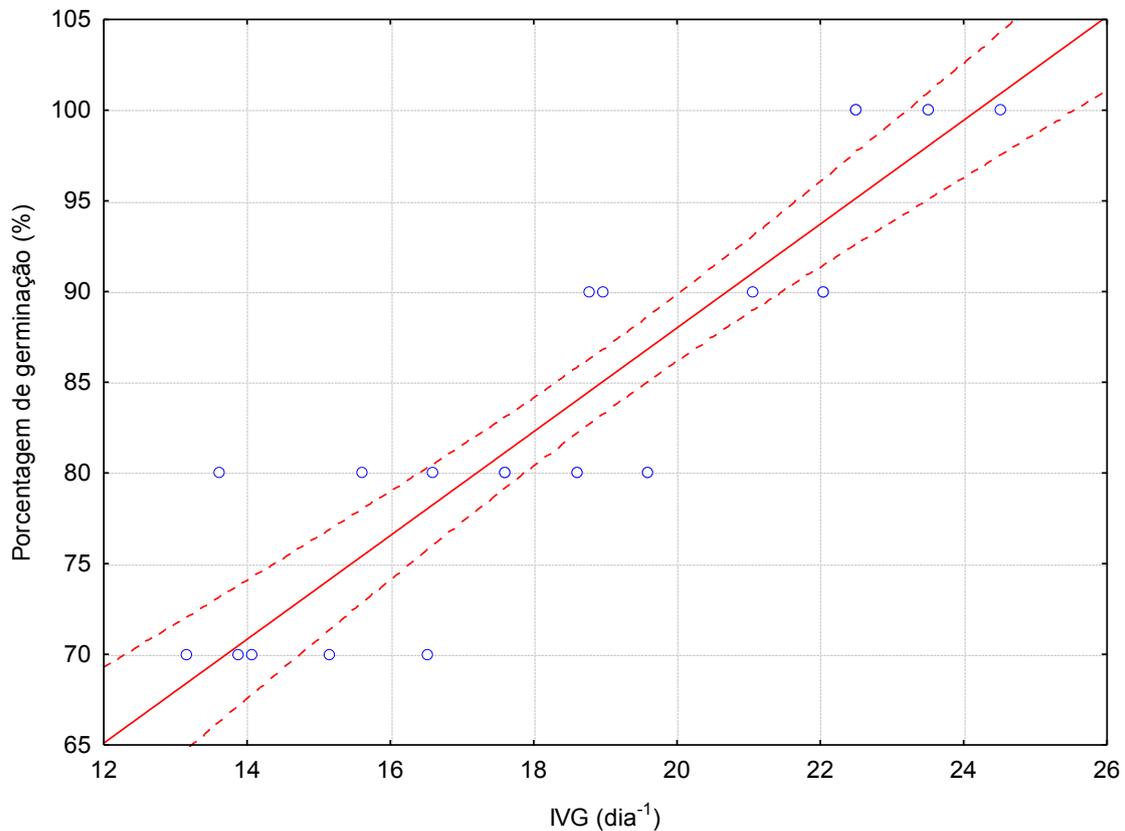


Figura 30: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – PG X IVG

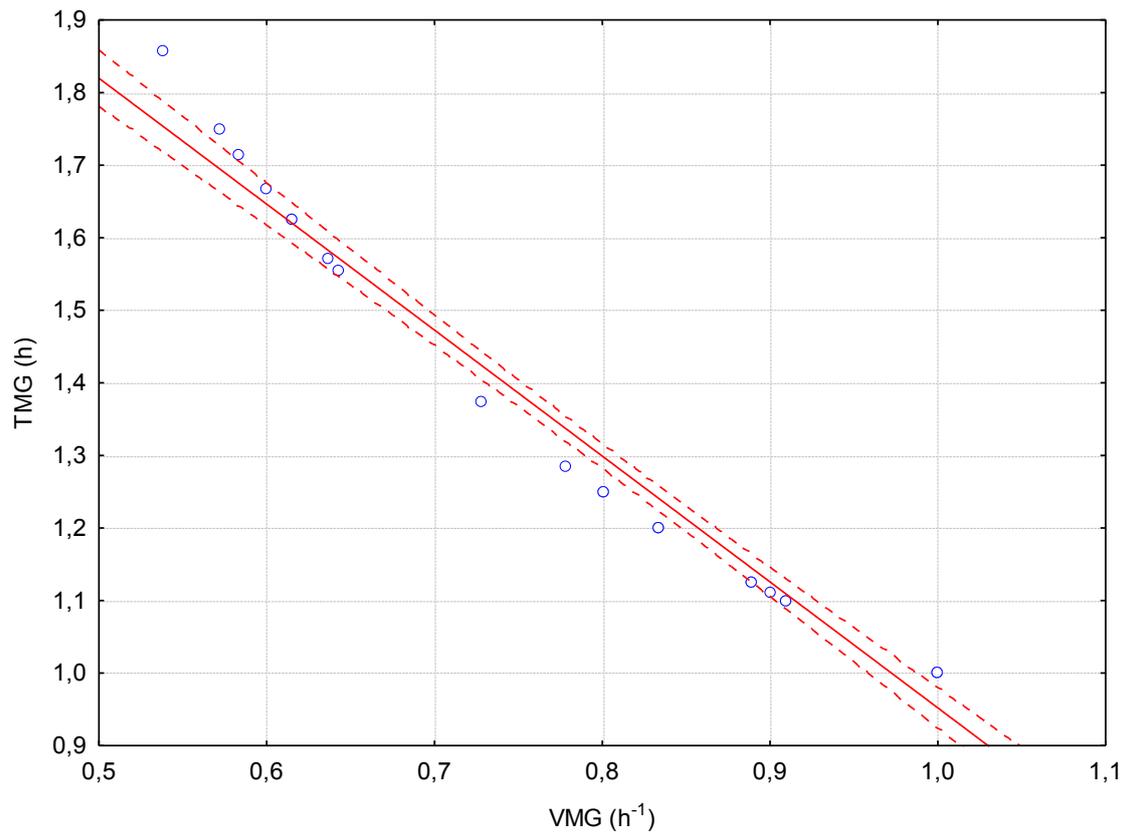


Figura 31: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – TMG X VMG

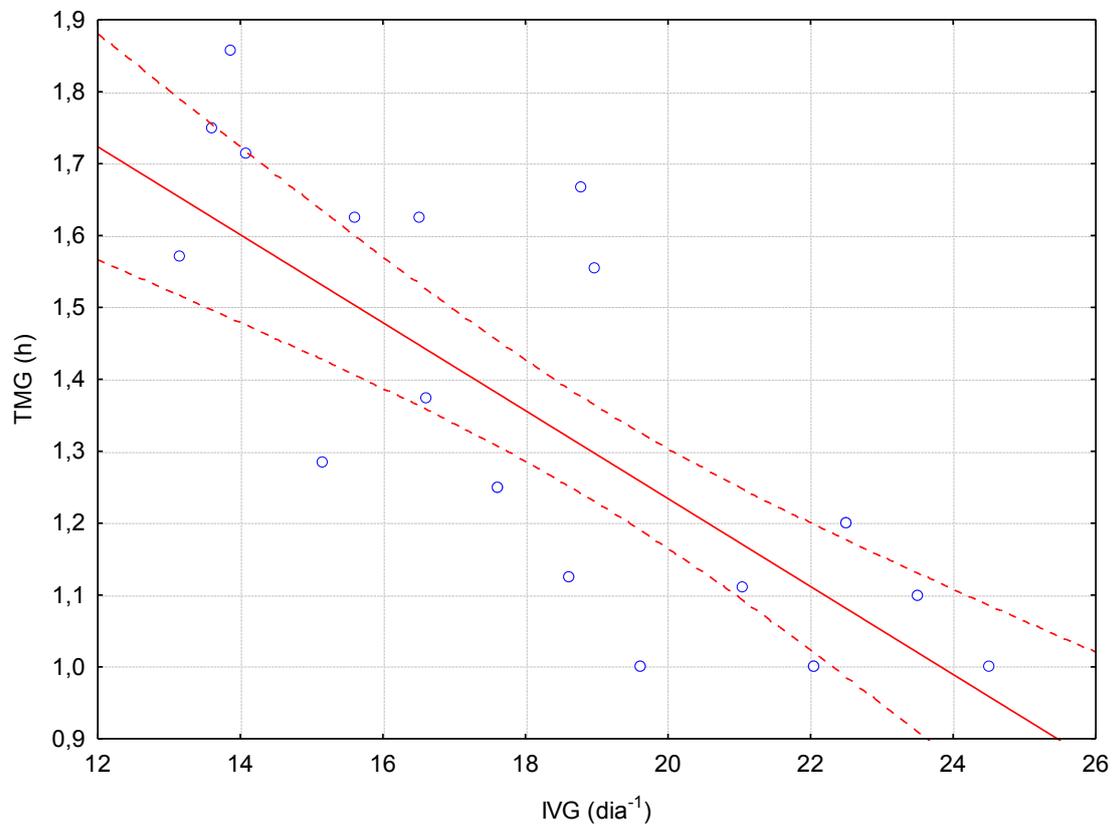


Figura 32: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – TMG X IVG

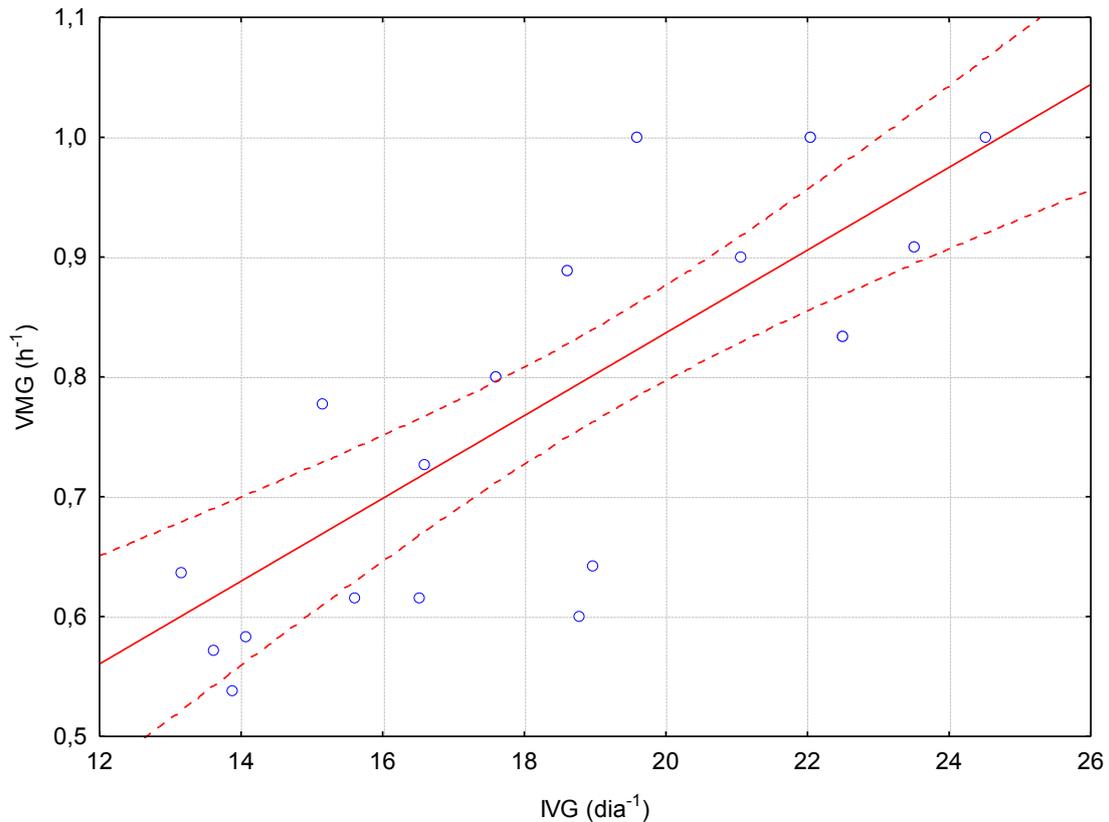


Figura 33: Regressão verificada com éter de petróleo/inverno – VMG X IVG

Em relação a todos os extratos foliares de capim-annoni-2, aquele que se mostrou com maior eficiência alelopática, influenciando significativamente a germinação da espécie receptora foi o **extrato de éter de petróleo/verão**, onde se observou uma porcentagem de germinação inferior, ou seja, foi o único extrato em que a porcentagem de germinação não atingiu o máximo de 100%, apresentando, desta forma, o IVG também reduzido em relação aos demais.

Em se tratando dos parâmetros, solvente/sazonalidade/tratamento, para todas as variáveis, inclusive no crescimento de radícula e hipocótilo, foram obtidos os resultados apresentados a seguir. As barras mostram o intervalo de confiança entre as médias verificadas. Se as barras não se interligarem em nenhum ponto, mostra que as médias apresentaram resultado eficiente de inibição.

Para a variável IVG, o extrato com maior inibição de germinação para este fator foi o extrato *E. plana* Nees de **éter de petróleo/verão na diluição de 400 ppm**, como observa-se abaixo na figura 34. O segundo melhor extrato inibitório foi o de **acetato de etila/verão na**

diluição 300 ppm, o que mostra que os extratos obtidos na coleta realizada no verão foram satisfatoriamente inibitórios.

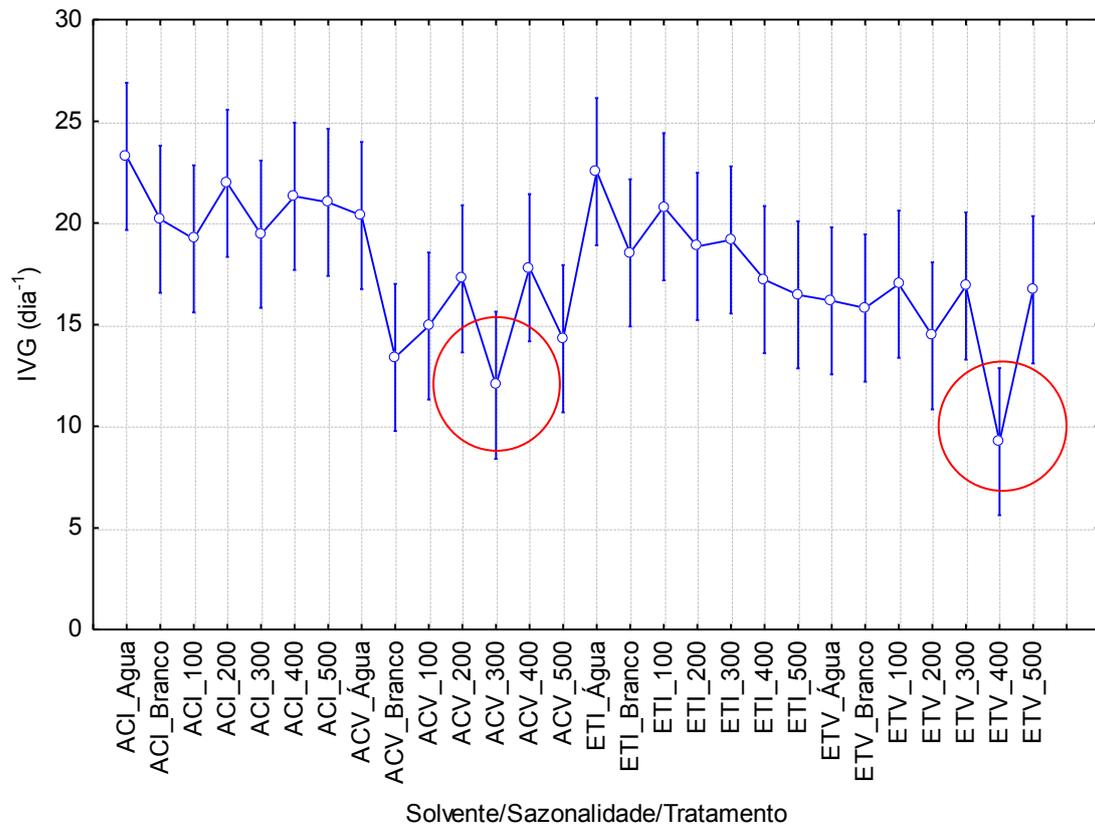


Figura 34: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X IVG

Para as variáveis TMG e VMG, nenhuma das relações entre as médias, se mostrou significativa, como apresentado nas figuras 35 e 36.

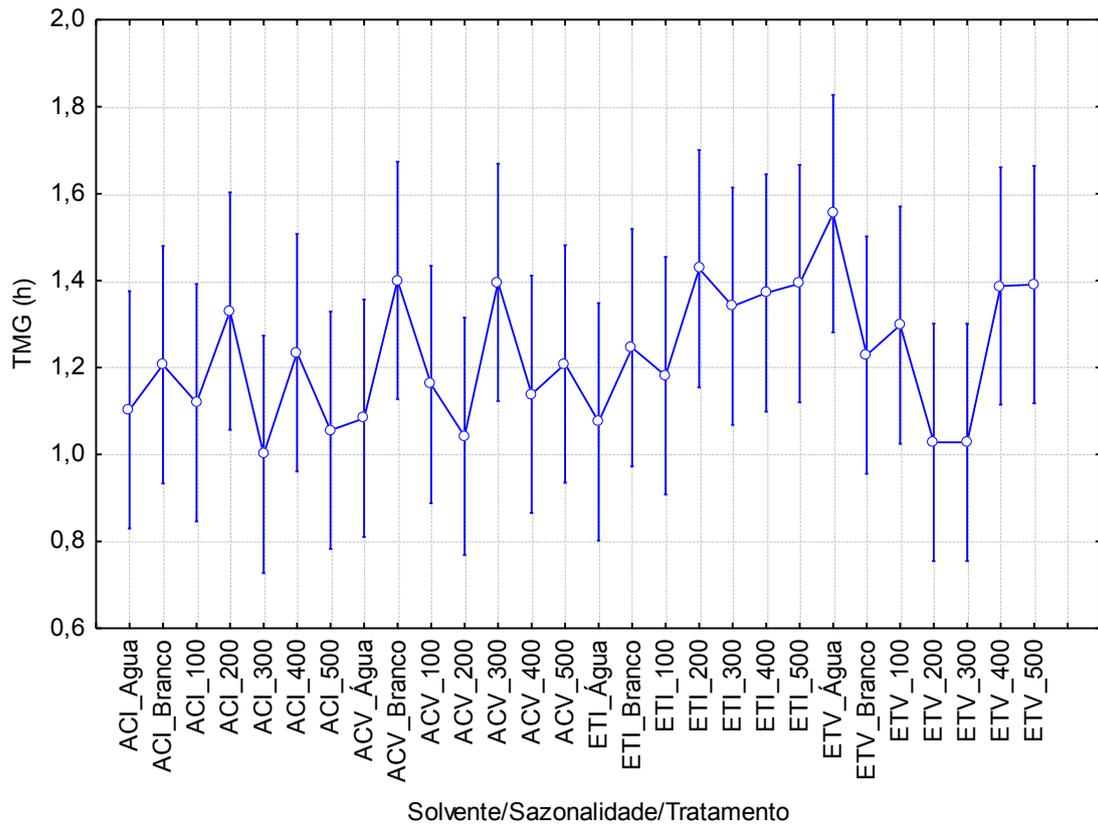


Figura 35: médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X TMG

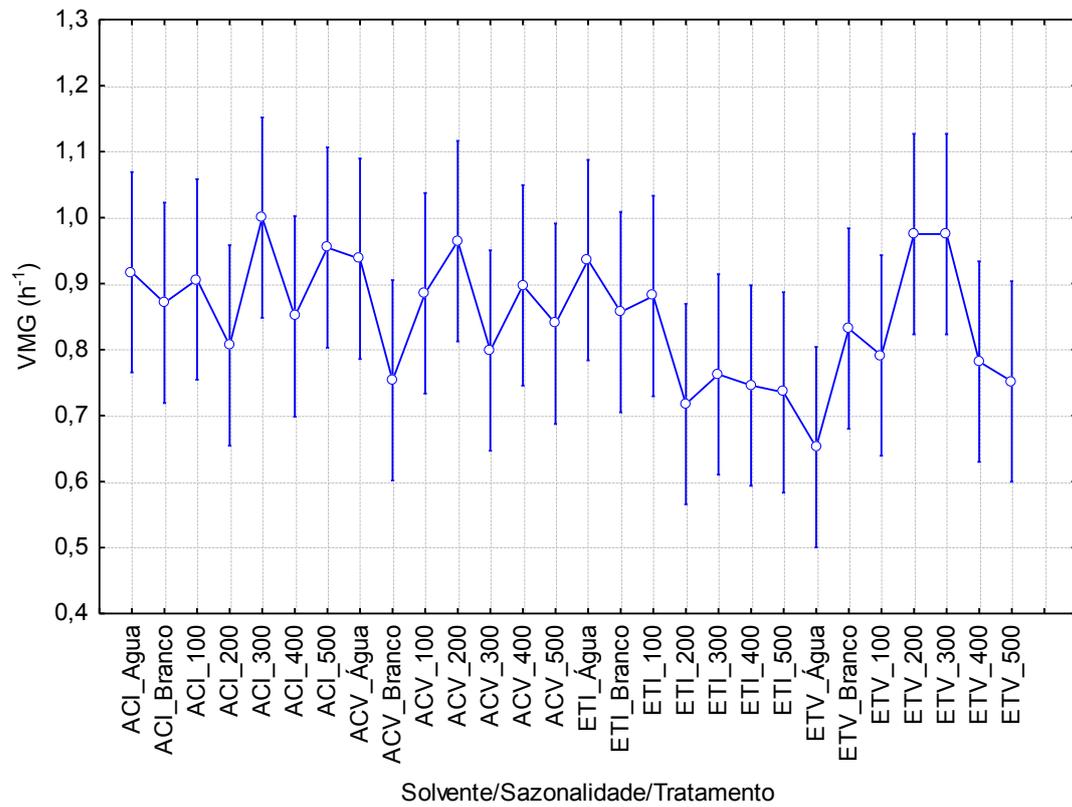


Figura 36: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X VMG

Conforme os gráficos acima, observa-se que os pontos se interligam em todas as situações, o que justifica a não significância entre as variáveis e, portanto, pode-se dizer que não há diferença significativa entre as variáveis apresentadas. Observando ambos os gráficos, nota-se a inversibilidade dos fatores TMG e VMG. Logo, uma vez que um não apresente diferença significativa, o mesmo ocorre para o outro.

Para a variável de porcentagem de germinação, a situação mostrada para a variável IVG se repete, tendo como melhor extrato utilizado o obtido a partir de **éter de petróleo/verão, na diluição de 400 ppm**, seguido do extrato obtido com **acetato de etila/verão a 300 ppm**. Os valores encontram-se na figura 37

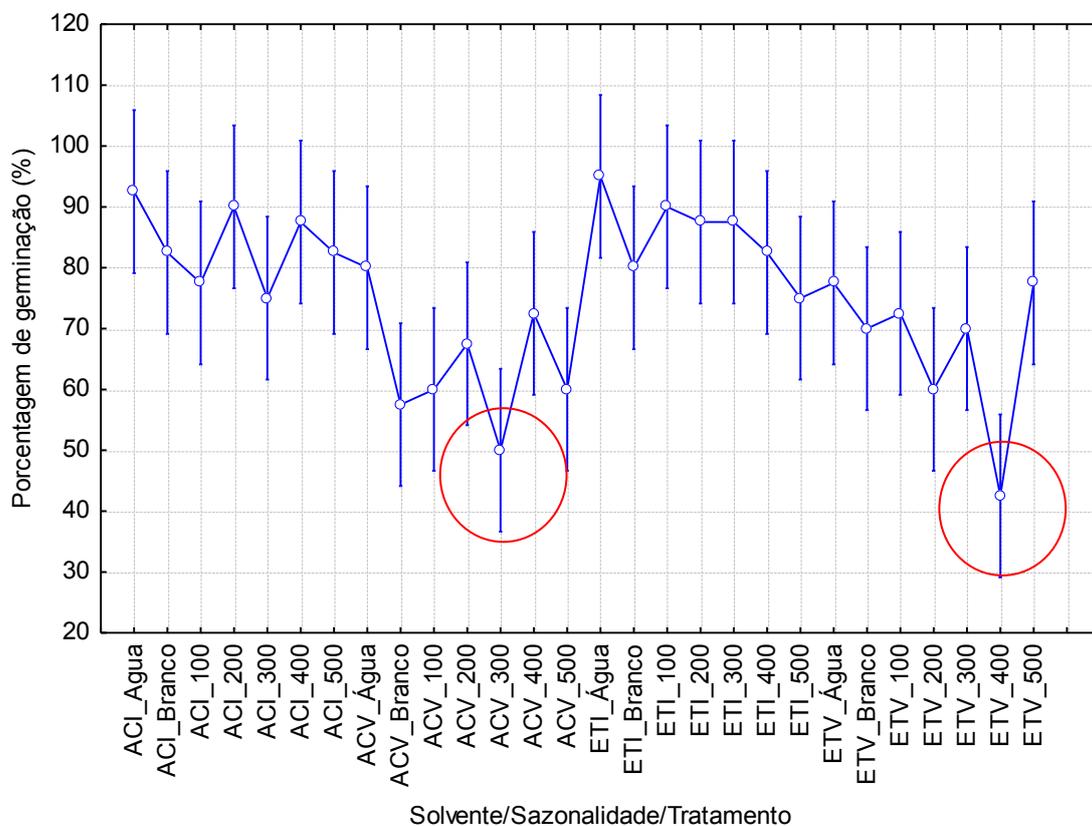


Figura 37: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X PG

Para os bioensaios de germinação, os extratos de verão foram os que apresentaram melhores resultados, inibindo a germinação e demonstrando atividade alelopática da *E. plana* Nees em concentrações específicas.

Nos bioensaios de crescimento de hipocótilo e radícula, os resultados obtidos foram opostos, ao se comparar a ação dos tratamentos sobre cada parte da planta em separado – hipocótilo e radícula. Para o crescimento de radícula foram necessárias algumas transformações sobre as respostas numéricas, pois com as médias observadas durante o

experimento, o teste estatístico mostrou-se não homogêneo. Realizou-se então, a transformação de Box-Cox para as medidas de comprimento da radícula.

A transformação Box-Cox, também chamada de transformação de potência generalizada, é a última transformação realizada, quando outras transformações de unidades, logaritmo, raiz quadrada ou arc seno, também não se mostram homogêneas. Estas transformações são feitas com o intuito de reduzir a variância e a assimetria nos dados, criando uma série de dados transformados que possuam uma distribuição normal (GOTELLI; ELLISON, 2011).

A figura 38 apresenta a análise estatística feita com as médias de crescimento da radícula, ao final das medições, onde verifica-se que não houve resultados significativo, pois todos os pontos se interligam. Ressalta-se o crescimento da radícula de *I. grandifolia* para o extrato de **éter de petróleo/verão**, onde se observou o mesmo comportamento em todas as diluições. Mesmo não apresentando resultados significativos pela análise estatística, vale ressaltar os pontos referentes ao branco do extrato de acetato de etila/verão e na diluição de 400 ppm. Notam-se crescimentos bem mais reduzidos em comparação aos demais tratamentos.

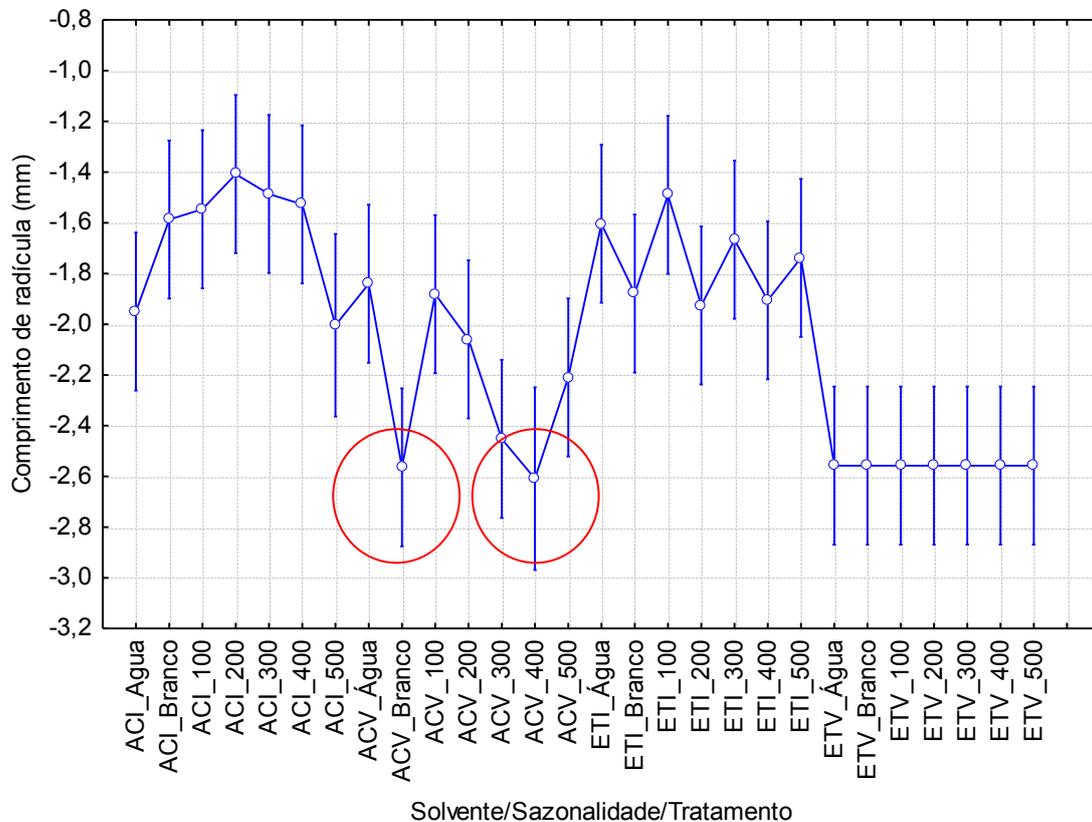


Figura 38: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X comprimento da radícula

Foi em relação ao crescimento do hipocótilo, que os extratos de capim-annoni-2 demonstraram melhor resultado e eficiência, se constituindo em indicativo de atividade alelopática.

A maior parte das interações solvente/sazonalidade/tratamento se mostrou significativa, ressaltando-se que, o extrato mais efetivo, de melhor resultado, foi o de **acetato de etila/verão na diluição de 400 ppm**, que não foi significativo somente em relação ao branco e à diluição de 300 ppm de extrato de acetato de etila/verão. Para os demais, apresentou diferença estatística significativa, demonstrando ser o melhor tratamento inibitório de crescimento do hipocótilo de outra daninha. O branco na mesma condição também apresentou resultado inibitório, porém em menores valores.

Além disso, convém relatar que, durante os dias do teste com este extrato, observou-se que o mesmo ainda provocou necroses, deformidades ou até mesmo morte da semente, mesmo pré-germinada, o que consolida a possibilidade de o mesmo atuar como um forte inibidor de crescimento. As figuras 40, 41, 42 e 43 mostram as deformidades – sementes necrosadas -, além de sementes fungadas, e a figura 39 demonstra o resultado estatístico.

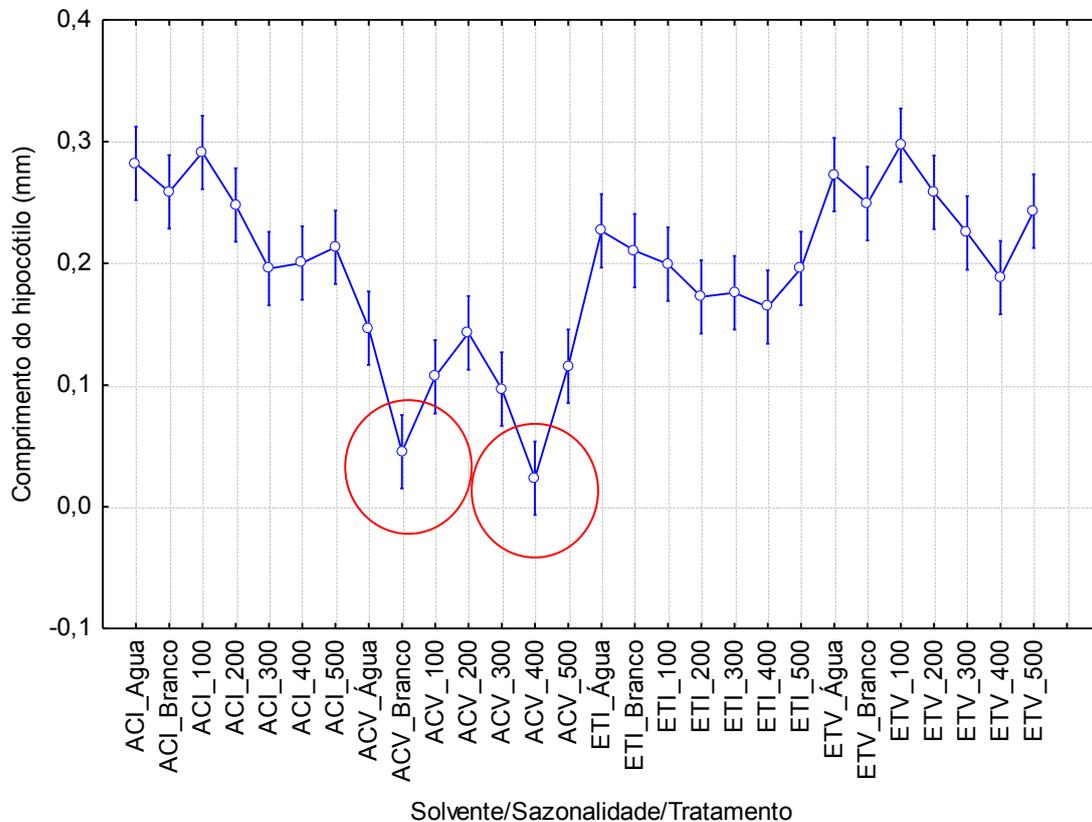


Figura 39: Médias verificadas entre solvente/sazonalidade/tratamento X comprimento do hipocótilo



Figura 40: Semente de *Ipomoea grandifolia* deformada em contato com acetato de etila/verão a 400 ppm .



Figura 41: Sementes de *Ipomoea grandifolia* apresentando necroses em contato com acetato de etila/verão a 400 ppm ..



Figura 42: Sementes de *Ipomoea grandifolia* necrosadas e com fungos em contato com acetato de etila/verão a 400 ppm . .

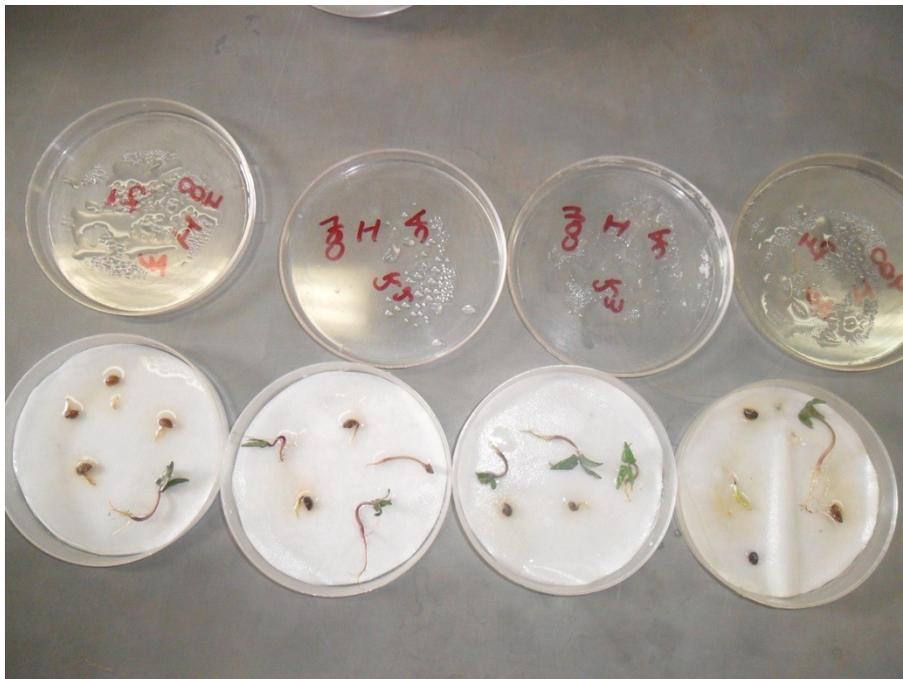


Figura 43: quadruplicata realizada com a espécie *I. grandifolia* no tratamento com acetato de etila/verão a 400 ppm.

Os resultados das análises estatísticas completas e originais encontram-se no anexo 01 deste trabalho.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A observação cuidadosa dos espectros de infravermelho dos extratos brutos de capimannoni-2 permitiu que se fizesse as seguintes considerações: comparando-se solventes diferentes e/ou estações diferentes, é possível perceber diferenças entre os espectros de infravermelho dos extratos brutos estudados, e que, o espectro de *acetato de etila/verão* é o que mais se diferencia em relação aos outros três – banda de OH não bem definida e região de 3000 cm^{-1} com dois picos bem definidos.

A análise dos cromatogramas do óleo essencial obtido por hidrodestilação, dessa espécie possibilitou a identificação de 11 componentes, sendo que o diterpeno Abieta-(8(14),13(15)-diene, foi o componente identificado em maior percentual na amostra de *E. plana* Nees 15,52%. E, praticamente com o mesmo teor, 15,12%, foi identificado o diterpeno oxigenado, o Sandaracopimarinal. Não foi possível identificar um componente com tempo de retenção de 41 minutos e índice de retenção calculado (IR), com valor de 1842, que se apresentou como o de mais alto teor (38,02 %). É importante ressaltar que, estudos posteriores serão realizados no sentido de elucidar sua estrutura desse componente, além de verificar o potencial alelopático do óleo essencial obtido como um todo.

Para os bioensaios de germinação, os extratos de verão foram os que apresentaram melhores resultados, inibindo a germinação e demonstrando atividade alelopática da *E. plana* Nees em concentrações específicas. Dentre esses, aquele que se mostrou com maior eficiência alelopática, influenciando significativamente a germinação da espécie receptora foi o **extrato de éter de petróleo/verão**.

Para as variáveis IVG e PG, o extrato com maior inibição de germinação para estes fatores foi o extrato *E. plana* Nees de **éter de petróleo/verão na diluição de 400 ppm**. O segundo melhor extrato inibitório foi o de **acetato de etila/verão na diluição 300 ppm**, o que mostra que os extratos obtidos na coleta realizada no verão foram satisfatoriamente inibitórios.

Nos bioensaios de crescimento de hipocótilo e radícula, os resultados obtidos foram opostos, ao se comparar a ação dos tratamentos sobre cada parte da planta em separado –

hipocótilo e radícula. Ressalta-se o crescimento da radícula de *I. grandifolia* para o extrato de **éter de petróleo/verão**, onde se observou o mesmo comportamento em todas as diluições.

Mesmo não apresentando resultados significativos pela análise estatística, vale ressaltar os pontos referentes ao branco do extrato de acetato de etila/verão e na diluição de 400 ppm. Nota-se crescimentos bem mais reduzidos em comparação aos demais tratamentos.

Em se tratando de potencial alelopático, foi em relação ao crescimento do hipocótilo, que os extratos de capim-annoni-2 demonstraram melhor resultado e eficiência, se constituindo em indicativo de atividade alelopática. Ressalta-se que, o extrato mais efetivo, de melhor resultado, foi o de **acetato de etila/verão na diluição de 400 ppm**, que não foi significativo, somente em relação ao branco e à diluição de 300 ppm de extrato de acetato de etila/verão. Para os demais, apresentou diferença estatística significativa, demonstrando ser o melhor tratamento inibitório de crescimento do hipocótilo de outra daninha. Esse extrato, ainda provocou necroses, deformidades ou até mesmo morte da semente, mesmo pré-germinada, o que consolida a possibilidade de o mesmo atuar como um forte inibidor de crescimento.

Há a perspectiva de que com a continuidade dos estudos em relação a alelopatia do capim-annoni-2, associado ao estudo fitoquímico, não apenas das folhas, mas também de outras partes do vegetal, como raízes e inflorescências, viabilize o desenvolvimento de um bio-herbicida, tendo em vista que o presente estudo é pioneiro em relação ao estudo do óleo essencial e em relação ao seu potencial alelopático em outra espécie daninha como a *Ipomoea grandifolia*.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, G.J.A. **Introducción al metabolismo secundario – Compuestos derivados del ácido shikímico**. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, 2008.

ADAMS, R.P. **Identificación of Essential Oil Components by Gas Chromatography /Mass Spectroscopy**. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, 2007.

ALFAYA, Hero, SUÑÉ, Luciane N. P., SIQUEIRA, Cleia M. G., SILVA, Derli J. S., SILVA, João B., PEDERZOLLI, Everton M., LÜEDER, Werner E. Efeito da amonização com uréia sobre os parâmetros de qualidade do feno do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees). **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.31, n.2, p.842-851, 2002.

ALMEIDA, Gustavo D., ZUCOLOTO, Moises, ZETUN, Mariana C., COELHO, Inácio, SOBREIR, Fabrício M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Ver.Fac.Nal.Agr.** Medellin. 61(1):4237-4247. 2008.

ALMEIDA, Luiz F. R. **Composição química e atividade alelopática de extratos foliares de *Leonurus sibiricus* L. (Lamiaceae)**. 2006. 105 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

ALVES, Maria C. S., MEDEIROS FILHO, Sebastião, INNECCO, Renato, TORRES, Salvador B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, nov. 2004.

ANDRADE, Jenny P., GÓMEZ, Claudia M., BARBOSA, Helber J., CASTELLANOS, Leonardo, OSORNO, Oscar. Estudio de preformulación para el desarrollo de un gel a base de polímeros con capacidad mucoadhesiva para ensayos de alelopatía en invertebrados marinos. **Acta Biol.**, vol. 15, n.1, p.87-104, 2010.

ANDREI, César C., VIEIRA, Paulo C., FERNANDES, João B., DA SILVA, Maria de F. G. F., FO, Edson R. New Spirorotenoids from *Tephrosia cândida*. **Z. Naturforsch.** 57c, 418-422, 2002.

ASADUZZAMAN, Md, ASAO, Toshiki. Autotoxicity in beans and their allelochemicals. **Scientia Horticulturae** 134, 26–31, 2012.

BARBOSA, Fabiana, G., PILLAR, Valério D., PALMER, Anthony R., MELO, Adriano S. Predicting the current distribution and potential spread of the exotic grass *Eragrostis plana* Nees in South America and identifying a bioclimatic niche shift during invasion. **Austral Ecology**: doi:10.1111/j.1442-9993. Ecological Society of Australia, 2012.

BIASI, Luiz A., DESCHAMPS, Cícero. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. 1ª ed. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda. Curitiba, 2009.

BORELLA, Junior, WANDSCHEER, Alana C. D., BONATTI, Luziana C., PASTORINI, Lindamir H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 7, n. 3, p. 260-265, jul./set. 2009.

BRUM, Luis F. W. **Obtenção e avaliação de extratos de folhas de eucalipto (*Eucalyptus dives*) como potenciais antioxidantes em alimentos**. 2010. 135 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BRUM, Aelson A. S., ARRUDA, Lia F., ARCE, Marisa A.B.R. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Quim. Nova**, Vol. 32, N. 4, 849-854, 2009.

CARLOTTO, Silvano B., MEDEIROS, Renato B., PELLEGRINI, Caius B., GARCIA, Renata P.A., LISBOA, Celso A.V., SAIBRO, João C. Comportamento ingestivo diurno de vacas primíparas em pastagem nativa dominada por capim-annoni-2 com suplementação proteica e mineral em diversas estações climáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.39, n. 3, p.454-461, 2010.

CHRISTOFFOLETI, P.J. **Aspectos de resistência de planta daninhas a herbicidas**. Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR). 90 p. Londrina-PR, 2003.

COELHO, Maria de F. B., MAIA, Sandra S.S., OLIVEIRA, Andrey K., DIÓGENES, Francisco E.P. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Horticultura Brasileira**. V.29, n.1, p. 108-111. Mossoró-RN, 2011.

DA SILVA, José E. N., OLIVEIRA E SILVA, Ryshardson G. P., MELHORANÇA FILHO, André L., SILVA, Cristóvão F. C., SILVA, Marcos F. Efeito alelopático de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. sobre germinação e desenvolvimento inicial de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; 2012.

DA SILVA, Henrique, L. **Potencial alelopático da cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.)**. 2009. 104 p. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2009.

DA SILVA, Paulo S. S., FORTES, Andréa M. T., BOIAGO, Nayara P., PILLATI, Daiane M., GOMES, Fernanda M. Interação alelopática de *Jatropha curcas* L. com *Helianthus annuus* L. e *Zea mays* L. por meio de exsudados radiculares. **Biotemas**, 25 (3), 57-64, setembro de 2012.

DE LIMA, Cristina P., CUNICO, Miriam M., TREVISAN, Roberta R., PHILIPPSEN, Andressa F., MIGUEL, Obdúlio G., MIGUEL, Marilis D. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Botanica Brasilica** 25(2): 331-336. 2011.

DEMUNER, Antonio J., BARBOSA, Luiz C. A., CHINELATTO JUNIOR, Luiz S., REIS, César, SILVA, Antonio A. Sorção e persistência da sorgoleona em um latossolo vermelho-amarelo. **Química Nova**. Vol. 28, n.3, 451-455, 2005.

FERNANDES, Lucila A. V., MIRANDA, Dirceu L. C., SAQUETTA, Carlos R. Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (BERT) Kuntze. **Rev. Acad.**, Curitiba, v.5, n.2, p.139-146, abr./jun. 2007.

FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 323 p., 2004

FERREIRA, Nadilson R., MEDEIROS, Renato B., SOARES, Geraldo L.G. Potencial alelopático do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais. **Revista Brasileira de Sementes**. Vol. 30, n. 2, p.043-050, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

FRANCESQUETT, Janice Z., DOPKE, Henrique B., DA COSTA, Adilson B., KIPPER, Liane M., FERRÃO, Marco F. Determinação do Poder Calorífico de Amostras de Gasolina Utilizando Espectroscopia no Infravermelho Próximo e Regressão Multivariada. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**. Vol 5. No. 2. April-June 2013.

FOCHT, Telmo. **Ecologia e dinâmica do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees), uma invasora dos campos sulinos: prevenção da sua expansão**. 2008. 145 p. Tese (Doutorado em Ecologia) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

FOCHT, Telmo, MEDEIROS, Renato B. Prevention of natural grassland invasion by *Eragrostis plana* Nees using ecological management practices. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.8, p.1816-1823, 2012

FORMAGIO, Anelise S. N., MASETTO, Tathiana E., VIEIRA, Maria C., ZÁRATE, Néstor A. H., DA COSTA, Willian F., TREVIZAN, Lucas N. F., SARRAGIOTTO, Maria H. Potencial alelopático de *Tropaeolum majus* L. na germinação e crescimento inicial de plântulas de picão-preto. **Ciência Rural**. Santa Maria, 2011.

FORNAZZA, Felipe G. F., CONSTANTIN, J., OLIVEIRA JUNIOR, R. S., BRAZ, Guilherme B. P., GHENO, Eliezer A., GEMELLI, Alexandre, JUMES, Talita M. C., DAN, Hugo A. **Controle de *Ipomoea grandifolia* com herbicidas disponíveis para a cultura do algodão**. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas na ERA da Biotecnologia. Campo Grande, 2012.

GOTELLI, Nicholas J., ELLISON, Aaron M. **Princípios de estatística em ecologia**. Tradução: Fabrício B. Baccaro et al. 528 p. Porto Alegre: Artmed, 2011.

GOULART, I.C.G.R., MEROTTO JUNIOR, A. PEREZ, N.B., KALSING, A. Controle de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana*) com herbicidas pré-emergentes em associação com diferentes métodos de manejo do campo nativo. **Planta Daninha**. V. 27, n.1, p. 181-190, Viçosa-MG, 2009.

GOULART, Ives C. G. R., NUNES, Anderson L., KUPAS, Valmir, MEROTTO JUNIOR, Aldo. Interações entre herbicidas e protetores para o controle de capim-annoni em pastagem natural. **Ciência Rural**, v.42, n.10, p.1722-1730, Santa Maria, out. 2012.

GUSMAN, Grasielle S., VIEIRA, Licielo R., VESTENA, Silvane. Alelopatia de espécies vegetais com importância farmacêutica para espécies cultivadas. **Biotemas**, 25 (4), 37-48, dezembro de 2012.

INOUE M.H., SANTANA, D.C., SOUZA FILHO, A.P.S., POSSAMAI, A.C.S., SILVA, L.E., PEREIRA, M.J.B., PEREIRA, K.M. Potencial alelopático de *Annona crassiflora*: efeitos sobre plantas daninhas. **Planta Daninha**. V.28, n.3, p.489-498, Viçosa-MG, 2010.

JAKIEMIU, Elizabete A. R. Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) 2008. 90 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LISBOA, Celso A.V, MEDEIROS, Renato B., AZEVEDO, Eduardo B., PATINO, Harold O., CARLOTTO, Silvane B., GARCIA, Renata P.A. Poder germinativo de sementes de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) recuperadas em fezes de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.38,n. 3, p. 405-410, 2009.

LOUREIRO, João. **Fisiologia Vegetal – aulas práticas**. Faculdade de Ciências e Tecnologia de Coimbra, 2009.

MARCO, Cláudia A., TEIXEIRA, Erlan, SIMPLÍCIO, Antônio, OLIVEIRA, Carlos, COSTA, José, FEITOSA, José. Chemical composition and allelopathic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. **Chilean Journal of Agricultural**, research 72 (1). January-march, 2012.

MÁRQUEZ, Carlos J., JIMENEZ, Aleyda M. , OSORIO, Coralía, CARTAGENA V, José R. Volatile compounds during the ripening of Colombian Soursop (*Annona muricata* L. cv. Elita). **VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**. V. 18 n. 3, p. 245-250. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. 2011.

MEDEIROS, Renato B., FERREIRA, Nadilson R. Controle da invasão biológica por capim-annoni em margem viária mediante a introdução de gramíneas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.40, n.2, p.260-269, 2011.

MEDEIROS, Renato B., FOCHT, Telmo. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Agropecuária Gaúcha**, v.13, n.1-2, UFRGS, Porto Alegre, 2007.

MELO, Evandro de C., RADÜNZ, Lauri L., MELO, Rosana C. A. Influencia do processo de secagem na qualidade de plantas medicinais – revisão. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v.12, n.4, 307-315, Out./Dez., 2004.

MONTANHER, Silvana F., MARTENDAL, Jéssica M. P., PEREIRA, Marcus V., LOBO, Viviane da S. **Influência da temperatura de secagem na composição química e rendimento dos óleos essenciais obtidos de plantas aromáticas**. Anais do III ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica. ISSN 2176-3046. Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR - Campus Toledo, 2011.

MURRELL, Craig, GERBER, Esther, KREBS, Christine, PAREPA, Madalin, SCHAFFNER, Urs, BOSSDORF, Oliver. Invasive Knotweed affect native plants through allelopathy. **American Journal of Botany** **98(1)**: 38-43, 2011.

NACHTIGAL, Gláucia F., NEUMANN, Éverton L. F., COSTA, Fábila A., GARLICH, Nathalia. Ocorrência de ferrugem associada ao capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na

região de fronteira da metade sul do RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Vol.4, n.2, nov. 2009.

NASCIMENTO, Fabiane R., CARDOSO, Maria G., SOUZA, Paulo E., LIMA, Rafaela K., SALGADO, Ana P. S. P., GUIMARÃES, Luiz G. L. Efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC) e do emulsificante Tween 80 sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata* (Fungi: Hyphomycetes). **ACTA Amazônia**. Vol.38(3), 503-508, 2008.

NICARETA, Cleiton. **Óleos essenciais de Solanum e a interação com morcegos frugívoros**. 2006. 92 p. Dissertação (Mestre em Química) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

OLIVEIRA Junior, R. S., CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. 362 p. Guaíba: Agropecuária, 2001.

OLIVEIRA, Luiz G. A., BELINELO, Valdenir J., ALMEIDA, Marcelo S., AGUILAR, Eder B., VIEIRA FILHO, Sidney A. Alelopatia de *Emilia sonchifolia* (L.) DC. (Asteraceae) na germinação e crescimento inicial de sorgo, pepino e picão preto. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** – Goiânia, vol.7, n.12, 2011.

OLIVEIRA, Sarah C. C., GUALTIERI, Sonia C. J., DOMÍNGUEZ, Francisco A. M., MOLINILLO, José M. G., MONTOYA, Rosa V. Estudo fitoquímico de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) e sua aplicação na alelopatia. **Acta Botanica Brasilica** 26(3): 607-618. 2012.

PELEGRINI, L. L., CRUZ-SILVA, C. T. A. Variação sazonal na alelopatia de extratos aquosos de *Coleus barbatus* (A.) Benth. sobre a germinação e o desenvolvimento de *Lactuca sativa* L. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.2, p.376-382, 2012.

PEREIRA, Alberto S., PINTO, Angelo C., CARDOSO, Jari N., NETO, Francisco R. A., VIEIRA, Paulo C., FERNANDES, João B., DA SILVA, Maria F. G. F., ANDREI, César C. Analysis of Rotenoids by High Temperature High Resolution Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **J. High Resol. Chromatogr.** 21, (9): 513–518, 1998.

PICCININI, Fernando, FRESCURA, Viviane D. S., LAUNGHINGHOUSE IV, Haywood D., PEREZ, Naylor B., TEDESCO, Solange B. Pollen viability of *Eragrostis plana* genotypes from different geographic populations in Rio Grande do Sul. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.15; 2012.

PITELLI, R.A. **Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas**. Série Técnica IPEF, Piracicaba, v.4, n.12, p. 1-24, set. 1987.

RIZZARDI, Mauro A., FLECK, Nilson G., VIDAL, Ribas A., MEROTTO JUNIOR, Aldo, AGOSTINETTO, Dirceu. **Competição por recursos do solo entre ervas daninhas e culturas**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.4, p.707-714, 2001.

ROSADO, L.D.S., RODRIGUES, H.C.A., PINTO, J.E.B.P., CUSTÓDIO, T.N., PINTO, L.B.B., BERTOLUCCI, S.K.V. **Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriço “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa**. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.11, n.4, p.422-428, 2009.

ROSSI, C. V. S., MAGALHÃES, P. M., BENETTI, E. **Eficácia de associação de herbicidas no controle de *Ipomoea grandifolia* em cana-de-açúcar**. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. Ribeirão Preto - SP, 2010.

SANGTHONG, S., KRUSONG, K., NGAMROJANAVANICH, N., VILAIVAN, T., PUTHONG, S., CHANDCHAWAN, S., MUANSIN, N. **Synthesis of rotenoid derivatives with cytotoxic and topoisomerase II inhibitory activities**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21: 4813–4818, 2011.

SANTANA, Denise G., RANAL, Marli A. **Análise estatística na germinação**. Minicurso ministrado para o 51º Congresso Nacional de Botânica. Brasília/DF, 2000.

SANTOS, Abelardan S., ALVES, Sérgio M., FIGUEIRÊDO, Francisco J. C., ROCHA NETO, Olinto G. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Comunicado técnico. EMBRAPA. ISSN 1517-2244, Belém/PA, 2004.

SANTOS, J.B., SILVEIRA, T.P., COELHO, P.S., COSTA, O.G., MATTA, P.M., SILVA, M.B., DRUMOND NETO, A.P. **Interferências de plantas daninhas na cultura do quiabo**. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v.28, n.2, p.255-262, 2010.

SASAKI, Cristina M. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades alelopáticas e antimicrobianas das partes aéreas de *Pterocaulon Iorentzii* Malme (Asteraceae)**. 2008. 115 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SCHEFFER-BASSO, Simone, M., FAVARETTO, Adriana, FELINI, Vanderleia, CECCHIN, Kalinca. **Growth and regrowth of tough lovegrass (*Eragrostis plana* Nees)**. *Revista Brasileira de Zootecnia*. V.41, n.2, p.286-291, 2012

SEBASTIÃO, N'Soki N., CORDEIRO, Inês J. S., SANTOS, Aldenir F., GASPAR, Jorge F., MARTINS, Célia, RUEFF, José, DIAKANAMWA, Carlos, SANT'ANA, Antônio E. G., MENDONÇA, Dina I. M. D. 8,15-Epoxyabdane and norlabdane diterpenoids from *Eragrostis viscosa*. **Phytochemistry** 71, 798-803, 2010.

SILVA, A.A., SILVA J.F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. 367 p. Viçosa: Ed. UFV, 2007

SILVA, L.V., CONSTANCIO, S.C.M., MENDES M.F., COELHO, G.L.V. **Extração do óleo essencial da pimenta rosa (*Schinus molle*) usando hidrodestilação e Soxhlet**. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. UNICAMP, 2005.

SILVEIRA, Patrícia F., MAIA, Sandra S. S., COELHO, Maria de F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. Na germinação de *Lactuca sativa* L. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 3, p. 472-477, May/June. 2012.

SILVERSTEIN, Robert M., WEBSTER, Francis X. **Identificação Espectrométrica de compostos orgânicos**. 6ª ed. LTC. Rio de Janeiro, 2000.

SIMÕES, Claudia M. O., SCHENKEL, Eloir P., DE MELLO, João C. P., MENTZ, Lilian A., PETROVICK, Pedro R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5º Ed. 1102 p. Editora: UFSC, 2004.

SOARES, I.A.A., FREITAS, F.C.L., NEGREIROS, M.Z., FREIRE, G.M., AROUCHA, E.M.M., GRANGEIRO, L.C., LOPES, W.A.R., DOMBROSKI, J.L.D. Interferência das plantas daninhas sobre a produtividade e qualidade de cenoura. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 28, n. 2, p. 247-254, 2010.

SOUZA FILHO, A.P.S., GUILHON, G.M.S.P., SANTOS, L.S. Metodologias empregadas em estudos da atividade alelopática em condições de laboratório – revisão crítica. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.

SOUZA FILHO, A.P.S., GUILHON, G.M.S.P., ZOGHBI, M.G.B., CUNHA, R.L. Análise comparativa do potencial alelopático do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de folhas de Cipó-d'alho (*Bignoniaceae*). **Planta Daninha**. Viçosa – MG, v.27, n.4, p.647-653, 2009.

SOUZA FILHO, A. P. S., TREZZI, M. M., INOUE, M. H. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**. Viçosa-MG, v.29, n.3, p.709-716, 2011.

TREZZI, Michelangelo M. **Avaliação do potencial alelopático de genótipos de sorgo**. 2002. 132 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

TUR, Celia M., BORELLA, Junior, PASTORINI, Lindamir H. Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicon esculentum*. **Revista Biotemas**. 23(2), junho de 2010.

TUR, Celia M., BORELLA, Junior, PASTORINI, Lindamir H. Alelopatia de extratos aquosos de cinamomo (*Melia azedarach* L. – Meliaceae) sobre a germinação e crescimento inicial do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. – Solanaceae). **Biotemas**, 25 (3), 49-56, setembro de 2012.

VASCONCELOS, Jackson N., LIMA, Jefferson Q., LEMOS, Telma L. G., OLIVEIRA, Maria C. F., ALMEIDA, Maria M. B., ANDRADE NETO, Manoel, MAFEZOLI, Jair, ARRIAGA, Angela M. C., SANTIAGO, Gilvandete M. P., BRAZ FILHO, Raimundo. Estudo químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers. **Química Nova**, Vol. 32, N. 2, 382-386, 2009.

VAN DEN DOOL, KRATZ, P. D. J. A generalization of Retention Index System including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, 11, 463-471, 1964.

VIDAL, Ribas A. **Interação negativa entre plantas: Inicialismo, Alelopatia e Competição**. UFRGS. Porto Alegre, 2010.

WESTON, Leslie A., RYAN, Peter R., WATT, Michelle. Mechanisms for cellular transport and release of allelochemicals from plant roots into the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, Vol. 63, N. 9, p. 3445–3454, 2012.

ZHANG, Z.-Y., PAN, L.-P., LI, H.-H. Isolation, identification and characterization of soil microbes which degrade phenolic allelochemicals. **Journal of Applied Microbiology** 108: 1839–1849. China, 2010.

Disponível em: <http://ciencia.hsw.uol.com.br/radiacao.htm>. Acesso em 11 de agosto de 2013.

ANEXOS

ANEXO 01: Tabelas dos resultados estatísticos originais.

Teste de Tukey para **porcentagem de germinação**.

Solv/Sazon/Trat	ACI_Água	ACI_Branco	ACI_100	ACI_200	ACI_300	ACI_400	ACI_500
	92,500	82,500	77,500	90,000	75,000	87,500	82,500
ACI_Água		0,999999	0,998431	1,000000	0,986251	1,000000	0,999999
ACI_Branco	0,999999		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_100	0,998431	1,000000		0,999928	1,000000	0,999999	1,000000
ACI_200	1,000000	1,000000	0,999928		0,998431	1,000000	1,000000
ACI_300	0,986251	1,000000	1,000000	0,998431		0,999928	1,000000
ACI_400	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	0,999928		1,000000
ACI_500	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	
ACV_Água	0,999928	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_Branco	0,080674	0,651453	0,937888	0,158346	0,986251	0,283324	0,651453
ACV_100	0,158346	0,825337	0,986251	0,283324	0,998431	0,455774	0,825337
ACV_200	0,651453	0,998431	0,999999	0,825337	1,000000	0,937888	0,998431
ACV_300	0,006942	0,158346	0,455774	0,016643	0,651453	0,037918	0,158346
ACV_400	0,937888	0,999999	1,000000	0,986251	1,000000	0,998431	0,999999
ACV_500	0,158346	0,825337	0,986251	0,283324	0,998431	0,455774	0,825337
ETI_Água	1,000000	0,999928	0,986251	1,000000	0,937888	1,000000	0,999928
ETI_Branco	0,999928	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	1,000000	0,999928	1,000000	0,998431	1,000000	1,000000
ETI_200	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	0,999928	1,000000	1,000000
ETI_300	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	0,999928	1,000000	1,000000
ETI_400	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_500	0,986251	1,000000	1,000000	0,998431	1,000000	0,999928	1,000000
ETV_Água	0,998431	1,000000	1,000000	0,999928	1,000000	0,999999	1,000000
ETV_Branco	0,825337	0,999928	1,000000	0,937888	1,000000	0,986251	0,999928
ETV_100	0,937888	0,999999	1,000000	0,986251	1,000000	0,998431	0,999999
ETV_200	0,158346	0,825337	0,986251	0,283324	0,998431	0,455774	0,825337
ETV_300	0,825337	0,999928	1,000000	0,937888	1,000000	0,986251	0,999928
ETV_400	0,000528	0,016643	0,080674	0,001163	0,158346	0,002803	0,016643
ETV_500	0,998431	1,000000	1,000000	0,999928	1,000000	0,999999	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ACV_Água	ACV_Branco	ACV_100	ACV_200	ACV_300	ACV_400	ACV_500
	80,000	57,500	60,000	67,500	50,000	72,500	60,000

ACI_Agua	0,999928	0,080674	0,158346	0,651453	0,006942	0,937888	0,158346
ACI_Branco	1,000000	0,651453	0,825337	0,998431	0,158346	0,999999	0,825337
ACI_100	1,000000	0,937888	0,986251	0,999999	0,455774	1,000000	0,986251
ACI_200	0,999999	0,158346	0,283324	0,825337	0,016643	0,986251	0,283324
ACI_300	1,000000	0,986251	0,998431	1,000000	0,651453	1,000000	0,998431
ACI_400	1,000000	0,283324	0,455774	0,937888	0,037918	0,998431	0,455774
ACI_500	1,000000	0,651453	0,825337	0,998431	0,158346	0,999999	0,825337
ACV_Água		0,825337	0,937888	0,999928	0,283324	1,000000	0,937888
ACV_Branco	0,825337		1,000000	0,999999	1,000000	0,998431	1,000000
ACV_100	0,937888	1,000000		1,000000	0,999999	0,999928	1,000000
ACV_200	0,999928	0,999999	1,000000		0,986251	1,000000	1,000000
ACV_300	0,283324	1,000000	0,999999	0,986251		0,825337	0,999999
ACV_400	1,000000	0,998431	0,999928	1,000000	0,825337		0,999928
ACV_500	0,937888	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	0,999928	
ETI_Água	0,998431	0,037918	0,080674	0,455774	0,002803	0,825337	0,080674
ETI_Branco	1,000000	0,825337	0,937888	0,999928	0,283324	1,000000	0,937888
ETI_100	0,999999	0,158346	0,283324	0,825337	0,016643	0,986251	0,283324
ETI_200	1,000000	0,283324	0,455774	0,937888	0,037918	0,998431	0,455774
ETI_300	1,000000	0,283324	0,455774	0,937888	0,037918	0,998431	0,455774
ETI_400	1,000000	0,651453	0,825337	0,998431	0,158346	0,999999	0,825337
ETI_500	1,000000	0,986251	0,998431	1,000000	0,651453	1,000000	0,998431
ETV_Água	1,000000	0,937888	0,986251	0,999999	0,455774	1,000000	0,986251
ETV_Branco	0,999999	0,999928	0,999999	1,000000	0,937888	1,000000	0,999999
ETV_100	1,000000	0,998431	0,999928	1,000000	0,825337	1,000000	0,999928
ETV_200	0,937888	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	0,999928	1,000000
ETV_300	0,999999	0,999928	0,999999	1,000000	0,937888	1,000000	0,999999
ETV_400	0,037918	0,998431	0,986251	0,651453	1,000000	0,283324	0,986251
ETV_500	1,000000	0,937888	0,986251	0,999999	0,455774	1,000000	0,986251

Solv/Sazon/Trat	ETI_Água	ETI_Branco	ETI_100	ETI_200	ETI_300	ETI_400	ETI_500
	95,000	80,000	90,000	87,500	87,500	82,500	75,000
ACI_Agua	1,000000	0,999928	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	0,986251
ACI_Branco	0,999928	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_100	0,986251	1,000000	0,999928	0,999999	0,999999	1,000000	1,000000
ACI_200	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,998431
ACI_300	0,937888	1,000000	0,998431	0,999928	0,999928	1,000000	1,000000
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999928
ACI_500	0,999928	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_Água	0,998431	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_Branco	0,037918	0,825337	0,158346	0,283324	0,283324	0,651453	0,986251
ACV_100	0,080674	0,937888	0,283324	0,455774	0,455774	0,825337	0,998431
ACV_200	0,455774	0,999928	0,825337	0,937888	0,937888	0,998431	1,000000

ACV_300	0,002803	0,283324	0,016643	0,037918	0,037918	0,158346	0,651453
ACV_400	0,825337	1,000000	0,986251	0,998431	0,998431	0,999999	1,000000
ACV_500	0,080674	0,937888	0,283324	0,455774	0,455774	0,825337	0,998431
ETI_Água		0,998431	1,000000	1,000000	1,000000	0,999928	0,937888
ETI_Branco	0,998431		0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	0,999999		1,000000	1,000000	1,000000	0,998431
ETI_200	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,999928
ETI_300	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,999928
ETI_400	0,999928	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
ETI_500	0,937888	1,000000	0,998431	0,999928	0,999928	1,000000	
ETV_Água	0,986251	1,000000	0,999928	0,999999	0,999999	1,000000	1,000000
ETV_Branco	0,651453	0,999999	0,937888	0,986251	0,986251	0,999928	1,000000
ETV_100	0,825337	1,000000	0,986251	0,998431	0,998431	0,999999	1,000000
ETV_200	0,080674	0,937888	0,283324	0,455774	0,455774	0,825337	0,998431
ETV_300	0,651453	0,999999	0,937888	0,986251	0,986251	0,999928	1,000000
ETV_400	0,000303	0,037918	0,001163	0,002803	0,002803	0,016643	0,158346
ETV_500	0,986251	1,000000	0,999928	0,999999	0,999999	1,000000	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ETV_Água	ETV_Branco	ETV_100	ETV_200	ETV_300	ETV_400	ETV_500
	77,500	70,000	72,500	60,000	70,000	42,500	77,500
ACI_Agua	0,998431	0,825337	0,937888	0,158346	0,825337	0,000528	0,998431
ACI_Branco	1,000000	0,999928	0,999999	0,825337	0,999928	0,016643	1,000000
ACI_100	1,000000	1,000000	1,000000	0,986251	1,000000	0,080674	1,000000
ACI_200	0,999928	0,937888	0,986251	0,283324	0,937888	0,001163	0,999928
ACI_300	1,000000	1,000000	1,000000	0,998431	1,000000	0,158346	1,000000
ACI_400	0,999999	0,986251	0,998431	0,455774	0,986251	0,002803	0,999999
ACI_500	1,000000	0,999928	0,999999	0,825337	0,999928	0,016643	1,000000
ACV_Água	1,000000	0,999999	1,000000	0,937888	0,999999	0,037918	1,000000
ACV_Branco	0,937888	0,999928	0,998431	1,000000	0,999928	0,998431	0,937888
ACV_100	0,986251	0,999999	0,999928	1,000000	0,999999	0,986251	0,986251
ACV_200	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,651453	0,999999
ACV_300	0,455774	0,937888	0,825337	0,999999	0,937888	1,000000	0,455774
ACV_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,999928	1,000000	0,283324	1,000000
ACV_500	0,986251	0,999999	0,999928	1,000000	0,999999	0,986251	0,986251
ETI_Água	0,986251	0,651453	0,825337	0,080674	0,651453	0,000303	0,986251
ETI_Branco	1,000000	0,999999	1,000000	0,937888	0,999999	0,037918	1,000000
ETI_100	0,999928	0,937888	0,986251	0,283324	0,937888	0,001163	0,999928
ETI_200	0,999999	0,986251	0,998431	0,455774	0,986251	0,002803	0,999999
ETI_300	0,999999	0,986251	0,998431	0,455774	0,986251	0,002803	0,999999
ETI_400	1,000000	0,999928	0,999999	0,825337	0,999928	0,016643	1,000000
ETI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,998431	1,000000	0,158346	1,000000
ETV_Água		1,000000	1,000000	0,986251	1,000000	0,080674	1,000000

ETV_Branco	1,000000		1,000000	0,999999	1,000000	0,455774	1,000000
ETV_100	1,000000	1,000000		0,999928	1,000000	0,283324	1,000000
ETV_200	0,986251	0,999999	0,999928		0,999999	0,986251	0,986251
ETV_300	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999		0,455774	1,000000
ETV_400	0,080674	0,455774	0,283324	0,986251	0,455774		0,080674
ETV_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,986251	1,000000	0,080674	

Teste de Tukey para o **IVG**.

Solv/Sazon/Trat	ACI_Agua	ACI_Branco	ACI_100	ACI_200	ACI_300	ACI_400	ACI_500
	23,276	20,183	19,220	21,952	19,446	21,313	21,016
ACI_Agua		0,999987	0,998431	1,000000	0,999378	1,000000	1,000000
ACI_Branco	0,999987		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_100	0,998431	1,000000		0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_200	1,000000	1,000000	0,999999		1,000000	1,000000	1,000000
ACI_300	0,999378	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
ACI_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	
ACV_Água	0,999996	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_Branco	0,050682	0,641541	0,875664	0,194150	0,830893	0,326985	0,402801
ACV_100	0,234826	0,954126	0,996387	0,575956	0,992566	0,754941	0,825362
ACV_200	0,838207	0,999995	1,000000	0,987362	1,000000	0,998403	0,999531
ACV_300	0,009459	0,271863	0,523087	0,048084	0,458046	0,096344	0,129662
ACV_400	0,929593	1,000000	1,000000	0,997739	1,000000	0,999856	0,999971
ACV_500	0,133389	0,867585	0,978260	0,398175	0,963572	0,580310	0,665992
ETI_Água	1,000000	1,000000	0,999952	1,000000	0,999988	1,000000	1,000000
ETI_Branco	0,985709	1,000000	1,000000	0,999910	1,000000	0,999998	1,000000
ETI_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_200	0,994259	1,000000	1,000000	0,999985	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_300	0,998088	1,000000	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_400	0,829871	0,999994	1,000000	0,985955	1,000000	0,998150	0,999443
ETI_500	0,637433	0,999622	0,999999	0,928548	0,999994	0,981547	0,991753
ETV_Água	0,551705	0,998695	0,999990	0,884761	0,999960	0,963517	0,981651
ETV_Branco	0,449592	0,995325	0,999919	0,814074	0,999747	0,927372	0,958740
ETV_100	0,778650	0,999975	1,000000	0,975504	1,000000	0,995937	0,998612
ETV_200	0,152879	0,892688	0,984811	0,437111	0,973484	0,621957	0,705763
ETV_300	0,756156	0,999958	1,000000	0,969885	1,000000	0,994561	0,998037
ETV_400	0,000343	0,014269	0,045903	0,001381	0,035289	0,003208	0,004780
ETV_500	0,707260	0,999886	1,000000	0,955332	0,999999	0,990515	0,996220

Solv/Sazon/Trat	ACV_Água	ACV_Branco	ACV_100	ACV_200	ACV_300	ACV_400	ACV_500
-----------------	----------	------------	---------	---------	---------	---------	---------

	20,368	13,388	14,932	17,252	12,018	17,798	14,307
ACI_Agua	0,999996	0,050682	0,234826	0,838207	0,009459	0,929593	0,133389
ACI_Branco	1,000000	0,641541	0,954126	0,999995	0,271863	1,000000	0,867585
ACI_100	1,000000	0,875664	0,996387	1,000000	0,523087	1,000000	0,978260
ACI_200	1,000000	0,194150	0,575956	0,987362	0,048084	0,997739	0,398175
ACI_300	1,000000	0,830893	0,992566	1,000000	0,458046	1,000000	0,963572
ACI_400	1,000000	0,326985	0,754941	0,998403	0,096344	0,999856	0,580310
ACI_500	1,000000	0,402801	0,825362	0,999531	0,129662	0,999971	0,665992
ACV_Água		0,587794	0,934663	0,999984	0,233658	1,000000	0,830383
ACV_Branco	0,587794		1,000000	0,999280	1,000000	0,994601	1,000000
ACV_100	0,934663	1,000000		1,000000	0,999996	0,999997	1,000000
ACV_200	0,999984	0,999280	1,000000		0,955697	1,000000	0,999995
ACV_300	0,233658	1,000000	0,999996	0,955697		0,884781	1,000000
ACV_400	1,000000	0,994601	0,999997	1,000000	0,884781		0,999872
ACV_500	0,830383	1,000000	1,000000	0,999995	1,000000	0,999872	
ETI_Água	1,000000	0,113003	0,412280	0,952007	0,024460	0,986442	0,260415
ETI_Branco	1,000000	0,963433	0,999783	1,000000	0,720761	1,000000	0,997125
ETI_100	1,000000	0,462578	0,869026	0,999829	0,159310	0,999993	0,725541
ETI_200	1,000000	0,932013	0,999115	1,000000	0,632114	1,000000	0,992008
ETI_300	1,000000	0,884986	0,996998	1,000000	0,538522	1,000000	0,980907
ETI_400	0,999980	0,999391	1,000000	1,000000	0,959125	1,000000	0,999996
ETI_500	0,999159	0,999988	1,000000	1,000000	0,993920	1,000000	1,000000
ETV_Água	0,997381	0,999998	1,000000	1,000000	0,997740	1,000000	1,000000
ETV_Branco	0,991730	1,000000	1,000000	1,000000	0,999454	1,000000	1,000000
ETV_100	0,999929	0,999778	1,000000	1,000000	0,974972	1,000000	0,999999
ETV_200	0,859546	1,000000	1,000000	0,999998	1,000000	0,999940	1,000000
ETV_300	0,999886	0,999857	1,000000	1,000000	0,979840	1,000000	1,000000
ETV_400	0,011256	0,997827	0,900029	0,307415	0,999998	0,196059	0,969215
ETV_500	0,999717	0,999946	1,000000	1,000000	0,987500	1,000000	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ETI_Água	ETI_Branco	ETI_100	ETI_200	ETI_300	ETI_400	ETI_500
	22,525	18,529	20,800	18,846	19,167	17,212	16,467
ACI_Agua	1,000000	0,985709	1,000000	0,994259	0,998088	0,829871	0,637433
ACI_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999994	0,999622
ACI_100	0,999952	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999
ACI_200	1,000000	0,999910	1,000000	0,999985	0,999998	0,985955	0,928548
ACI_300	0,999988	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999994
ACI_400	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000	1,000000	0,998150	0,981547
ACI_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999443	0,991753
ACV_Água	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999980	0,999159
ACV_Branco	0,113003	0,963433	0,462578	0,932013	0,884986	0,999391	0,999988
ACV_100	0,412280	0,999783	0,869026	0,999115	0,996998	1,000000	1,000000

ACV_200	0,952007	1,000000	0,999829	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_300	0,024460	0,720761	0,159310	0,632114	0,538522	0,959125	0,993920
ACV_400	0,986442	1,000000	0,999993	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_500	0,260415	0,997125	0,725541	0,992008	0,980907	0,999996	1,000000
ETI_Água		0,998766	1,000000	0,999680	0,999936	0,948160	0,830893
ETI_Branco	0,998766		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,999793	0,995790
ETI_200	0,999680	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000
ETI_300	0,999936	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,999999
ETI_400	0,948160	1,000000	0,999793	1,000000	1,000000		1,000000
ETI_500	0,830893	1,000000	0,995790	1,000000	0,999999	1,000000	
ETV_Água	0,762015	1,000000	0,989675	0,999999	0,999993	1,000000	1,000000
ETV_Branco	0,666396	0,999999	0,974325	0,999991	0,999939	1,000000	1,000000
ETV_100	0,922151	1,000000	0,999427	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_200	0,291748	0,998288	0,762646	0,994845	0,986804	0,999999	1,000000
ETV_300	0,909498	1,000000	0,999163	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_400	0,000680	0,097328	0,006377	0,069619	0,048758	0,316660	0,517137
ETV_500	0,879506	1,000000	0,998250	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ETV_Água	ETV_Branco	ETV_100	ETV_200	ETV_300	ETV_400	ETV_500
	16,172	15,818	16,990	14,450	16,900	9,2450	16,715
ACI_Agua	0,551705	0,449592	0,778650	0,152879	0,756156	0,000343	0,707260
ACI_Branco	0,998695	0,995325	0,999975	0,892688	0,999958	0,014269	0,999886
ACI_100	0,999990	0,999919	1,000000	0,984811	1,000000	0,045903	1,000000
ACI_200	0,884761	0,814074	0,975504	0,437111	0,969885	0,001381	0,955332
ACI_300	0,999960	0,999747	1,000000	0,973484	1,000000	0,035289	0,999999
ACI_400	0,963517	0,927372	0,995937	0,621957	0,994561	0,003208	0,990515
ACI_500	0,981651	0,958740	0,998612	0,705763	0,998037	0,004780	0,996220
ACV_Água	0,997381	0,991730	0,999929	0,859546	0,999886	0,011256	0,999717
ACV_Branco	0,999998	1,000000	0,999778	1,000000	0,999857	0,997827	0,999946
ACV_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,900029	1,000000
ACV_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,999998	1,000000	0,307415	1,000000
ACV_300	0,997740	0,999454	0,974972	1,000000	0,979840	0,999998	0,987500
ACV_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,999940	1,000000	0,196059	1,000000
ACV_500	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	0,969215	1,000000
ETI_Água	0,762015	0,666396	0,922151	0,291748	0,909498	0,000680	0,879506
ETI_Branco	1,000000	0,999999	1,000000	0,998288	1,000000	0,097328	1,000000
ETI_100	0,989675	0,974325	0,999427	0,762646	0,999163	0,006377	0,998250
ETI_200	0,999999	0,999991	1,000000	0,994845	1,000000	0,069619	1,000000
ETI_300	0,999993	0,999939	1,000000	0,986804	1,000000	0,048758	1,000000
ETI_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	0,316660	1,000000
ETI_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,517137	1,000000

ETV_Água		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,603060	1,000000
ETV_Branco	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,704005	1,000000
ETV_100	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,371922	1,000000
ETV_200	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,958189	1,000000
ETV_300	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		0,395570	1,000000
ETV_400	0,603060	0,704005	0,371922	0,958189	0,395570		0,446265
ETV_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,446265	

Teste de Tukey para o **TMG**.

Solv/Sazon/Trat	ACI_Agua	ACI_Branco	ACI_100	ACI_200	ACI_300	ACI_400	ACI_500
	1,1028	1,2063	1,1190	1,3299	1,0000	1,2341	1,0556
ACI_Agua		1,000000	1,000000	0,999992	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_Branco	1,000000		1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000
ACI_100	1,000000	1,000000		0,999998	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_200	0,999992	1,000000	0,999998		0,995219	1,000000	0,999739
ACI_300	1,000000	0,999999	1,000000	0,995219		0,999986	1,000000
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999986		1,000000
ACI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,999739	1,000000	1,000000	
ACV_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,999962	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_Branco	0,999001	1,000000	0,999601	1,000000	0,948826	1,000000	0,991250
ACV_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,999402	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_300	0,999216	1,000000	0,999695	1,000000	0,954486	1,000000	0,992654
ACV_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000
ETI_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,999929	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999964	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_200	0,996251	0,999996	0,998264	1,000000	0,904103	1,000000	0,977618
ETI_300	0,999980	1,000000	0,999995	1,000000	0,992420	1,000000	0,999487
ETI_400	0,999818	1,000000	0,999941	1,000000	0,977688	1,000000	0,997459
ETI_500	0,999335	1,000000	0,999747	1,000000	0,957997	1,000000	0,993478
ETV_Água	0,846883	0,990202	0,887117	0,999994	0,481866	0,996933	0,694333
ETV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999991	1,000000	1,000000
ETV_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,998996	1,000000	0,999973
ETV_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,998726	1,000000	0,999999	1,000000
ETV_300	1,000000	1,000000	1,000000	0,998726	1,000000	0,999999	1,000000
ETV_400	0,999510	1,000000	0,999820	1,000000	0,963810	1,000000	0,994773
ETV_500	0,999405	1,000000	0,999777	1,000000	0,960225	1,000000	0,993989

Solv/Sazon/Trat	ACV_Água	ACV_Branco	ACV_100	ACV_200	ACV_300	ACV_400	ACV_500
	1,0833	1,4003	1,1607	1,0417	1,3958	1,1384	1,2083
ACI_Agua	1,000000	0,999001	1,000000	1,000000	0,999216	1,000000	1,000000
ACI_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_100	1,000000	0,999601	1,000000	1,000000	0,999695	1,000000	1,000000
ACI_200	0,999962	1,000000	1,000000	0,999402	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_300	1,000000	0,948826	1,000000	1,000000	0,954486	1,000000	0,999999
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_500	1,000000	0,991250	1,000000	1,000000	0,992654	1,000000	1,000000
ACV_Água		0,997326	1,000000	1,000000	0,997835	1,000000	1,000000
ACV_Branco	0,997326		0,999978	0,985438	1,000000	0,999884	1,000000
ACV_100	1,000000	0,999978		1,000000	0,999984	1,000000	1,000000
ACV_200	1,000000	0,985438	1,000000		0,987573	1,000000	1,000000
ACV_300	0,997835	1,000000	0,999984	0,987573		0,999915	1,000000
ACV_400	1,000000	0,999884	1,000000	1,000000	0,999915		1,000000
ACV_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	
ETI_Água	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	0,996806	1,000000	1,000000
ETI_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	0,999996	1,000000	1,000000	0,999997	1,000000	1,000000
ETI_200	0,991585	1,000000	0,999843	0,965904	1,000000	0,999385	0,999996
ETI_300	0,999913	1,000000	1,000000	0,998896	1,000000	0,999999	1,000000
ETI_400	0,999405	1,000000	0,999998	0,995239	1,000000	0,999987	1,000000
ETI_500	0,998132	1,000000	0,999988	0,988854	1,000000	0,999931	1,000000
ETV_Água	0,789801	1,000000	0,957426	0,642371	1,000000	0,925484	0,990911
ETV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_100	0,999998	1,000000	1,000000	0,999923	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_200	1,000000	0,976895	1,000000	1,000000	0,979991	1,000000	1,000000
ETV_300	1,000000	0,976895	1,000000	1,000000	0,979991	1,000000	1,000000
ETV_400	0,998582	1,000000	0,999992	0,990877	1,000000	0,999953	1,000000
ETV_500	0,998306	1,000000	0,999990	0,989641	1,000000	0,999940	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ETI_Água	ETI_Branco	ETI_100	ETI_200	ETI_300	ETI_400	ETI_500
	1,0750	1,2455	1,1813	1,4271	1,3411	1,3714	1,3929
ACI_Agua	1,000000	1,000000	1,000000	0,996251	0,999980	0,999818	0,999335
ACI_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	0,999996	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_100	1,000000	1,000000	1,000000	0,998264	0,999995	0,999941	0,999747
ACI_200	0,999929	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_300	1,000000	0,999964	1,000000	0,904103	0,992420	0,977688	0,957997
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,977618	0,999487	0,997459	0,993478

ACV_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,991585	0,999913	0,999405	0,998132
ACV_Branco	0,996079	1,000000	0,999996	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_100	1,000000	1,000000	1,000000	0,999843	1,000000	0,999998	0,999988
ACV_200	1,000000	0,999999	1,000000	0,965904	0,998896	0,995239	0,988854
ACV_300	0,996806	1,000000	0,999997	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,999385	0,999999	0,999987	0,999931
ACV_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,999996	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_Água		1,000000	1,000000	0,988479	0,999846	0,999058	0,997213
ETI_Branco	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	1,000000		0,999964	1,000000	1,000000	0,999998
ETI_200	0,988479	1,000000	0,999964		1,000000	1,000000	1,000000
ETI_300	0,999846	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000
ETI_400	0,999058	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
ETI_500	0,997213	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000	1,000000	
ETV_Água	0,762664	0,998221	0,976678	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000
ETV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_100	0,999995	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_200	1,000000	0,999997	1,000000	0,950125	0,997751	0,991617	0,981858
ETV_300	1,000000	0,999997	1,000000	0,950125	0,997751	0,991617	0,981858
ETV_400	0,997835	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_500	0,997459	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ETV_Água	ETV_Branco	ETV_100	ETV_200	ETV_300	ETV_400	ETV_500
	1,5541	1,2287	1,2976	1,0278	1,0278	1,3875	1,3909
ACI_Agua	0,846883	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999510	0,999405
ACI_Branco	0,990202	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_100	0,887117	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999820	0,999777
ACI_200	0,999994	1,000000	1,000000	0,998726	0,998726	1,000000	1,000000
ACI_300	0,481866	0,999991	0,998996	1,000000	1,000000	0,963810	0,960225
ACI_400	0,996933	1,000000	1,000000	0,999999	0,999999	1,000000	1,000000
ACI_500	0,694333	1,000000	0,999973	1,000000	1,000000	0,994773	0,993989
ACV_Água	0,789801	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000	0,998582	0,998306
ACV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	0,976895	0,976895	1,000000	1,000000
ACV_100	0,957426	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999992	0,999990
ACV_200	0,642371	1,000000	0,999923	1,000000	1,000000	0,990877	0,989641
ACV_300	1,000000	1,000000	1,000000	0,979991	0,979991	1,000000	1,000000
ACV_400	0,925484	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999953	0,999940
ACV_500	0,990911	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_Água	0,762664	1,000000	0,999995	1,000000	1,000000	0,997835	0,997459
ETI_Branco	0,998221	1,000000	1,000000	0,999997	0,999997	1,000000	1,000000
ETI_100	0,976678	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	0,999998
ETI_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,950125	0,950125	1,000000	1,000000

ETI_300	0,999998	1,000000	1,000000	0,997751	0,997751	1,000000	1,000000
ETI_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,991617	0,991617	1,000000	1,000000
ETI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,981858	0,981858	1,000000	1,000000
ETV_Água		0,996062	0,999921	0,588938	0,588938	1,000000	1,000000
ETV_Branco	0,996062		1,000000	0,999999	0,999999	1,000000	1,000000
ETV_100	0,999921	1,000000		0,999803	0,999803	1,000000	1,000000
ETV_200	0,588938	0,999999	0,999803		1,000000	0,984874	0,983025
ETV_300	0,588938	0,999999	0,999803	1,000000		0,984874	0,983025
ETV_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,984874	0,984874		1,000000
ETV_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,983025	0,983025	1,000000	

Teste de Tukey para a VMG.

Solv/Sazon/Trat	ACI_Agua	ACI_Branco	ACI_100	ACI_200	ACI_300	ACI_400	ACI_500
	,91731	,87083	,90625	,80641	1,0000	,85038	,95455
ACI_Agua		1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_Branco	1,000000		1,000000	1,000000	0,999988	1,000000	1,000000
ACI_100	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACI_200	0,999999	1,000000	1,000000		0,990088	1,000000	0,999844
ACI_300	1,000000	0,999988	1,000000	0,990088		0,999814	1,000000
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999814		1,000000
ACI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,999844	1,000000	1,000000	
ACV_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,999984	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_Branco	0,999149	0,999998	0,999733	1,000000	0,867796	1,000000	0,983933
ACV_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000
ACV_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,999535	1,000000	0,999999	1,000000
ACV_300	0,999998	1,000000	1,000000	1,000000	0,983619	1,000000	0,999622
ACV_400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_500	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999377	1,000000	0,999999
ETI_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,999988	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999915	1,000000	1,000000
ETI_100	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999998	1,000000	1,000000
ETI_200	0,985175	0,999717	0,992943	1,000000	0,659769	0,999979	0,906103
ETI_300	0,999666	1,000000	0,999909	1,000000	0,904340	1,000000	0,991077
ETI_400	0,998212	0,999993	0,999383	1,000000	0,830274	1,000000	0,974587
ETI_500	0,995692	0,999969	0,998302	1,000000	0,772437	0,999999	0,956199
ETV_Água	0,770551	0,957669	0,831616	0,999685	0,245718	0,986556	0,521752
ETV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,998708	1,000000	0,999996
ETV_100	0,999992	1,000000	0,999999	1,000000	0,974511	1,000000	0,999176
ETV_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,998659	1,000000	0,999994	1,000000

ACI_300	1,000000	0,999915	0,999998	0,659769	0,904340	0,830274	0,772437
ACI_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,999979	1,000000	1,000000	0,999999
ACI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,906103	0,991077	0,974587	0,956199
ACV_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,954952	0,997606	0,991187	0,982642
ACV_Branco	0,995697	1,000000	0,999990	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_100	1,000000	1,000000	1,000000	0,998743	0,999995	0,999945	0,999800
ACV_200	1,000000	1,000000	1,000000	0,866791	0,983216	0,957740	0,931760
ACV_300	0,999962	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ACV_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,996456	0,999973	0,999767	0,999286
ACV_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,999996	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_Água		1,000000	1,000000	0,958922	0,997966	0,992284	0,984541
ETI_Branco	1,000000		1,000000	0,999949	1,000000	0,999999	0,999996
ETI_100	1,000000	1,000000		0,999170	0,999998	0,999969	0,999880
ETI_200	0,958922	0,999949	0,999170		1,000000	1,000000	1,000000
ETI_300	0,997966	1,000000	0,999998	1,000000		1,000000	1,000000
ETI_400	0,992284	0,999999	0,999969	1,000000	1,000000		1,000000
ETI_500	0,984541	0,999996	0,999880	1,000000	1,000000	1,000000	
ETV_Água	0,653045	0,980039	0,932211	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_100	0,999899	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_200	1,000000	0,999998	1,000000	0,814014	0,969114	0,931064	0,895565
ETV_300	1,000000	0,999998	1,000000	0,814014	0,969114	0,931064	0,895565
ETV_400	0,999699	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_500	0,995076	1,000000	0,999987	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000

Solv/Sazon/Trat	ETV_Água	ETV_Branco	ETV_100	ETV_200	ETV_300	ETV_400	ETV_500
	,65215	,83182	,79104	,97500	,97500	,78175	,75174
ACI_Agua	0,770551	1,000000	0,999992	1,000000	1,000000	0,999969	0,998994
ACI_Branco	0,957669	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999998
ACI_100	0,831616	1,000000	0,999999	1,000000	1,000000	0,999994	0,999676
ACI_200	0,999685	1,000000	1,000000	0,998659	0,998659	1,000000	1,000000
ACI_300	0,245718	0,998708	0,974511	1,000000	1,000000	0,958555	0,859937
ACI_400	0,986556	1,000000	1,000000	0,999994	0,999994	1,000000	1,000000
ACI_500	0,521752	0,999996	0,999176	1,000000	1,000000	0,998026	0,982145
ACV_Água	0,640115	1,000000	0,999872	1,000000	1,000000	0,999630	0,994316
ACV_Branco	1,000000	1,000000	1,000000	0,951478	0,951478	1,000000	1,000000
ACV_100	0,918965	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999976
ACV_200	0,455261	0,999980	0,997941	1,000000	1,000000	0,995554	0,969032
ACV_300	0,999872	1,000000	1,000000	0,997309	0,997309	1,000000	1,000000
ACV_400	0,874167	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999999	0,999887
ACV_500	0,993705	1,000000	1,000000	0,999968	0,999968	1,000000	1,000000
ETI_Água	0,653045	1,000000	0,999899	1,000000	1,000000	0,999699	0,995076

ETI_Branco	0,980039	1,000000	1,000000	0,999998	0,999998	1,000000	1,000000
ETI_100	0,932211	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999987
ETI_200	1,000000	0,999999	1,000000	0,814014	0,814014	1,000000	1,000000
ETI_300	1,000000	1,000000	1,000000	0,969114	0,969114	1,000000	1,000000
ETI_400	1,000000	1,000000	1,000000	0,931064	0,931064	1,000000	1,000000
ETI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,895565	0,895565	1,000000	1,000000
ETV_Água		0,996462	0,999951	0,385452	0,385452	0,999987	1,000000
ETV_Branco	0,996462		1,000000	0,999915	0,999915	1,000000	1,000000
ETV_100	0,999951	1,000000		0,995041	0,995041	1,000000	1,000000
ETV_200	0,385452	0,999915	0,995041		1,000000	0,990310	0,947390
ETV_300	0,385452	0,999915	0,995041	1,000000		0,990310	0,947390
ETV_400	0,999987	1,000000	1,000000	0,990310	0,990310		1,000000
ETV_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,947390	0,947390	1,000000	

Teste de Tukey para o **comprimento do hipocótilo**.

Solv/Sazon/Trat	ACI_Água	ACI_Branco	ACI_100	ACI_200	ACI_300	ACI_400	ACI_500
	,28212	,25868	,29115	,24792	,19566	,20035	,21319
ACI_Água		0,999998	1,000000	0,998154	0,029126	0,055844	0,251369
ACI_Branco	0,999998		0,999193	1,000000	0,422941	0,584245	0,932710
ACI_100	1,000000	0,999193		0,960177	0,007386	0,015291	0,091558
ACI_200	0,998154	1,000000	0,960177		0,784006	0,897718	0,997676
ACI_300	0,029126	0,422941	0,007386	0,784006		1,000000	1,000000
ACI_400	0,055844	0,584245	0,015291	0,897718	1,000000		1,000000
ACI_500	0,251369	0,932710	0,091558	0,997676	1,000000	1,000000	
ACV_Água	0,000199	0,000585	0,000197	0,002955	0,869513	0,742883	0,316787
ACV_Branco	0,000196						
ACV_100	0,000196	0,000196	0,000196	0,000197	0,020628	0,010092	0,001313
ACV_200	0,000197	0,000382	0,000196	0,001600	0,767920	0,613733	0,218098
ACV_300	0,000196	0,000196	0,000196	0,000196	0,004249	0,002004	0,000361
ACV_400	0,000196						
ACV_500	0,000196	0,000197	0,000196	0,000202	0,068864	0,036497	0,005169
ETI_Água	0,683552	0,999356	0,376191	1,000000	0,999621	0,999980	1,000000
ETI_Branco	0,189056	0,883884	0,064118	0,992988	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_100	0,048979	0,550144	0,013184	0,878041	1,000000	1,000000	1,000000
ETI_200	0,000800	0,030311	0,000299	0,124454	0,999998	0,999943	0,980031
ETI_300	0,001326	0,048290	0,000402	0,181457	1,000000	0,999995	0,993332
ETI_400	0,000314	0,008616	0,000214	0,042665	0,999508	0,995745	0,867411
ETI_500	0,029863	0,428660	0,007591	0,789012	1,000000	1,000000	1,000000
ETV_Água	1,000000	1,000000	1,000000	0,999993	0,099761	0,172119	0,535557

ETV_Branco	0,998977	1,000000	0,971256	1,000000	0,746435	0,872031	0,996080
ETV_100	1,000000	0,990366	1,000000	0,864272	0,002846	0,006047	0,041853
ETV_200	0,999997	1,000000	0,999043	1,000000	0,434408	0,596407	0,937617
ETV_300	0,626665	0,998553	0,326040	0,999999	0,999854	0,999995	1,000000
ETV_400	0,009658	0,217876	0,002279	0,540415	1,000000	1,000000	0,999994
ETV_500	0,987426	1,000000	0,884602	1,000000	0,903584	0,966359	0,999817

Solv/Sazon/Trat	ACV_Água	ACV_Branco	ACV_100	ACV_200	ACV_300	ACV_400	ACV_500
	,14673	,04524	,10685	,14286	,09673	,02351	,11548
ACI_Agua	0,000199	0,000196	0,000196	0,000197	0,000196	0,000196	0,000196
ACI_Branco	0,000585	0,000196	0,000196	0,000382	0,000196	0,000196	0,000197
ACI_100	0,000197	0,000196	0,000196	0,000196	0,000196	0,000196	0,000196
ACI_200	0,002955	0,000196	0,000197	0,001600	0,000196	0,000196	0,000202
ACI_300	0,869513	0,000196	0,020628	0,767920	0,004249	0,000196	0,068864
ACI_400	0,742883	0,000196	0,010092	0,613733	0,002004	0,000196	0,036497
ACI_500	0,316787	0,000196	0,001313	0,218098	0,000361	0,000196	0,005169
ACV_Água		0,002817	0,984389	1,000000	0,844572	0,000236	0,999568
ACV_Branco	0,002817		0,470394	0,005252	0,805758	1,000000	0,220327
ACV_100	0,984389	0,470394		0,996018	1,000000	0,045184	1,000000
ACV_200	1,000000	0,005252	0,996018		0,922908	0,000285	0,999958
ACV_300	0,844572	0,805758	1,000000	0,922908		0,160201	1,000000
ACV_400	0,000236	1,000000	0,045184	0,000285	0,160201		0,012798
ACV_500	0,999568	0,220327	1,000000	0,999958	1,000000	0,012798	
ETI_Água	0,071073	0,000196	0,000277	0,042315	0,000206	0,000196	0,000646
ETI_Branco	0,401181	0,000196	0,002020	0,286512	0,000476	0,000196	0,008053
ETI_100	0,772510	0,000196	0,011732	0,647377	0,002339	0,000196	0,041796
ETI_200	0,999987	0,000213	0,340422	0,999825	0,119310	0,000196	0,629931
ETI_300	0,999873	0,000204	0,249782	0,998964	0,079165	0,000196	0,513421
ETI_400	1,000000	0,000293	0,619604	1,000000	0,289832	0,000197	0,874843
ETI_500	0,865623	0,000196	0,020104	0,762699	0,004132	0,000196	0,067323
ETV_Água	0,000218	0,000196	0,000196	0,000205	0,000196	0,000196	0,000196
ETV_Branco	0,002418	0,000196	0,000197	0,001321	0,000196	0,000196	0,000200
ETV_100	0,000196						
ETV_200	0,000612	0,000196	0,000196	0,000395	0,000196	0,000196	0,000197
ETV_300	0,087945	0,000196	0,000310	0,053123	0,000210	0,000196	0,000810
ETV_400	0,974051	0,000197	0,057994	0,932853	0,013518	0,000196	0,166763
ETV_500	0,006597	0,000196	0,000199	0,003545	0,000197	0,000196	0,000213

Solv/Sazon/Trat	ETI_Água	ETI_Branco	ETI_100	ETI_200	ETI_300	ETI_400	ETI_500
	,22667	,21042	,19938	,17250	,17583	,16417	,19583
ACI_Agua	0,683552	0,189056	0,048979	0,000800	0,001326	0,000314	0,029863
ACI_Branco	0,999356	0,883884	0,550144	0,030311	0,048290	0,008616	0,428660

ACV_500	0,000196	0,000200	0,000196	0,000197	0,000810	0,166763	0,000213
ETI_Água	0,921000	0,999999	0,216327	0,999462	1,000000	0,990592	1,000000
ETI_Branco	0,440183	0,989169	0,028267	0,890935	1,000000	0,999999	0,999179
ETI_100	0,154437	0,849640	0,005177	0,562319	0,999988	1,000000	0,956975
ETI_200	0,003347	0,107200	0,000226	0,031850	0,776906	1,000000	0,216327
ETI_300	0,005721	0,158087	0,000256	0,050622	0,864272	1,000000	0,299567
ETI_400	0,000909	0,035842	0,000201	0,009099	0,496926	0,999996	0,082832
ETI_500	0,101903	0,751804	0,002927	0,440183	0,999868	1,000000	0,906748
ETV_Água		0,999997	0,999996	1,000000	0,890935	0,037999	0,999784
ETV_Branco	0,999997		0,890935	1,000000	0,999996	0,496926	1,000000
ETV_100	0,999996	0,890935		0,989169	0,181457	0,000909	0,725642
ETV_200	1,000000	1,000000	0,989169		0,998768	0,225742	1,000000
ETV_300	0,890935	0,999996	0,181457	0,998768		0,994860	1,000000
ETV_400	0,037999	0,496926	0,000909	0,225742	0,994860		0,712202
ETV_500	0,999784	1,000000	0,725642	1,000000	1,000000	0,712202	

Teste de Tukey para o **comprimento da radícula**.

Tratamentos	ACI_Água	ACI_Branco	ACI_100	ACI_200	ACI_300	ACI_400	ACI_500
	-1,950	-1,587	-1,546	-1,408	-1,486	-1,527	-2,004
ACI_Água		0,997131	0,987541	0,775850	0,939822	0,978177	1,000000
ACI_Branco	0,997131		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,993138
ACI_100	0,987541	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,977520
ACI_200	0,775850	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,747582
ACI_300	0,939822	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,917355
ACI_400	0,978177	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		0,964385
ACI_500	1,000000	0,993138	0,977520	0,747582	0,917355	0,964385	
ACV_Água	1,000000	0,999995	0,999911	0,971728	0,998026	0,999733	1,000000
ACV_Branco	0,542205	0,008476	0,004521	0,000592	0,001791	0,003371	0,837106
ACV_100	1,000000	0,999911	0,999178	0,926995	0,990677	0,998049	1,000000
ACV_200	1,000000	0,928014	0,850564	0,420124	0,680168	0,803304	1,000000
ACV_300	0,875181	0,042489	0,024226	0,003025	0,010083	0,018493	0,982555
ACV_400	0,556878	0,013539	0,007677	0,001087	0,003250	0,005865	0,824517
ACV_500	0,999992	0,514364	0,382521	0,095407	0,224110	0,327394	1,000000
ETI_Água	0,998608	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,996133
ETI_Branco	1,000000	0,999924	0,999275	0,930785	0,991456	0,998255	1,000000
ETI_100	0,944304	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,922540
ETI_200	1,000000	0,999019	0,994552	0,840056	0,965895	0,989549	1,000000
ETI_300	0,999955	1,000000	1,000000	0,999992	1,000000	1,000000	0,999744
ETI_400	1,000000	0,999636	0,997504	0,884056	0,980033	0,994766	1,000000

ETI_500	1,000000	1,000000	1,000000	0,999354	0,999995	1,000000	0,999997
ETV_Água	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790
ETV_Branco	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790
ETV_100	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790
ETV_200	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790
ETV_300	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790
ETV_400	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790
ETV_500	0,564848	0,009383	0,005013	0,000643	0,001982	0,003740	0,851790

Tratamentos	ACV_Água	ACV_Branco	ACV_100	ACV_200	ACV_300	ACV_400	ACV_500
	-1,841	-2,564	-1,881	-2,059	-2,452	-2,609	-2,210
ACI_Agua	1,000000	0,542205	1,000000	1,000000	0,875181	0,556878	0,999992
ACI_Branco	0,999995	0,008476	0,999911	0,928014	0,042489	0,013539	0,514364
ACI_100	0,999911	0,004521	0,999178	0,850564	0,024226	0,007677	0,382521
ACI_200	0,971728	0,000592	0,926995	0,420124	0,003025	0,001087	0,095407
ACI_300	0,998026	0,001791	0,990677	0,680168	0,010083	0,003250	0,224110
ACI_400	0,999733	0,003371	0,998049	0,803304	0,018493	0,005865	0,327394
ACI_500	1,000000	0,837106	1,000000	1,000000	0,982555	0,824517	1,000000
ACV_Água		0,222587	1,000000	1,000000	0,550768	0,251132	0,996340
ACV_Branco	0,222587		0,324675	0,868946	1,000000	1,000000	0,997961
ACV_100	1,000000	0,324675		1,000000	0,687268	0,351609	0,999409
ACV_200	1,000000	0,868946	1,000000		0,991337	0,860656	1,000000
ACV_300	0,550768	1,000000	0,687268	0,991337		1,000000	0,999998
ACV_400	0,251132	1,000000	0,351609	0,860656	1,000000		0,996247
ACV_500	0,996340	0,997961	0,999409	1,000000	0,999998	0,996247	
ETI_Água	0,999999	0,010913	0,999970	0,949846	0,052988	0,016995	0,571044
ETI_Branco	1,000000	0,317460	1,000000	1,000000	0,678841	0,344624	0,999327
ETI_100	0,998305	0,001890	0,991732	0,691625	0,010634	0,003420	0,232030
ETI_200	1,000000	0,461000	1,000000	1,000000	0,818228	0,481191	0,999954
ETI_300	1,000000	0,027205	1,000000	0,991328	0,114866	0,038534	0,773004
ETI_400	1,000000	0,397361	1,000000	1,000000	0,763338	0,421208	0,999843
ETI_500	1,000000	0,070424	1,000000	0,999589	0,245415	0,090166	0,929607
ETV_Água	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490
ETV_Branco	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490
ETV_100	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490
ETV_200	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490
ETV_300	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490
ETV_400	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490
ETV_500	0,237583	1,000000	0,343610	0,882871	1,000000	1,000000	0,998490

Tratamentos	ETI_Água	ETI_Branco	ETI_100	ETI_200	ETI_300	ETI_400	ETI_500
	-1,604	-1,879	-1,490	-1,926	-1,667	-1,906	-1,738

