

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Hortênsia Pio Oliveira Silva Rezende

Estudo dos efeitos alelopáticos de extratos obtidos de Eucalipto (*Eucalyptus* sp) em
culturas de alface (*Lactuca sativa* L)

Uberaba

2023

Hortênsia Pio Oliveira Silva Rezende

Estudo dos efeitos alelopáticos de extratos obtidos de Eucalipto (*Eucalyptus* sp) em culturas de alface (*Lactuca sativa* L)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, área de concentração “Química verde e Eletroquímica ambiental”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Granato Malpass

Uberaba

2023

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

R356e	Rezende, Hortênsia Pio Oliveira Silva Estudo dos efeitos alelopáticos de extratos obtidos de Eucalipto (<i>Eucalyptus sp</i>) em culturas de alface (<i>Lactuca sativa L</i>) / Hortênsia Pio Oliveira Silva Rezende. -- 2023. 49 p. : il., graf., tab. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2023 Orientador: Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass Coorientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Granato Malpass 1. Alelopatia. 2. Agentes alelopáticos. 3. Germinação. I. Malpass, Geoffroy Roger Pointer. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título. CDU 581.524.13:631.547.1
-------	--

HORTÊNSIA PIO OLIVEIRA SILVA REZENDE

**ESTUDO DOS EFEITOS ALELOPÁTICOS DE EXTRATOS OBTIDOS DE
EUCALIPTO (*Eucalyptus* sp) EM CULTURAS DE ALFACE (*Lactuca sativa* L)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 14, de dezembro, 2023.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Profª. Drª. Mônica Hitomi Okura
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Mauro Luiz Begnini
Universidade de Uberaba



Documento assinado eletronicamente por GEOFFROY ROGER POINTER MALPASS , Professor do Magistério Superior, em 14/12/2023, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



Documento assinado eletronicamente por MONICA HITOMI OKURA, Professor do Magistério Superior, em 15/12/2023, às 16:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



Documento assinado eletronicamente por Mauro Luiz Begnini, Usuário Externo, em 18/12/2023, às 21:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1115786 e o código CRC 991536EA.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela força que sempre tive quando o clamei.

A todos que colaboraram para esta realização.

Agradeço a FAPEMIG (PPM-00147-17).

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	11
2-OBJETIVO GERAL.....	13
2.1- OBJETIVO ESPECÍFICO.....	13
3-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1- PESTICIDAS.....	16
3.2- PLANTAS: ESPÉCIES ALELOPÁTICAS.....	18
3.3- EUCALIPTO.....	18
3.4- SUBSTÂNCIAS ALELOPÁTICAS.....	20
3.5- TANINOS.....	20
3.6- FLAVONOIDES.....	21
3.7- ALCALOIDES E FENANTRENO.....	22
4-MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE.....	24
4.2- EXTRAÇÃO E PREPARO DAS SOLUÇÕES.....	24
4.3-IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE SUBSTÂNCIAS ALELOPÁTICAS PRESENTES NOS EXTRATOS OBTIDOS.....	26
4.3.1.Para a identificação de taninos presentes nos extratos foram realizados os ensaios.....	26
4.3.2.Para a identificação de flavonoides presentes nos extratos foi realizado o ensaio.....	30
4.3.3.Para a identificação de alcaloides presentes nos extratos foram realizados os ensaios.....	31
4.3.4.Para a identificação de fenantreno presentes nos extratos foi realizado o ensaio.....	33
4.4. BIOENSAIO DE CRESCIMENTO DAS SOLUÇÕES DO EXTRATO EM PLÂNTULAS.....	34
5-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 SECAGEM E UMIDADE.....	35
5.2 EXTRAÇÃO DO EUCALIPTO.....	36
5.3 IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE SUBSTÂNCIAS PRESENTES NO EXTRATO OBTIDO	36
5.4 APLICAÇÃO EM PLÂNTULAS.....	41
6-CONCLUSÃO.....	45
7-REFERÊNCIAS.....	46

Índice de figuras

Figura 1: Mecanismo de ação de aleloquímicos.....	15
Figura 2: Plantação de Eucalipto.....	19
Figura 3: Estrutura e tipos dos Taninos.....	20
Figura 4: Estrutura da Flavona.....	22
Figura 5: Estruturas químicas (a) Alcaloide e (b) Fenantreno.....	22
Figura 6: Esquema de extração do eucalipto e obtenção do extrato.....	25
Figura 7: Soluções do extrato de eucalipto para aplicação em plântulas..	26
Figura 8: Reação de complexação dos taninos com o ferro.....	27
Figura 9: Reação entre taninos e íons Cu^{2+}	28
Figura 10: Complexação entre taninos e proteínas como a gelatina.....	29
Figura 11: Reação de Shinoda.....	31
Figura 12: Reações que ocorrem nos testes com Reagente de Dragendorff.....	32
Figura 13: Mecanismo de reação envolvido na reação de Libermann – Burchard.....	33
Figura 14: Partes da planta após secagem.....	35
Figura 15: Curva de secagem das partes de Eucalipto.....	36
Figura 16: Reações de identificação para taninos – Parte I.....	37
Figura 17: Reações de identificação para taninos – Parte II.....	38
Figura 18: Identificação flavonoides e alcaloides respectivamente.....	39
Figura 19: Identificação de fenantreno no extrato obtido.....	40
Figura 20: Bioensaio de crescimento das soluções do extrato em plântulas.....	41
Figura 21: Concentração de soluções do extrato obtido por tratamentos.	42
Figura 22: Média de crescimentos por tratamento.....	42

Índice de tabelas

Tabela 1: Resultados dos testes de identificação.....	37
Tabela 2: Média de dimensão das plântulas por blocos.....	43

RESUMO

A alelopatia estuda as interações entre plantas através da liberação de metabólitos secundários no meio de cultivo, esses interagem com outras espécies de plantas e podem provocar efeitos benéficos como aumento da proteção das partes aéreas a incidência de insetos, ou, danosos como a interrupção do crescimento. Esses efeitos são observados em sistemas agroflorestais, porém, se tornou objeto de estudo para possibilidade de desenvolvimento de moléculas como agregado na produção de defensivos agrícolas ou uso direto como manejo de menor impacto. O presente trabalho, objetiva identificar substâncias químicas capazes de provocar efeitos alelopáticos através de mecanismos qualitativos utilizando reações químicas e testar os efeitos dos aleloquímicos em plântulas de alface. As partes da planta de *Eucalypto* foram compradas em comércio local de Uberaba-MG, foram submetidas a lavagem, secagem e cálculo de umidade. Realizou-se a extração e identificação das classes de compostos químicos através de reações químicas. Além disso, foram preparadas soluções, contendo as substâncias alelopáticas, e aplicadas em plântulas de alface em delineamento de blocos casualizados. A medição do tamanho das plantas foi realizada no sexto dia após a aplicação das soluções nas plantas. Os resultados foram comparados utilizando ANOVA e Teste Tukey a 5% de significância. Através das reações foram identificadas a presença de várias classes de substâncias, como: flavonoides, alcaloides, fenantreno e taninos em grandes porcentagens dos testes. Essas substâncias influenciaram tanto o crescimento quanto o desenvolvimento das plântulas, gerando efeitos em partes dos blocos. Desta forma, os resultados evidenciam que essas substâncias geram efeitos nessas espécies de plantas e pode ser utilizada como forma de manejo de menor impacto e produção de ativos e produtos menos agressivos ao meio ambiente.

Palavras-chave: Alelopatia; agentes alelopáticos; germinação.

ABSTRACT

Allelopathy studies the interactions between plants through the release of secondary metabolites into the cultivation medium, which interact with other plant species and can cause beneficial effects such as increased protection of aerial parts against the incidence of insects, or harmful effects such as growth interruption. . These effects are observed in agroforestry systems; however, it has become the object of study for the possibility of developing molecules as an aggregate in the production of agricultural pesticides or direct use as lower impact management. The present work aims to identify chemical substances capable of causing allelopathic effects through qualitative mechanisms using chemical reactions and test the effects of allelochemicals on lettuce seedlings. The parts of the Eucalyptus plant were purchased from local stores in Uberaba-MG and were washed, dried and calculated for humidity. The extraction and identification of classes of chemical compounds was carried out through chemical reactions. Furthermore, solutions containing allelopathic substances were prepared and applied to lettuce seedlings in a randomized block design. Plant size was measured on the sixth day after applying the solutions to the plants. The results were compared using ANOVA and Tukey test at 5% significance. Through the reactions, the presence of several classes of substances was identified, such as: flavonoids, alkaloids, phenanthrenes and tannins in large percentages of the tests. These substances influenced both the growth and development of seedlings, generating effects in parts of the blocks. Thus, the results show that these substances generate effects on these plant species and can be used as a form of management with less impact and production of assets and products that are less aggressive to the environment.

Keywords: Allelopathy; secondary metabolites; germination.

1 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento dos métodos de pesquisa, percebeu-se a possibilidade de comprovar que determinadas espécies de plantas exercem influência no crescimento, desenvolvimento e divisão celular de outras espécies favorecendo sistemas de manejo sustentável (SOARES, SILVA, DIAS, 2020). O eucalipto possui papel importante nesses sistemas por conter substâncias capazes de provocar efeitos alelopáticos. E por isso tem sido utilizado como objeto de estudo envolvendo essas substâncias (PEREIRA et al., 2020).

A implantação de sistemas florestais em conjunto com culturas agrícolas tem-se mostrado eficiente no aumento da produtividade, isso ocorre devido à interação do plantio de árvores e plantações, indicando o eucalipto por ser grande produtor de substâncias alelopáticas como alcaloides, flavonoides, fenantreno e taninos (CASTIANI, 2021). Embora seja eficiente na produção de aleloquímicos, o eucalipto merece atenção por ser precursor de sítios ativos que podem provocar efeitos benéficos como a proteção de suas partes aéreas ou danosos como interrupção de crescimento (LIMA, 2020). As interações em geral ocorrem no meio de cultivo da planta e podem ser alteradas pelas estações do ano e o índice pluviométrico (BITENCOURT et al., 2021). De acordo com Bedin et al. (2006) “a alelopatia: é definida pela interferência de substâncias químicas produzidas por determinado vegetal, chamadas de aleloquímicos”. O estudo dos aleloquímicos possui grande relevância pois, o conhecimento dessas substâncias permite a seletividade entre as culturas através de sua utilização na inibição das ervas daninhas e otimização consequente do vegetal alvo (GOLDFARB, PIMENTEL, PIMENTEL, 2009; OLIVEIRA et al. (2020). Essas substâncias são derivadas de metabólitos secundários e, Rocha et al. (2020) ressalta que esses efeitos não são provocados por um único fator isolado e podem ser afetados pelo meio e sazonalidade de cultivos.

Os aleloquímicos variam de acordo com as espécies de vegetais, e diferenciam-se em quantidade e qualidade, sofrendo até mesmo a interferência do meio de ocorrência ou ciclo de cultivo (FERREIRA & ÁQUILA, 2000; OLIVEIRA et al., 2020). Suas liberações em quantidades significativas provocam efeitos nos vegetais

(CARVALHO et al., 1993; CASTIANI, 2021). Em geral os efeitos provocados pelos aleloquímicos são causados por compostos secundários de diversas classes químicas tais como aminas, polifenóis e fenil/antraceno (BORELLA, PASTORINI, 2010; SILVA et al., 2021).

Segundo Rocha et al. (2020) pesquisas sugerem a exploração da alelopatia como alternativa de manejo plantas infectantes, sendo que o controle dessa variedade geralmente ocorre por meio do uso de herbicidas. Isso tem gerado certa preocupação pelo elevado nível de contaminação do solo e dos alimentos (FORMAGIO et al., 2010). Notoriamente, enxerga-se nos aleloquímicos um recurso eficiente para controle da espécie infectante na agricultura, de modo a preservar os recursos (BITENCOURT et al., 2021) e produzir cultivos de qualidade, melhorando a forma de cultivo das lavouras, podendo utilizar tais propriedades na confecção de herbicidas de forma incorporada em seu potencial ativo (FORMAGIO et al., 2010; BITENCOURT et al., 2021).

2 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo identificar a presença substâncias capazes de produzir efeitos alelopáticos, como alcaloides, flavonoides, fenantreno e taninos, presentes em partes do Eucalipto através de reações químicas e testar os efeitos dos extratos contendo aleloquímicos em plântulas de alface.

2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Fazer a extração da planta eucalipto por Soxhlet;
- Identificar qualitativamente a presença de substâncias químicas no extrato através de reações químicas;
- Preparar soluções de diferentes concentrações de extrato de eucalipto e aplicá-las em plântulas de alface;
- Analisar os possíveis efeitos do extrato contendo aleloquímicos no desenvolvimento das plântulas de alface.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O termo alelopatia, foi criado em 1937 pelo pesquisador Hans Molish, deriva do grego *allelon* (de um para outro), *pathós* (sofrer) (FERREIRA, AQUILA, 2000; OLIVEIRA et al., 2020). É definida como qualquer efeito que uma planta exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente (RICE, 1984; OLIVEIRA et al., 2020).

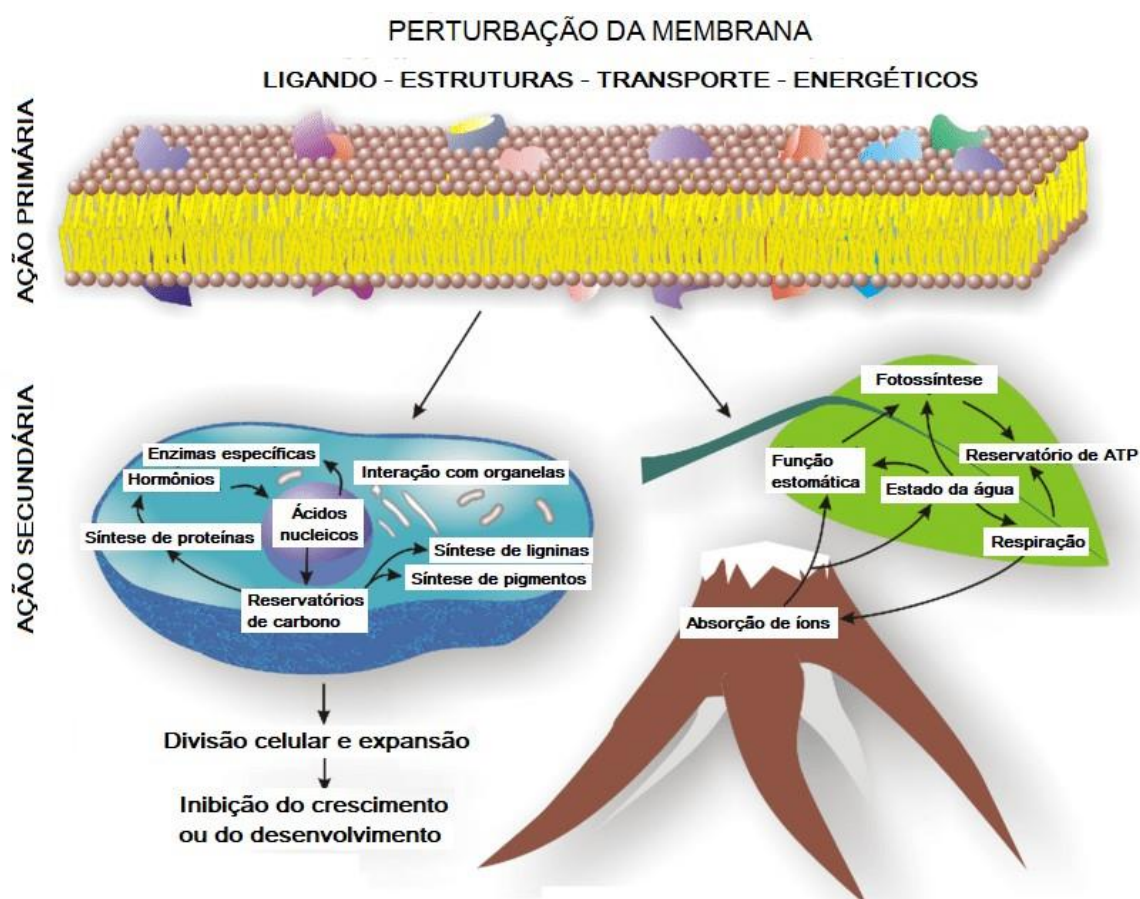
Pode-se dizer então que, nomeia interações entre tipos de plantas (CARMO, BORGES, TAKAKI, 2007; BITENCOURT et al., 2021). Correlaciona-se a alelopatia com a capacidade de uma espécie gerar efeitos no desenvolvimento de outra, através de substâncias químicas conhecidas como aleloquímicos comumente liberadas no meio de cultivo (FORMAGIO et al.; 2010; CASTIANI, 2021).

Os aleloquímicos são derivados da atividade celular podendo ser conhecidos como metabólitos secundários e são substâncias funcionais de defesa ou proteção, que em alguma fase da vida representou vantagens para a planta de forma geral (MANO, 2006; SILVA et al., 2021). Ainda não se sabe se esses metabólitos são produtos do metabolismo celular ou se são sintetizados como função específica. Mas se sabe que, conforme o desenvolvimento, idade da planta e os tipos de órgãos vegetais podem influenciar na quantidade total de metabólitos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; BITENCOURT et al., 2021). Sabe-se também que esses variam em qualidade e quantidade de acordo com cada espécie e até mesmo de um local ou ciclo de cultivo para outro, isso porque eles dependem das condições de exposição da planta (FERREIRA; ÁQUILA, 2000; SOARES, SILVA, DIAS, 2020).

Contudo, o estudo dos efeitos alelopáticos engloba pesquisas com finalidade de desenvolver moléculas capazes de controlar plantas infectantes com menor impacto ambiental (BORELLA; PASTORINI, 2010; CASTIANI, 2021). Para isso, se faz necessário o conhecimento sobre os mecanismos utilizados pelos aleloquímicos. Bezerra (2020) acredita que esses compostos são liberados por volatilização, lixiviação, decomposição e exsudação. Os volatilizados são liberados pela planta doadora e depois passam pelo processo ambiental onde se perde uma parte e a outra é absorvida pela planta receptora (MANO, 2006; OLIVEIRA et al., 2020).

Segundo Einhellig (1995) e Bezerra (2020) os aleloquímicos possuem mecanismos de ação que podem ocorrer por causa de perturbações na membrana, como mostra a Figura 1. De acordo com os autores, através dessas perturbações na membrana, criam-se os seguintes modos de ação por interações com hormônios (que atuam diretamente no desenvolvimento das plantas e processos envolvendo frutos e flores), transporte de enzimas específicas (que funcionam como catalisadores de reações metabólicas), de estado hídrico (que envolve a absorção de água e seu retorno para a atmosfera) e estrutura (que envolve processo como fixação, nutrição, dentre outros).

Figura 1: Mecanismo de ação de aleloquímicos.



Fonte: Adaptado de Einhellig (1995).

Além do mais, fatores como radiação ultravioleta, doenças e ataques de insetos podem alterar a quantidade de aleloquímicos produzidos (FORMAGIO et al., 2010; BEZERRA, 2020). Oliveira et al. (2020) diz que esses modos de atuação são fonte de estudos constantes e sabe-se que esses aleloquímicos tem aparente atuação em sítios moleculares distintos dos herbicidas comerciais, tendo aplicações práticas semelhantes, porém, efeitos e permanência ambiental diferentes.

3.1 PESTICIDAS

Os pesticidas foram de grande importância em alguma etapa evolutiva do homem, as primeiras descobertas levaram ao uso de substâncias tóxicas que mais tarde desencadeou uma série de fatores prejudiciais ao meio ambiente e a população em geral (PEREIRA et al., 2020). Com a evolução do homem surgiu a necessidade de se produzir cada vez mais alimento. Para aumentar a produtividade houve a necessidade de desenvolver técnicas para o combate de pragas e ervas-daninhas (MACHADO et al., 2006; BURALLI, 2020). Demais técnicas também têm sido desenvolvidas com a finalidade de forçar o aumento da produção de alimentos, isso por meio de introdução de novas tecnologias, expansão de fronteiras agrícolas, intensificação do uso do solo, aplicação de agroquímicos, mecanização e outros fatores (GERGOLETTI, 2008; ALVES, COELHO, PEREIRA et al., 2020).

Os agroquímicos de acordo com Velasco & Capanema (2006) são também conhecidos como agrotóxico, pesticida, praguicida ou biocida. Os agroquímicos têm sua definição no Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei 7.802/1989, em seu artigo 1º, inciso IV:

“Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias de produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.”

A ação do herbicida consiste em controlar espécies daninhas, interferindo no seu crescimento e desenvolvimento. A interferência ocorre através de modos de ação que agem como bloqueadores na germinação e impedem a produção de carboidratos essenciais, proteínas e/ou lipídeos (MACHADO et al., 2006; DAUFENBACK et al., 2022). E podem também desidratar folhas e caules (MARCHI; MARCHI; GUIMARAES, 2008; ALVES, COELHO, PEREIRA, 2020).

O consumo de agrotóxicos comercializados mundialmente é composto em sua grande maioria pelos herbicidas (MOURA; FRANCO; MATALLO, 2008; BURALLI, 2020). Para Christoffolet e Ovejero (2008) os herbicidas não devem ser utilizados durante muito tempo de forma contínua e invariável, isso porque há grande possibilidade do surgimento de plantas daninhas resistentes, através de seleção, e por isso é indicado o uso de herbicidas com diferentes mecanismos de ação (MARCHI; MARCHI; GUIMARAES, 2008; BEZERRA, 2020). Segundo Machado et al., (2006) a fito toxicidade dos herbicidas pode ser separada em: mecanismo de ação e modo ação, o primeiro ocorre no interior das células sendo um processo bioquímico inibido pelo herbicida, este tão somente pode ser capaz de matar plantas sensíveis, já o segundo é o conjunto de fatores do primeiro e os sintomas visíveis na estrutura da planta (BEZERRA, 2020).

Devido ao risco iminente do uso de herbicidas sintéticos, que pode realizar alterações importantes no solo como a restrição biológica da fixação de N_2 , causando a nitrificação (EIRA, 1995; BURALLI, 2020), ressalta-se a importância pela descoberta de novos produtos com efeitos similares, mas sem ou com reduzida toxicidade. Além disso, com a descoberta da alelopatia surgiram pesquisas como objetivo de se encontrar plantas capazes de atuar no controle de pragas, mediante a liberação de aleloquímicos presentes em seus extratos (CANDIDO et al., 2013; ALVES, COELHO, PEREIRA et al., 2020).

Desta forma, o estudo de Buralli, (2020) se mostra muito importante. De acordo com o autor, o extrato de eucalipto apresenta compostos em sua constituição com importante ação como herbicida natural. Além disso, o extrato de eucalipto apresenta baixa toxicidade em mamíferos, pouca concentração residual, se comparado aos herbicidas sintéticos, e é amplamente eficaz contra uma variedade de pragas (TOLOZA, et al. 2006; ALVES, COELHO, PEREIRA et al., 2020).

3.2 PLANTAS: ESPÉCIES ALELOPÁTICAS

Com a descoberta da alelopátia pesquisas para encontrar-se substâncias naturais capazes de atuar de forma natural no controle de pragas, mediante a liberação de aleloquímicos aumentou (CANDIDO et al., 2013; CHIOCHETTA, TISCHER, 2021). As plantas são consideradas essenciais para a vida do homem, de acordo com Rocha et al. (2020) é delas a capacidade de renovar o ar através da fotossíntese, produzir alimentos, madeira, além de preservar o equilíbrio dos ecossistemas em que estão incorporadas (CHIOCHETTA, TISCHER, 2021).

Cada espécie tem características determinantes para sua sobrevivência e é a partir dessas que se nota a importância da biossíntese realizada pelas células de cada planta produzindo substâncias. Segundo Rocha et al. (2020) essas substâncias são capazes de interferir em outras espécies divisoras de um mesmo espaço, fenômeno denominado interferência. De acordo com Goldfarb, Pimentel & Pimentel (2009) e Rocha et al. (2020) o modo de atuação dessas substâncias nas outras espécies de plantas ainda é difícil de ser totalmente determinado em sua essência, isso ocorre pois elas afetam mais de uma função e possuem efeitos colaterais semelhantes aos principais e por isso se torna difícil sua distinção (CHIOCHETTA, TISCHER, 2021).

Quanto às espécies consideradas alelopáticas o eucalipto tem ganhado inúmeras observações devidas sua grande atividade alelopática (FERREIRA; AQUILA, 2000; CASTIANI, 2021).

3.3 EUCALIPTO

O eucalipto segundo Pereira et al., (2020) é uma planta da família das Angiospermas, possui inúmeras aplicações dentre elas sua importância no fomento de empresas de papel e celulose e painéis de madeira. Possui grande aplicabilidade em teste com aleloquímicos por ser grande precursor desses (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014). O eucalipto ainda afasta insetos e animais sendo suas florestas chamadas comumente de “deserto verde”.

A família das Angiospermas é dividida em três outros grupos dentre eles encontramos o grupo das Mirtáceas no qual se encontra classificado o eucalipto. Esta família compreende entre 140 e 150 gêneros e 3.500 a 3.600 espécies (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014; PEREIRA et al., 2020). São árvores de grande porte, como mostra a Figura 2.

Figura 2: Plantação de Eucalipto.



Fonte: <https://torabras.com.br/o-eucalipto>.

Na região do Triângulo Mineiro predomina espécie de Eucalipto conhecida por *Eucalyptus grandis* (“urograndis”). Sua composição botânica em geral tem: holocelulose que é composta pela celulose e polissacarídeos, alfacelulose é um polímero de celulose, extrativos totais contendo lignina e compostos voláteis (BARREIROS et al., 2023). De acordo Zanuncio et al., teores de lignina insolúvel e solúvel compõe cerca de 30% dos extrativos totais, sendo restante composto por substâncias químicas de classes variadas e capazes de gerar efeitos no solo e cultivares próximos.

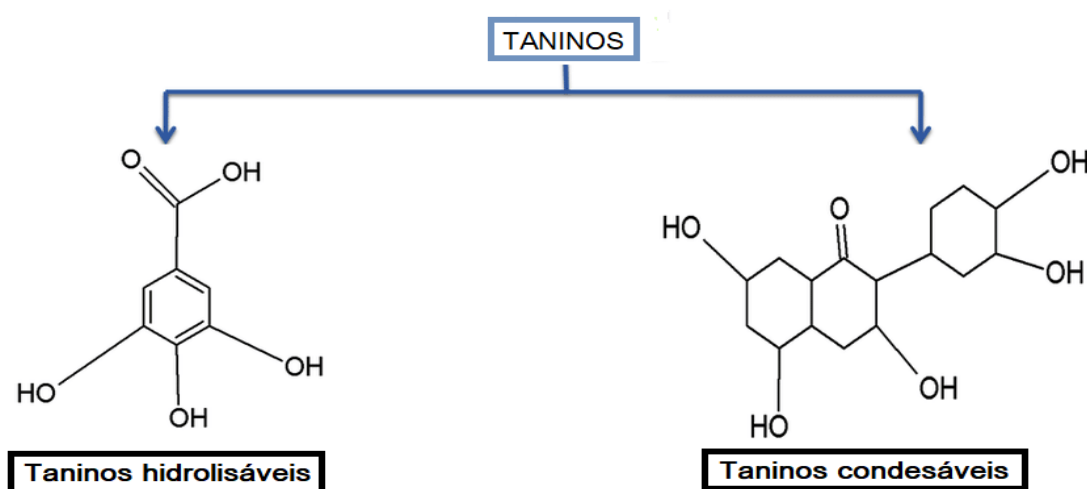
3.4 SUBSTÂNCIAS ALELOPÁTICAS

Essas substâncias são também conhecidas como aleloquímicos derivados do metabolismo secundário das plantas, podem ser liberadas pelo vegetal no ambiente como forma de atrair, repelir, nutrir ou prover toxicidade (CREMONEZ et al., 2013; PEREIRA et al., 2020). Estudos sugerem a eficácia de determinados extratos de plantas, causando inibição no crescimento de plantas infectantes e potencializando o crescimento radicular de algumas culturas específicas. Muitas substâncias de classes químicas diferentes atuam como aleloquímicos, como será abordado a seguir. Além disso, essas substâncias podem ser identificadas por métodos qualitativos, através de reações químicas para identificação de qual classe essas pertencem (PEREIRA et al., 2020).

3.5 TANINOS

Os taninos (Figura 3) são substâncias da classe dos polifenóis advindos dos vegetais, possuem capacidade antioxidante, sequestrante e complexante. É amplamente utilizado em medicamentos e sua presença em bebidas como vinho confere requinte ao produto. Tem característica polar e costuma ser responsável por características como adstringência (CASTIANI, 2021).

Figura 3: Estrutura e tipos dos Taninos.



Fonte: Ghosh (2015).

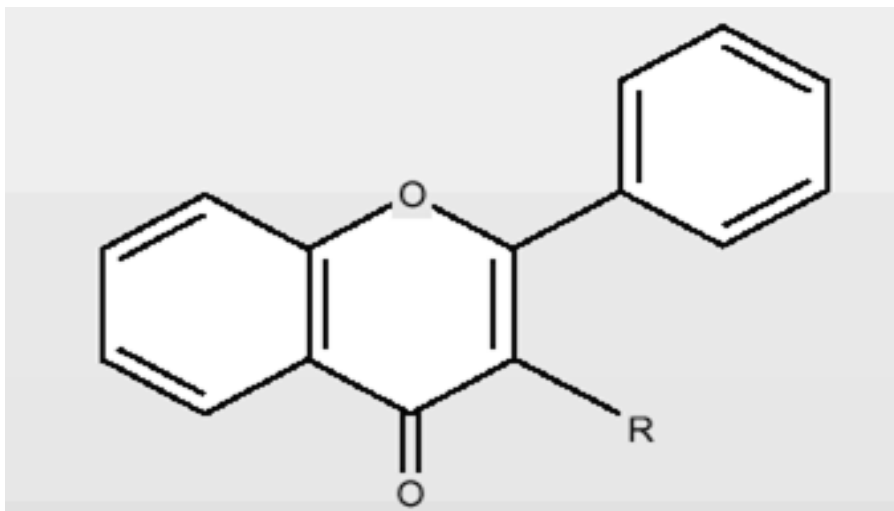
De acordo com Castejon (2011) e Oliveira et al. (2020) os taninos são compostos hábeis na formação de complexos, sendo essa característica responsável por sua propriedade controladora de insetos, fungos e bactérias, além de suas finalidades industriais (CASTIANI, 2021). Segundo Battestin, Matsuda e Macedo (2004) os taninos estão presentes em determinadas espécies de plantas como a classe das angiospermas e dentro dessa classe predominam nas dicotiledônias. E predominam em partes das plantas como: raízes, lenho, cascas, folhas dentre outras (PEREIRA et al., 2020).

Os taninos podem ser classificados em dois grupos mais importantes sendo os hidrolisáveis com moléculas de poli-hidroxifenóis (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004; CASTIANI, 2021) e os condensados que possuem estrutura química polihidroxiflavan-3-ol (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; SOARES, SILVA, DIAS, 2020). Há também uma classe de taninos que formam precipitados avermelhados e são altamente insolúveis e condensados como os flobafenos (SILVA, 2009; CHIOCHETTA, TISCHER, 2021). Outras classes também sugerem atividade alelopática tais como flavonoides, flavonas e alcaloides.

3.6 FLAVONOIDES

Os flavonoides são compostos fenólicos derivados do metabolismo secundário de plantas. Tem características como baixo peso molecular e ainda podem ser encontrados em diversos tipos de vegetais. Possuem propriedades de grande interesse como a sua ação em células e tecidos (SOARES, SILVA, DIAS, 2020). A classificação desses compostos está ligado ao nível de oxidação percebido em suas estruturas químicas e nessa classe de compostos podemos encontrar as flavonas (Figura 4), sendo essa um flavonoide comum em madeiras e flores (OLIVEIRA et al., 2020).

Figura 4: Estrutura da Flavona.

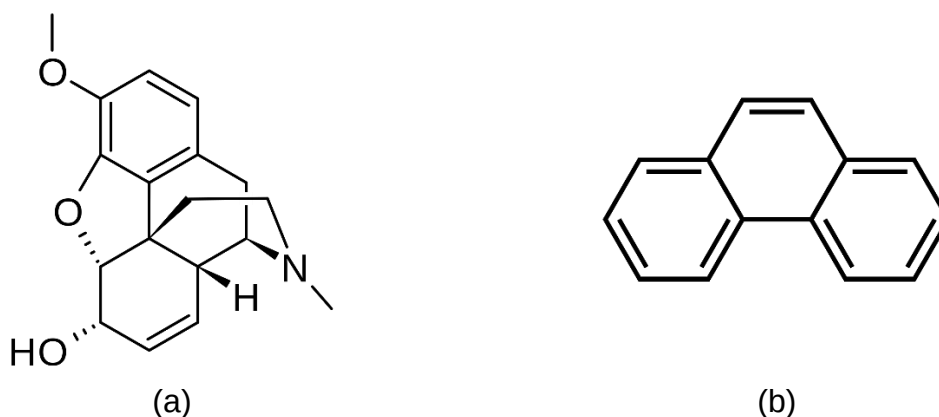


Fonte: Flavonoides | Offarm (elsevier.es).

3.7 ALCALOIDES E FENANTRENO

Estão presentes em flores, folhas e partes de vegetais. No caso dos alcaloides tem caráter alcalino e possui sabor amargo. Possuem diversas aplicações podendo ser produtor de compostos benéficos ou não (ROCHA et al., 2020). Já o fenantreno é um composto aromático policíclico com capacidade fotossensibilizante, ou que absorvem luz para realização de fotossíntese. As estruturas químicas básicas de um alcaloide e fenantreno estão apresentadas na Figura 5.

Figura 5: Estruturas químicas (a) Alcaloide e (b) Fenantreno



Fonte: Cabral, Pita (2015); Silva (2009).

De acordo com Oliveira et al. (2020) os alcaloides e fenantreno compõem um grupo heterogêneo, formado por compostos naturais de estrutura complexa. Devido à atividade desses metabólitos secundários, Marques & Lopes (2015) e Soares, Silva & Dias (2020) acreditam que essas classes são estudadas com relação a sua estrutura química e atividade.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O eucalipto utilizado neste estudo foi comprado em comércio da cidade de Uberaba-MG.

4.1 Determinação da Umidade

As cascas foram previamente lavadas e secas em local ventilado com incidência moderada de sol. Para análise de umidade em método adaptado de Silva et al. (2020) foram colocadas 3 placas de Petri em estufa a 100°C (±1,0°C) por 30 minutos. Retirou-se as placas da estufa e, após voltarem à temperatura ambiente, em cada placa foram pesados um grama de amostra. Colocou-se as amostras na estufa a 100°C por 2 horas. Em seguida, retirou-se as amostras da estufa e, após voltarem à temperatura ambiente pesou-se novamente (SILVA, et al., 2020). O cálculo da umidade foi feito através da equação 1:

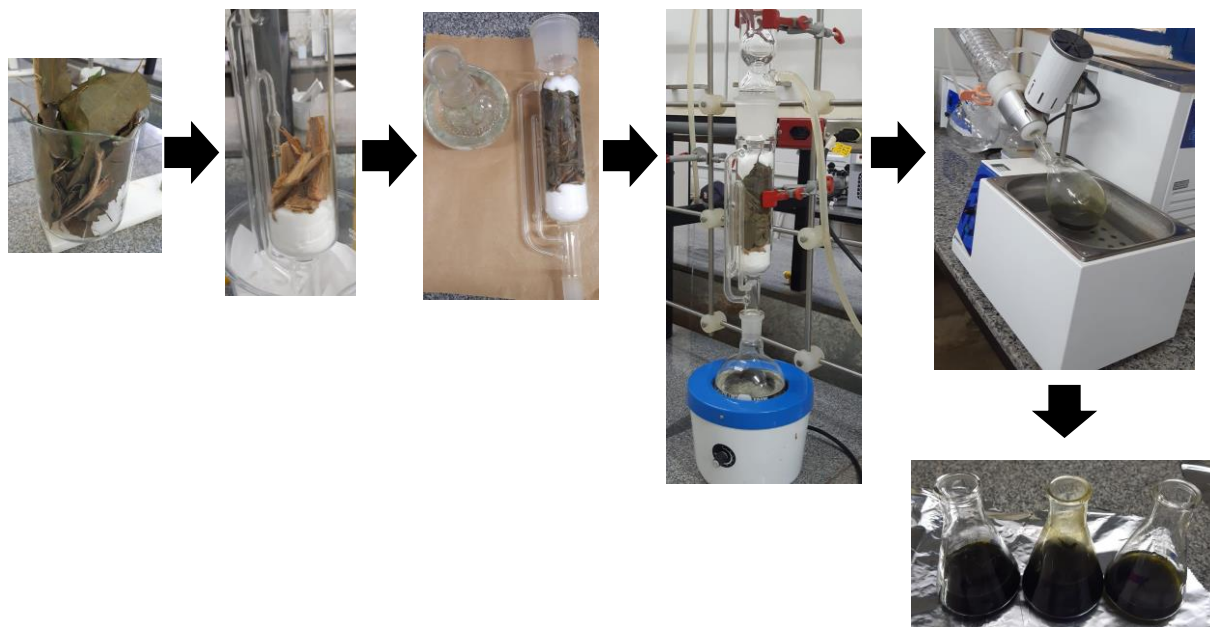
$$umidade(\%) = \frac{massa\ umida - massa\ seca}{massa\ umida} \times 100 \quad (1)$$

4.2 Extração e preparação das soluções

As partes do Eucalipto: folhas, cascas e pequenos galhos; foram secos e triturados em liquidificador industrial na velocidade máxima, durante 30 minutos com pequenas pausas para evitar aquecimento. As amostras trituradas foram submetidas a extrações exaustivas em aparato Soxhlet na proporção de 1:8 de massa vegetal para o solvente, com conservação da massa e troca do solvente na ordem de polaridade decrescente: hexano, metanol e etanol, de acordo com a metodologia adaptada de Oliveira et al. (2016). Os diferentes extratos obtidos foram reunidos e submetidos a rotaevaporação para secar o solvente. O extrato foi então mantido em estufa a 40°C (±1,0) até completa secagem, conforme mostra a Figura 6. Então, foi mantido sob refrigeração até a utilização. O rendimento percentual da extração foi calculado através da equação 2:

$$R\% = \frac{\text{massa do extrato}}{\text{massa de eucalipto}} \cdot 100 \quad (2)$$

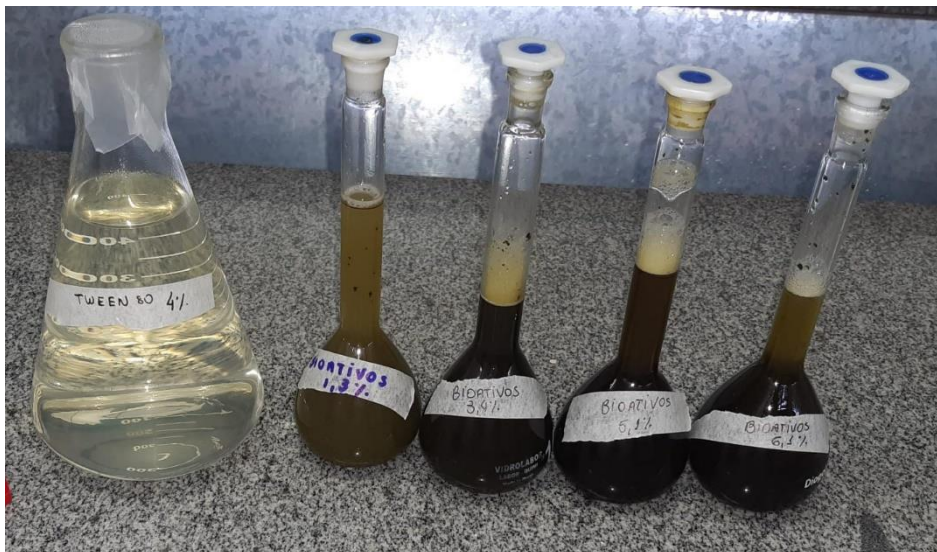
Figura 6: Esquema de extração do eucalipto e obtenção do extrato.



Fonte: Da autora, 2023.

As soluções a partir do extrato obtido foram preparadas nas concentrações de 1,3%, 3,44%, 5,11% e 6,1% de bioativos (Figura 7) e aplicadas em plântulas de alface com tamanho médio de 5,3 centímetros. O delineamento foi em blocos casualizados. As plântulas foram observadas até o sexto dia da aplicação e assim registrou-se as condições das plantas em aspecto e dimensões de acordo com ROCHA et al. (2020).

Figura 7: Soluções do extrato de eucalipto para aplicação em plântulas.



Fonte: Da autora, 2023.

4.3 Identificação das classes de substâncias alelopáticas presentes nos extratos obtidos

A seguir são apresentadas as metodologias para os ensaios qualitativos de identificação.

4.3.1. Para a identificação de taninos presentes nos extratos foram realizados os ensaios:

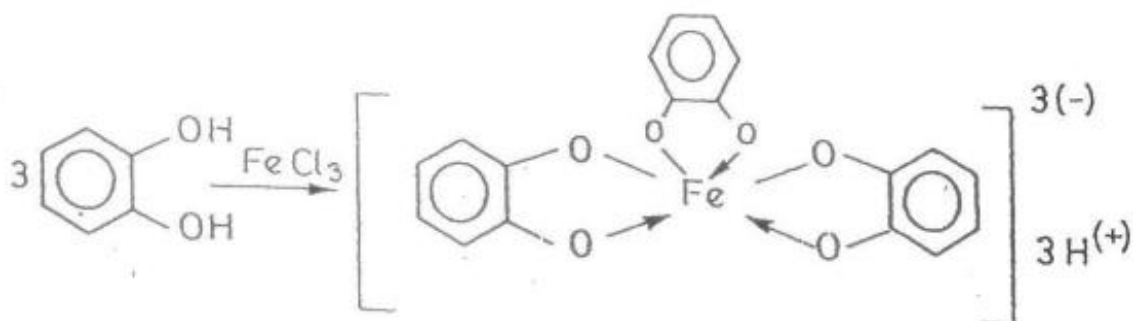
Para os ensaios de identificação das classes das substâncias químicas presentes no extrato obtido utilizou-se a metodologia adaptada de Mouco, Bernardino & Cornélio (2003). Pesou 2g do extrato, adicionou 80 ml de água destilada e aqueceu-se até fervura durante 2 minutos. Em seguida realizou-se uma filtração simples, procurando manter o pó no fundo do recipiente. Repetiu-se esse procedimento por duas vezes. Assim, a partir da solução extrativa foram utilizadas alíquotas para identificação de taninos (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Reação com cloreto férrico

À 2mL da solução extrativa adicionou 5mL de água destilada e uma gota de cloreto férrico 2% (m/v), escorrendo esse último pela parede do tubo. Observou-se a formação de precipitado ou aparecimento de coloração: azul, preta ou verde dependendo do tipo de estrutura química. Adicionou mais 2 a 3 gotas do mesmo reativo para confirmação (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

Neste teste os grupos –OH dos taninos formam um complexo com o ferro (Fe). A reação que ocorre é uma complexação de grupos eletrodoadores -OH na posição orto e íons Fe^{3+} , como mostra a Figura 8. A cor do complexo depende do número e da posição dos grupos fenólicos. Os galotaninos e os elagitaninos (taninos hidrolisáveis ou do tipo pirogalol) dão cor preto-azulada e precipitados, e os taninos condensados ou do tipo catequina dão precipitado marrom-esverdeado.

Figura 8: Reação de complexação dos taninos com o ferro.



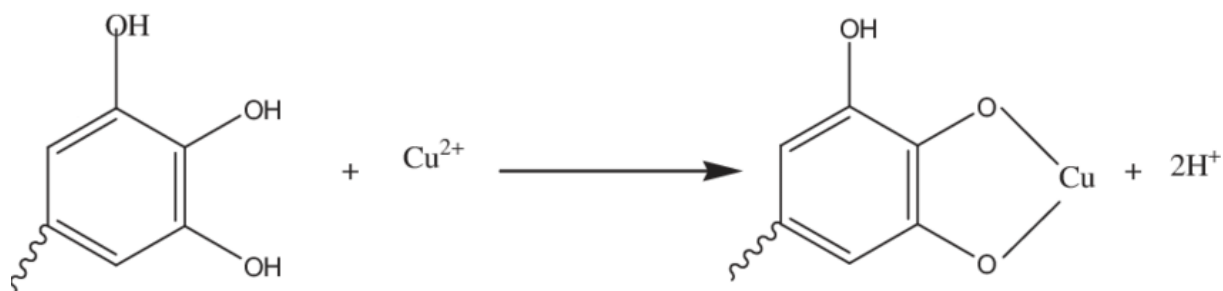
Fonte: https://semmelweis.hu/farmakognozia/files/2017/03/Tannins_2017.pdf.

- Reação com solução de acetato de cobre

Adicionou-se 1mL de solução extrativa em um tubo de ensaio e adicionou-se 5 gotas de acetato de cobre a 5%. Aguardou-se a formação de precipitado castanho avermelhado (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

Os taninos precipitam com metais tóxicos (Cu^{2+} e Pb^{2+}) e a reação de precipitação com esses metais é quase quantitativa, portanto pode ser utilizado para determinação de taninos, como mostra a Figura 9.

Figura 9: Reação entre taninos e íons Cu^{2+}



Fonte: Sarra et al. (2016).

- Reação com acetato de chumbo neutro

Em um tubo de ensaio adicionou-se 1mL da solução extrativa diluída em água na proporção de 1:5. Em seguida adicionou-se 1 a 2 gotas de solução aquosa de acetato de chumbo neutro a 10%. Observou a formação de precipitado castanho volumoso e denso (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Reação com acetato de chumbo e ácido acético glacial

Em um tubo de ensaio adicionou-se 3mL de solução extrativa, adicionou-se 2 mL de ácido acético glacial a 10% e 3mL da solução de acetato de chumbo a 10%. Aguardou-se a formação de um precipitado castanho avermelhado indicando a presença de taninos gálicos. A adição de ácido acético impede a precipitação de taninos catequínicos.

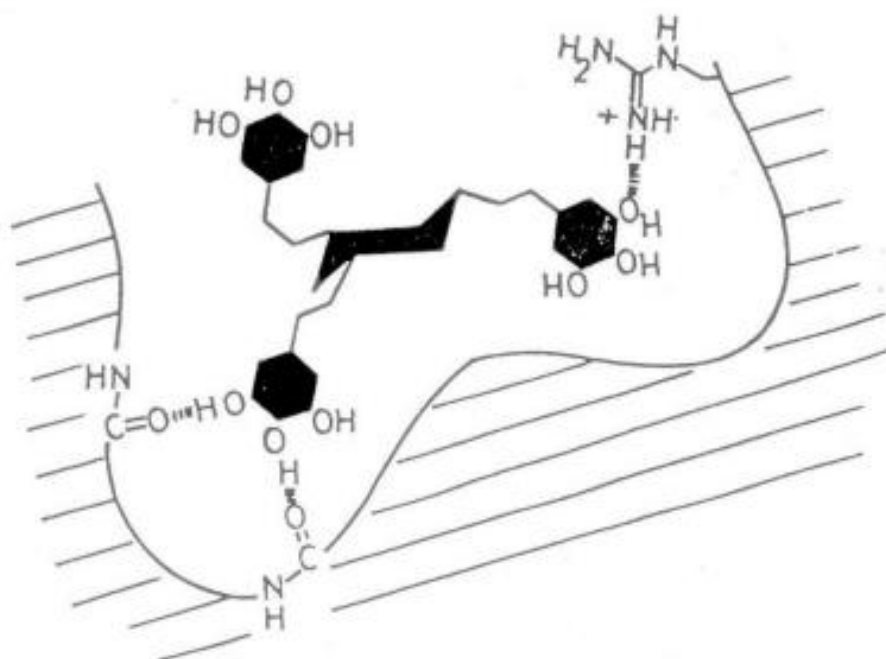
Acrescentou-se ao método um segundo teste como prova comparativa dos primeiros resultados, para isso preparou-se um decocto com tempo de 15 minutos com 5g do extrato e 100mL de água destilada. Em seguida filtrou-se e aguardou-se esfriar. Com essa nova solução extrativa realizou-se os testes para identificação de taninos. Duas técnicas dando positivo confirmam a presença de taninos (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Gelatina

Adicionou-se em um tubo de ensaio 2mL da solução extrativa, 10mL de água destilada e 2 a 4 gotas de ácido clorídrico (HCl) a 4% (v/v) e adicionou solução de gelatina a 2,5% gota a gota. Observou a formação de precipitado, indicando reação positiva (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

Esse teste é efetivo porque os taninos precipitam proteínas através da complexação com as proteínas, como mostra a Figura 10.

Figura 10: Complexação entre taninos e proteínas como a gelatina.



Fonte: https://semmelweis.hu/farmakognozia/files/2017/03/Tannins_2017.pdf.

- Acetato de chumbo

Em um tubo de ensaio adicionou-se 5mL de solução extrativa, 10mL de solução de ácido acético 10% e 5mL de solução de acetato de chumbo 10%. Aguardou-se a formação de precipitado esbranquiçado indicando a presença de taninos hidrolisáveis (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Cloreto férrico em metanol

Colocou 2ml da solução extrativa com 10ml de água destilada e duas a quatro gotas de solução de cloreto férrico (FeCl_3) 1% em metanol. Aguardou coloração azul para taninos hidrolisáveis ou gálicos, verde para condensados ou catéquicos (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Prova em branco e identificação de taninos hidrolisáveis

Para a separação dos taninos hidrolisáveis e condensados utilizou reação com reativo de Stiasny. O reativo foi preparado utilizando 5mL de ácido clorídrico concentrado com 10mL de formol sob refluxo por 20 minutos. Acrescentou ao reativo 25mL da solução extrativa e submeteu a refluxo por 30 minutos. Reservou-se e aguardou-se esfriar. Os taninos condensados formam um precipitado vermelho flobafeno.

Os taninos hidrolisáveis permanecem em solução e podem ser identificados utilizando 10mL da solução extrativa com flobafenos juntamente com 5g de acetato de sódio e 2 a 4 gotas de cloreto férrico 1% em metanol. A reação positiva é indicada pela cor azul (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

4.3.2. Para a identificação de flavonoides presentes nos extratos foi realizado o ensaio:

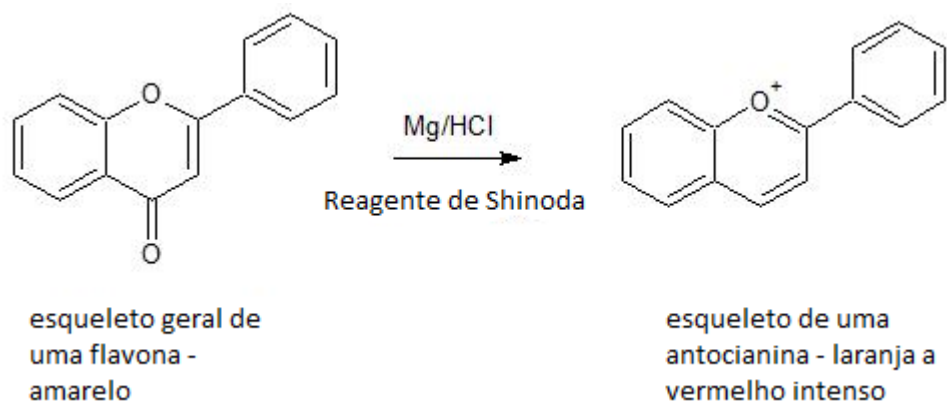
Para extração pesou-se 2g do extrato, adicionou-se 50mL de etanol 75% e ferveu-se em banho-maria por aproximadamente 10 minutos. Em seguida aguardou-se resfriar e filtrou-se por filtração simples (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Reação de Shinoda

Adicionou-se cerca de 5mL do extrato em tubo de ensaio contendo magnésio metálico, acrescentou de 0,5 a 1,0ml de ácido clorídrico. Aguardou-se a mudança de coloração para rósea-avermelhada indicando flavonóis, violeta indicando flavononas

e laranja indicando flavonas (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003). Isso ocorre segundo a reação demonstrada na Figura 11.

Figura 11: Reação de Shinoda



Fonte: <https://chemistry.stackexchange.com/questions/13891/basic-chemistry-of-the-shinoda-test-for-flavonoids>.

4.3.3. Para a identificação de alcaloides presentes nos extratos foram realizados os ensaios:

À 1g de extrato foram adicionados 30mL de HCl 1,5% e aqueceu-se essa solução por 3 minutos. Em seguida filtrou-se a solução em algodão. Alcalinizou-se o filtrado obtido anteriormente com solução de hidróxido de amônio (NH₄OH), até atingir um pH entre 9 e 10 (determinado utilizando papel tornassol). Em seguida, adicionou-se ao filtrado alcalinizado aproximadamente 15mL de clorofórmio (CHCl₃) e agitou-se para os alcaloides presentes passarem para a porção orgânica. Colocou-se 5 gotas de extrato em uma cápsula de porcelana e colocou-se essa em banho-maria até secagem. O resíduo foi dissolvido com solução de ácido clorídrico (HCl) 1,5%. Realizou-se método de identificação com reagente de Dragendorff adicionou-se algumas gotas e observou formação de precipitado (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Teste preliminar

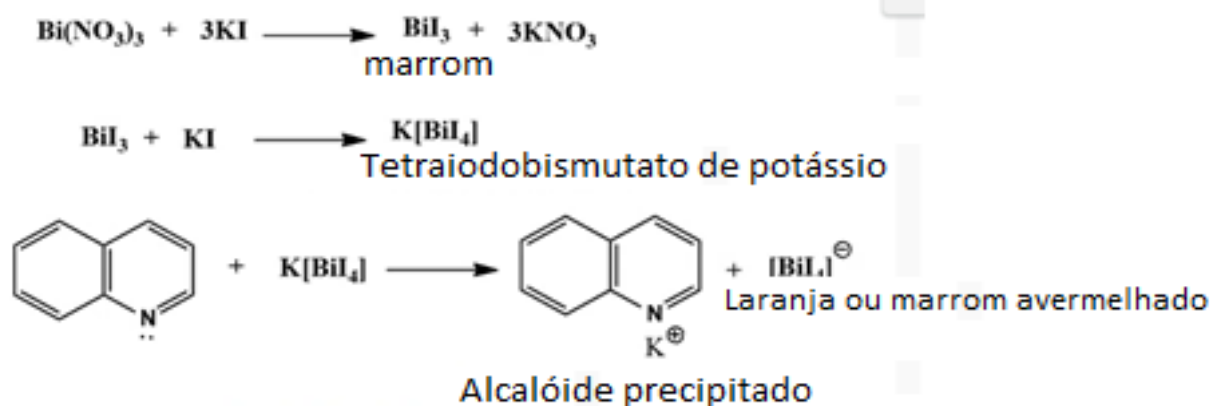
Aqueceu-se até a fervura 5g do extrato com 30ml de HCl 0,2N. Filtrou-se e dividiu-se em dois tubos um para o teste e outro para o branco. Adicionou-se reagente de Dragendorff e observou-se turvação e/ou formação de precipitado (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

- Teste decisivo

Aqueceu-se até a fervura cerca de 5g do extrato em 50mL de HCl 0,2N. Filtrou-se e aguardou-se voltar a temperatura ambiente. Em seguida, alcalinizou-se com hidróxido de amônio até pH 8-9. Transferiu-se o filtrado para um funil de separação e acrescentou-se 50mL de clorofórmio. Agitou-se e separou-se a fração. Colocou 20mL de HCl diluído e agitou-se. Com uma pequena parte da fração acidificada acrescentou 3 gotas do reagente de Dragendorff. Observou a formação de precipitado ou turvação (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

O mecanismo geral de reação envolvido no teste com Reagente de Dragendorff encontrado na literatura está disponível na Figura 12.

Figura 12: Reações que ocorrem nos testes com Reagente de Dragendorff.



Fonte: Adaptado de https://chemistnotes.com/natural/alkaloids-introduction-chemical-test/#google_vignette.

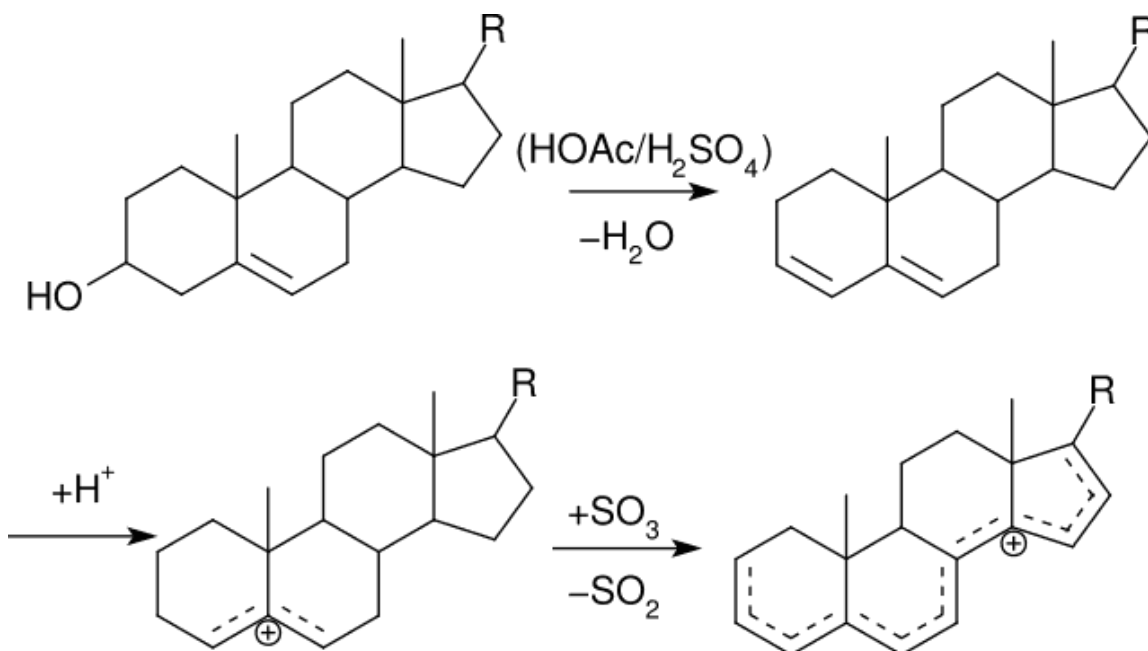
4.3.4. Para a identificação de fenantreno presentes nos extratos foi realizado o ensaio:

- Reação de Libermann - Burchard

Ferveu-se sob refluxo 5g do extrato por 20 minutos com 100ml de etanol a 50%, filtrou-se e repetiu o mesmo processo por mais 2 vezes. Tomou-se o filtrado e adicionou-se 30 ml de água destilada transferindo-se para um funil de separação e extraiu-se com 3 porções de 10mL de Clorofórmio. Não foi agitado para evitar formação de emulsão. Deixou-se em repouso até completa separação de fase. A solução clorofórmica foi adicionada em uma cápsula de porcelana e evaporou-se até resíduo em banho-maria. Adicionou-se então, 1mL de anidrido acético, transferiu-se para um tubo de ensaio e adicionou-se 1mL de ácido sulfúrico concentrado pelas paredes do tubo sem agitar. Observou-se a coloração na zona de contato entre o anidrido acético e o ácido (sem movimentar o tubo). Cores: vermelho, rosa, púrpura ou violeta (MOUCO, BERNARDINO, CORNÉLIO; 2003).

O mecanismo de reação envolvido na reação de Libermann - Burchard pode ser observado na Figura 13.

Figura 13: Mecanismo de reação envolvido na reação de Libermann - Burchard



Fonte: https://www.wikiwand.com/pt/Teste_de_Liebermann-Burchard.

4.4. Bioensaio de crescimento das soluções do extrato em plântulas

Para a realização do bioensaio de crescimento foi utilizada a metodologia modificada de Borella & Pastorini (2010) e Rocha et al (2020). Para isso foram utilizadas mudas de alface (*Lactuca sativa* L. cv. Grand rapidis) obtidas em comércio local e o experimento foi realizado com delineamento experimental em blocos casualizados. As plântulas estavam em unidades experimentais (sementeiras) individuais para cada plântula totalizando uma bandeja de 36 plântulas. Todas as plântulas foram observadas e estavam em excelentes condições. As soluções nas concentrações de 1,3%, 3,44%, 5,11% e 6,1% de extrato foram aplicadas em cada unidade experimental na quantidade de 13 mL, diretamente no solo totalizando sua capacidade de campo. Destaca-se em também foram usados 2 brancos nesse estudo, água e a solução de Tween 80. Todas as soluções e os brancos foram aplicadas em plântulas de alface com tamanho médio de 5,3 centímetros o delineamento foi em blocos casualizados. As plântulas foram observadas até o sexto dia da aplicação e assim foram novamente avaliadas em aspecto e dimensões (ROCHA et al., 2020).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Secagem e umidade

Conforme descrito na seção de metodologia, a umidade foi monitorada com o objetivo de reduzir a interferência deste parâmetro no processo de extração. Considerando a equação 1, foi obtido um valor de umidade de 13,33% com um desvio padrão de 0,0968. De acordo com a literatura, o cálculo de umidade não é obrigatório neste tipo de estudo. Vários autores, por exemplo Santos Neta et al., 2010, não efetuaram esta análise, mas por ser considerado uma variável importante no processo de extração optou-se por se mensurar neste estudo. Após o processo de secagem descrito na metodologia, o material coletado continha diversas partes da planta. A Figura 14 apresenta o material coletado após o processo de secagem.

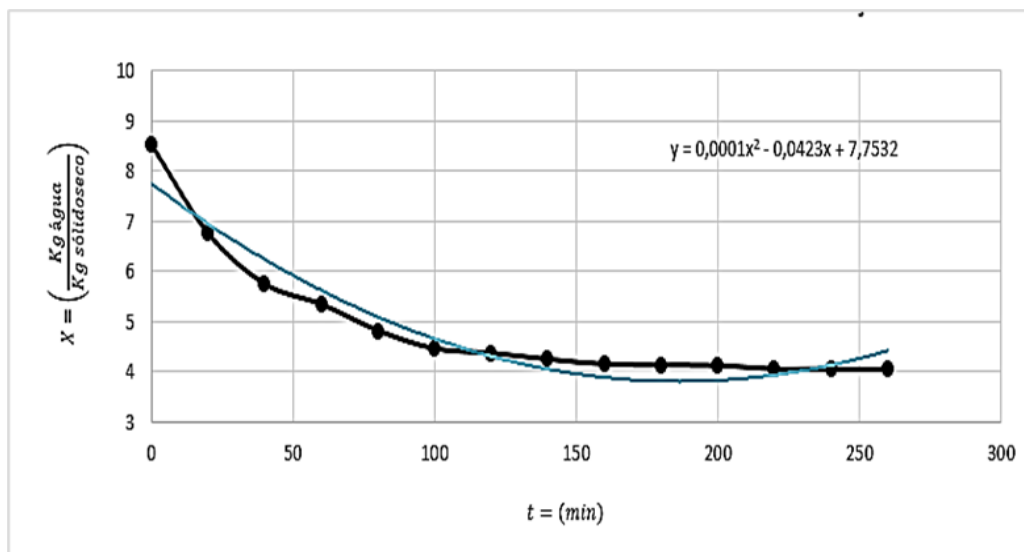
Figura 14: Partes da planta após secagem



Fonte: Da autora, 2023.

O Gráfico da Figura 15 apresenta a variação da umidade durante o processo de secagem. Pode ser observado que o material atinge um valor de umidade constante após aproximadamente 150 minutos de tratamento.

Figura 15: Curva de secagem das partes de Eucalipto



Fonte: Da autora, 2023.

5.2 Extração do eucalipto

Após as extrações realizadas com metanol, etanol e hexano e da reunião de todos os extratos foi calculado o rendimento percentual da extração. O rendimento percentual obtido neste trabalho foi de 50,0280%, ou seja aproximadamente 50%. Como em todos os artigos utilizados neste trabalho os autores não calcularam o rendimento percentual para extração por esse motivo não foi possível fazer uma comparação com os dados da literatura.

5.3 Identificação das classes de substâncias presentes no extrato obtido

O extrato de eucalipto obtido foi analisado de forma qualitativa para identificar as classes de substâncias apresentadas. Os resultados obtidos, que encontram-se sumarizados na Tabela 1, demonstram a presença de grande parte das substâncias analisadas no obtido.

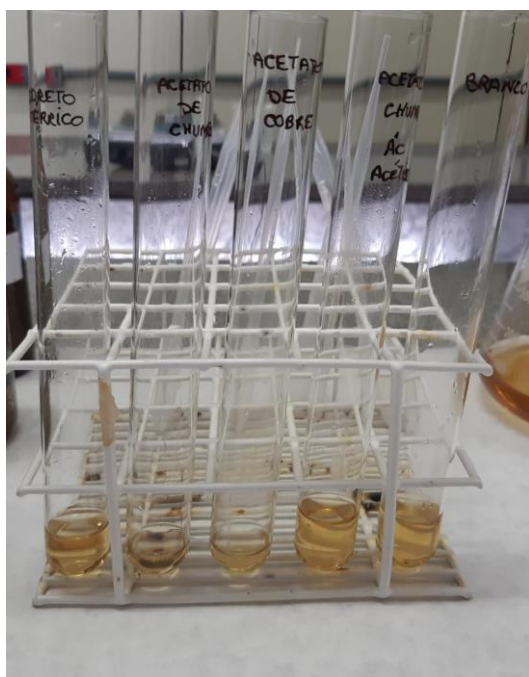
Tabela 1: Resultados dos testes de identificação

Aleloquímico	Quantidade de testes	Resultados positivos (%)
Taninos	7	71,42
Alcaloides	3	100
Flavonoides	1	100
Fenantrenos	1	100

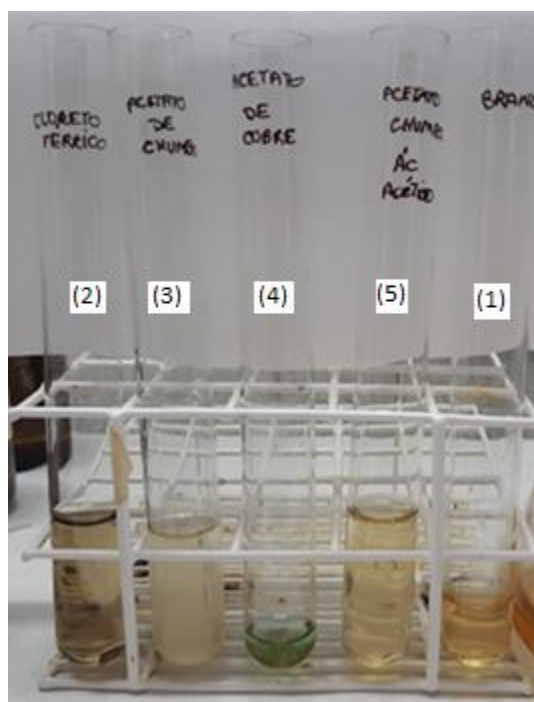
Fonte: Da autora, 2023.

A partir das Figuras 16 e 17 é possível observar que as reações químicas indicam a presença de taninos para a maioria dos testes:

Figura 16: Reações de identificação para taninos – Parte I.



Soluções antes de se iniciar os testes



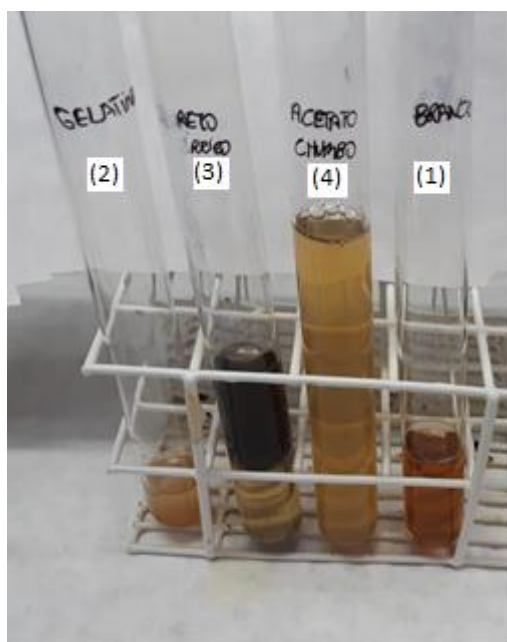
Fonte: Da autora, 2023.

Reação	Resultado esperado
(1) Branco	Solução marrom amarelada
(2) Cloreto férrico	Solução escurecida e com sobrenadante escuro
(3) Acetato de chumbo	Solução turva, porém devido ao reagente
(4) Acetato de cobre	Solução verde
(5) Acetato de chumbo e ácido acético	Solução marrom amarelada

Figura 17: Reações de identificação para taninos – Parte II.



Soluções antes de se iniciar os testes



Fonte: Da autora, 2023.

Reações	Resultados esperados
(1) Branco	Solução marrom
(2) Gelatina	Precipitado alaranjado
(3) Cloreto férrico em metanol	Formação de anel de contato
(4) Acetato de chumbo	Solução turva com presença de sobrenadante

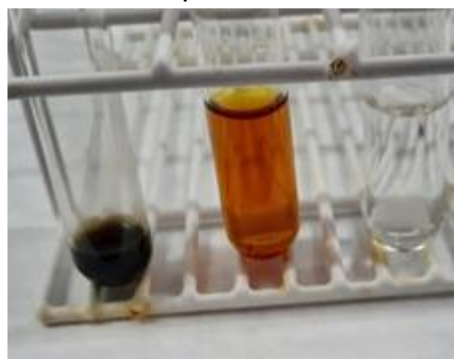
Destaca-se que quaisquer mudanças de cor ou turvação na solução indicam presença de taninos em diversas classes podendo ser gálicos, catequínicos ou condensados. Desta forma, observa-se que as reações com cloreto férrico, acetato de cobre, gelatina, cloreto férrico com metanol e acetato de chumbo foram positivas, mostrando que no extrato há a presença de taninos.

A partir das análises de flavonoides e alcaloides (Figura 18), observa-se também que há a presença destas classes de compostos no extrato obtido. Com relação aos flavonoides o resultado obtido indica a presença de flavonas.

Figura 18: Identificação flavonoides e alcaloides respectivamente



Flavonoides



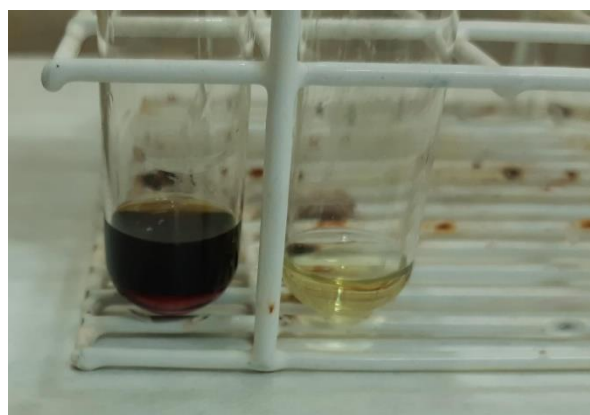
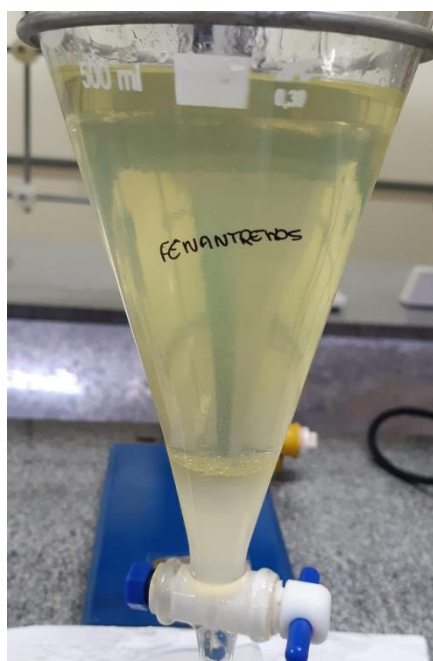
Teste preliminar Alcaloides

	Reação	Resultado obtido
Flavonoides	Reação de Shinoda	Laranja (flavonas)
Alcaloides	Teste preliminar	Formação de anel de contato
	Teste decisivo	Formação de anel de contato

Fonte: Da autora, 2023.

Para a identificação de fenantreno foi feita a reação de Reação de Libermann - Burchard e para a realização dessa reação foi necessário fazer uma partição na qual foram extraídas com clorofórmio 3 porções de 10 mL cada. Mas, destaca-se que na partição não houve agitação demasiada para não haver formação de emulsão. Observou-se a partir dessa análise que a coloração na zona de contato entre o anidrido acético e os ácidos acético e sulfúrico foi diferente, podendo ser violeta, vermelho, rosa ou púrpura, o que indica a presença de fenantreno.

Figura 19: Identificação de fenantreno no extrato obtido.



Fonte: Da autora, 2023.

5.4 Aplicação em plântulas

As soluções preparadas a partir do extrato obtido, cuja preparação está descrita no item 4.2 foram aplicadas em plântulas e as concentrações foram distribuídas em sorteio nos respectivos blocos. Conforme imagem a unidade experimental usada foram sementeiras com capacidade de campo delimitada, conforme mostra a Figura 20.

Figura 20: Bioensaio de crescimento das soluções do extrato em plântulas.

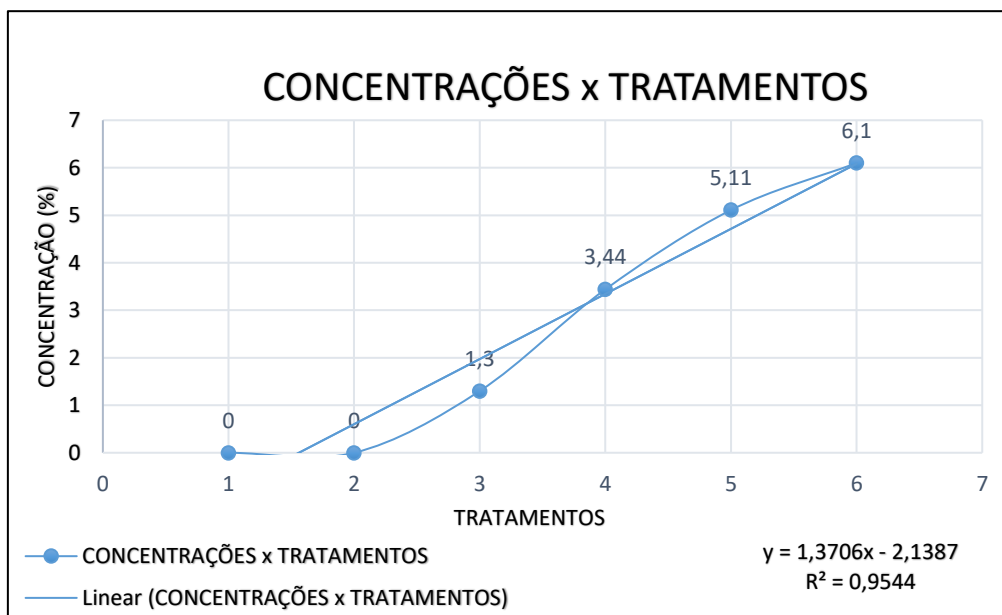


Legenda: As amostras A1 e A2 são respectivamente o branco e a solução de Tween 80 e as amostras A3, A4, A5 e A6 representam as concentrações 1,3%, 3,44%, 5,11% e 6,1% de extrato.

Fonte: Da autora, 2023.

Os tratamentos foram demonstrados em função da concentração como demonstrado no gráfico da Figura 21:

Figura 21: Concentração de soluções do extrato obtido por tratamentos.

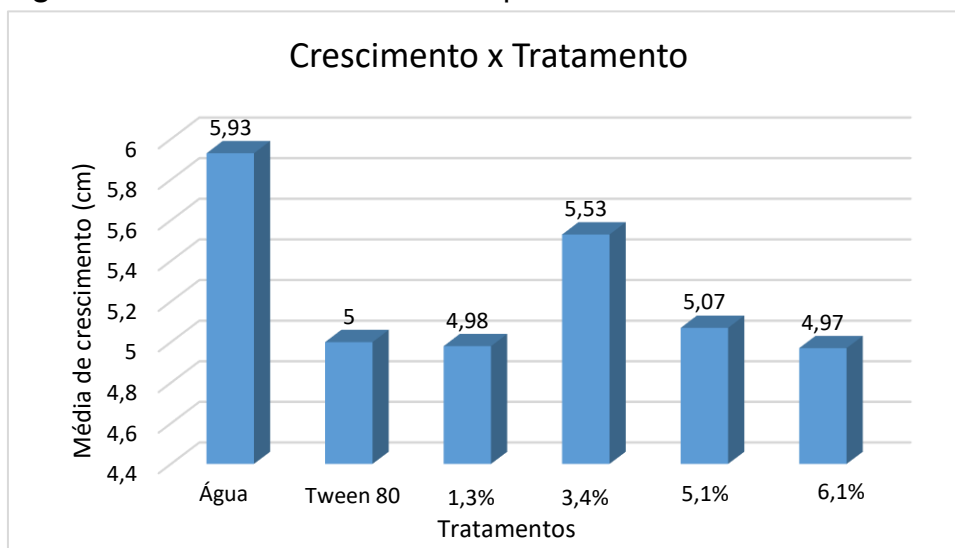


Legenda: As amostras A1 e A2 são respectivamente o branco e a solução de Tween 80 e as amostras A3, A4, A5 e A6 representam as concentrações 1,3%, 3,44%, 5,11% e 6,1% de extrato.

Fonte: Da autora, 2023.

As plântulas foram medidas e observadas em suas partes aéreas conforme tratamentos descritos no gráfico da Figura 22 e para obtenção da análise estatística utilizou ANOVA.

Figura 22: Média de crescimentos por tratamento.



Legenda: As amostras A1 e A2 são respectivamente o branco e a solução de Tween 80 e as amostras A3, A4, A5 e A6 representam as concentrações 1,3%, 3,44%, 5,11% e 6,1% de extrato.

Fonte: Da autora, 2023.

As comparações das medidas no ANOVA e Teste Tukey 5% de significância, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Média de dimensão das plântulas por blocos

Blocos	Média (cm)	Variância (%)
A ₁	5,13	0,039
A ₂	5,35	0,923
A ₃	5,03	0,035
A ₄	5,43	0,527
A ₅	4,98	0,038
A ₆	5,55	0,583

Legenda: As amostras A1 e A2 são respectivamente o branco e a solução de Tween 80 e as amostras A3, A4, A5 e A6 representam as concentrações 1,3%, 3,44%, 5,11% e 6,1% de extrato.

Fonte: Da autora, 2023.

Os resultados foram comparados por Teste Tukey a 5% de significância. As reações de identificação de substâncias alelopáticas demonstram uma grande variedade de substâncias capazes de causar efeitos alelopáticos, esses resultados indicam grande possibilidade de efeitos no teste germinativo no qual se pode esperar a ocorrência desses. De acordo com as médias obtidas e o teste Tukey é possível perceber pequenas diferenças dimensionais nas plantas, sugerindo efeitos das soluções em seu desenvolvimento. Resultados semelhantes foram encontrados por autores como Rocha et al. (2020) e nota-se uma influência dos bioativos nas plântulas em determinados blocos.

Embora mais amostragens sejam necessárias para determinar estatisticamente esses efeitos devido a diferença entre as médias quadradas dos grupos e dos resíduos ter sido muito pequena, valor de 0,039. Sendo assim, há igualdade entre os grupos, esses não diferem entre si, aceitando hipótese de igualdade, $P > 0,05$, não há diferença significativa entre os grupos, grande probabilidade que a diferença entre os grupos seja ao acaso.

Mesmo assim pode-se notar discreta diferença entre os crescimentos, mesmo os blocos sendo homogêneos, sugestivo para mais amostragens e observações

estatísticas. Ainda diante dos valores estatísticos tem-se que os bioativos tiveram influência não significativa entre os blocos o que pode ter sido causado por diversos fatores como: a magnitude do efeito, o tamanho da amostra, e o tipo de teste estatístico utilizado e sua abrangência com relação ao que se pretendeu observar. Sugerindo necessidade de nova abordagem analítica e estatística com relação ao bioensaio de crescimento, obtendo-se novos dados.

Infelizmente por falta de tempo para continuar a investigação não foi possível realizar outros bioensaios, mas poderia ter sido feito bioensaio de crescimento em plântulas de feijão, bioensaio de germinação em sementes de alface, assim como, bioensaio em campo, em plantações de alface e feijão aplicando as soluções de extrato no solo, ou mesmo tendo eucaliptos plantados ao redor das plantações em avaliação.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se, que os bioativos tiveram influência não significativa entre os blocos, sendo que estavam presentes de maneira ativa conforme as reações puderam identificar. Porém, há indicativos sugestivos para maiores experimentos, com aumento de amostras e novo teste estatístico. Notou-se diferenças entre as dimensões das plântulas com relação aos tratamentos, que apesar de pequenas, podem ainda ser amplamente analisadas em maiores experimentos, aumentando assim sua acurácia. Isso traz resultados condizentes para mais pesquisas com essas substâncias e seu possível uso como ativos sustentáveis para manejo em culturas, reforçando uma vertente interessante de estudo e a busca por novas substâncias capazes de controlar infestações, gerando menor impacto ao meio ambiente.

7 REFERÊNCIAS

ADAMOGAMA. <http://adamogama.blogspot.com/2012/01/taninos.html?m=1>>. Acesso em 01/07/2023.

ALVES, C. C.; COELHO, M. K. L.; PEREIRA, A. C. Sensores Eletroquímicos à Base de Diferentes Materiais Voltados para a Determinação de Pesticidas. **Revista Virtual de Química**, n. 6, 2020

ALVES, P. L. **Interações alelopáticas entre plantas**. Jaboticabal: [s.n.], [2014].

AZEVEDO, K. A.; BRAGA, T. V. S.; GOI, S. R. Efeito alelopático de extrato de Eucalyptus Citriodora e Pinus Eliotti sobre a germinação de Lactuca sativa L. (alface). In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007, Caxambu, **Anais**. Caxambu: SOCIEDADE DE ECOLOGIA DO BRASIL, 2007.

BARREIROS, M. R.; LISBOA, F. D.; GOUVEA, C. F., REIS, A. M. F., GODINHO, E. Z., DIAS, K. B. Comportamento químico e físico da madeira natural e termorretrificada de clones de eucalipto. **Ciência Florestal**, Santa Maria, n. 1, 2023.

BATTISTI, C.; GARLET, T. M. B.; ESSI, L.; HORBACH, R. K.; ANDRADE, A.; BADKE, M. R. Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, n. 3, 2013.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos, **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, n.1, 2004.

BEDIN, C.; MENDES, L. C.; TRESSENTE, V. C.; SILVA, J. M. S. Efeito alelopático de extrato de eucalyptus citriodora na germinação de sementes de Tomate (Lycopersicon esculentum M.). **Revista Científica Eletrônica De Agronomia**, Garça, n. 10, 2006.

BEZERRA, J. W. A. Alelopatia do eucalipto e morfologia de plantas: uma abordagem de ensino investigativo para o ensino médio. **Universidade Federal de Pernambuco**. Centro de Biociências Departamento de Botânica. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Recife, 2020.

BITENCOURT, G. A.; GONÇALVES, C. C. M.; ROSA, A. G.; ZANELLA, D. F. P.; MATIAS, R. Fitoquímica e alelopatia da Aroeira -Vermelha (Schinus molle L.) na germinação de Sementes. **Ensaios e Ciência**, v.25, n. 1, 2021.

BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Efeito alelopático de frutos de umbu (Phytolacca dioica L.) sobre a germinação e crescimento inicial de alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, n. 5, 2010.

BRASIL: Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para a Análise de Sementes. **Secretária de Defesa Agropecuária**, Brasília-DF, v. 1, 2009.

BURALLI, R. J. Efeitos à saúde por exposição ambiental e ocupacional aos pesticidas de uso agrícola. **Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2021.

CABRAL, C.; PITA, J. R. Alcalóides relevância na farmácia e no medicamento, ciclo de Exposições: Temas de Saúde, **Farmácia e Sociedade**. [s. l.], 2015.

CÂNDIDO, A. C. S.; SILVA, C. B.; SIMONATTO, E.; BIGATON, D.; SCALON, S. P. Q.; PERES, M. T. L. P. Atividade fitotóxica de *Croton doctoris* S. Moore. **Ciência Rural**, n.4, 2013.

CARMO, F. M. S.; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botânica Brasileira**, Brasília-DF, n. 3, 2007.

CARVALHO, S. I. C.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; ALVARENGA, E. M.; REGAZZI, A. J. Efeitos alelopáticos de *Brachiaria Brizantha* CV. Marandu no estabelecimento de plantas de *Stylosanthes Guianenses* Var. *Vulgaris* e CV. *Bandeirantes*. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, n. 6, 1993.

CASTEJON, F. V. Taninos e Saponinas. In: **Seminários Aplicados do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, 2011.

CASTIANI, R. P. Alelopatia entre as fruteiras nativas para germinação de Araçás amarelo e vermelho. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**., Dois Vizinhos, n. 2, 2021.

CETEP-INPE. <<https://www.cptec.inpe.br/>>. Acesso em 01/07/2023.

CHIOCHETTA, A. G.; TISCHER, J. S. Efeito alelopático e caracterização do extrato aquoso de Azevém (*Lolium multiflorum*) sobre a germinação de sementes de trigo (*Triticum aestivum*). **Anais da Agronomia**, 2022.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; OVEJERO, R. F. L. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In **Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas**. Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR). Cap. 1, 2008.

CREMONEZ, F.E.; CREMONEZ, P. A.; CMARGO, M. P.; FEIDEN, A. Principais plantas com potencial alelopático encontradas nos sistemas agrícolas brasileiros. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.2, 2013.

DAUFENBACK, V.; ADELI, A.; MUSSO, R. M.; FURTADO, A. C. F.; SANTOS, S. A.; VEIGA, D. P. B. Agrotóxicos, desfechos em saúde e agroecologia no Brasil: uma revisão de escopo. **Saúde Debate**., v. 46, 2022.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v.14, n. 3, 2011.

EINHELLIG, F.A. Plant x plant allelopathy: biosynthesis and mechanism of action. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., 1995, Lavras. **Anais**. Lavras: UFLA, 1995.

EIRA, A. F. DA. Influência da cobertura morta na biologia do solo. **Anais**. Curitiba: 1º Seminário sobre Cultivo Mínimo do Solo em Florestas, 1995.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da eco fisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, DF, v. 12 (edição especial), 2000.

FORMAGIO, A. S. N.; MASETTO, E. T.; BALDIVIA, D. S.; VIEIRA, M. C.; ZARATE, N. A. H.; PEREIRA, Z. V. Potencial alelopático de cinco espécies da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, n. 4, 2010.

GERGOLETTI, I. F. Produção de alimentos: uma análise comparativa de cenários na perspectiva de sustentabilidade ambiental. **Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP**, Santa Bárbara d'Oeste, 2008.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, n. 2, 2007.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agros ecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, n.1, 2009.

GHOSH, D. Tannins from Foods to Combat Diseases. *International Journal of Pharma Research & Review*, n.4, p.40-44, 2015.

LIMA, C.; PEREIRA, L. M.; MAPELI, N. C. Potencial alelopático de crotalária, feijão-de-porco e gergelim na germinação e desenvolvimento inicial de picão-preto (*Bidens pilosa*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, n. 2, 2007.

LIMA, W. S. Alelopatia do eucalipto e morfologia de plantas: uma abordagem de ensino investigativo para o ensino médio. **Universidade estadual do piauí centro de ciências da natureza**. Mestrado profissional em ensino de biologia, Piauí, 2020.

MCGRATH, M. T. What are Fungicides The Plant Health Instructor. **Cornell University**, 2004.

MACHADO, R. F.; BARROS, A. C. S. A.; ZIMMER, P. D.; AMARAL, A. S. Reflexos do mecanismo de ação de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes e na atividade enzimática em plântulas de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, n. 3, 2006.

MANO, A. N. R. O. Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (amburana cearensis s.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho. **Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2006.

MARQUES, J. P.; LOPES, G. C. Alcaloides como agentes antitumorais: considerações químicas e biológicas. **Revista UNINGÁ**, Maringá, n.1, 2015.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARAES, T. G. Herbicidas: mecanismo de ação e uso. In: **Embrapa Cerrados**, Planaltina, 2008.

MIRÓ, C. P.; FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia de frutos de Erva-Mate (Ilex Paraguariensis) no desenvolvimento do milho. **Revista Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Brasília, DF, n.8, 1998.

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. M. Família myrtaceae: análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrarian Academy**, Goiânia, n. 1, 2014.

MOUCO, G.; BERNARDINO, M. J.; CORNÉLIO, M. L. Controle de qualidade de ervas medicinais. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 31, 2003.

MOURA, M. A. I. M.; FRANCO, D. A. S.; MATALLO, M. B. Impacto de herbicidas sobre os recursos hídricos. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, n. 1, 2008.

OLIVEIRA, V.B.; ZUCHETTO, M.; OLIVEIRA, C.F.; PAULA, C.S.; DUARTE, A.F.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v.18, n.1, supl. I, p.230-239, 2016.

OLIVEIRA, Y. R.; SILVA, P. H.; ABREU, M. C.; LEAL, C. B.; OLIVEIRA, L. P. Potencial Alelopático de Espécies da Família Fabaceae Lindl. **Ensaios e Ciênc.**, v. 24, n. 1, 2020.

PEREIRA, J. A.; AYOAMA, E. M.; FURIERI, K. S.; TEIXEIRA, M. C. Alelopatia do extrato de eucalipto sobre a germinação de hortaliças. **Health and Biosciences**, v.1, n.3, 2020.

PICCOLO, G.; ROSA, D. M.; MARQUES, D. S.; MAULI, M. M.; FORTES, A. M. T. Efeito alelopático de capim limão e sabugueiro sobre a germinação de guanxuma. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, n. 3, 2007.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In **Biologia e manejo de plantas daninhas**, capítulo 5. Guaíba, 2011.

RICE, E. L. Allelopathy. **Academic Press**, Orlando, 1984. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=uqcH7AOXMCUC&oi=fnd&pg=>

PP1&dq=Allelopathy.&ots=BX8rBkmGSB&sig=rbkzGID7r5QINQBP3d0GFICHUw#v=onepage&q=Allelopathy.&f=false> Acesso em: 08 dez. 2021.

ROCHA, A. M.; LOPES, E. C.; FERNANDES, S. C.; YAMASHITA, O. M.; CRUZ, L. E. B.; CAMPOS, L. M.; KUME, W. T. Alelopatia: feijão-caupi e feijão-mungo-verde interferem na germinação e desenvolvimento inicial de pepino (*Cucumis sativus* L.)?. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 4, 2020.

SANTOS, L. E.; COSTA, E. V.; MARQUES, F. A.; VAZ, P. N.; MAIA, H. L. N. S.; MAGALHÃES, E. G.; et al. Toxicidade e atividade antioxidante de flavonoides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes*. **Química Nova**, Campinas, n. 9, 2009.

SANTOS NETA, S.; GONÇALVES, L. D.; VALLONE, H.; BARBOSA, M. C. S. Potencial alelopático e identificação de compostos secundários em extratos de calopogônio (*calopogonium mucunoides*) utilizando eletroforese capilar. **Eclética Química**, Campinas, n. 2, 2010.

SARRA, B.; ZAZOUA, A.; BRAIEK, M.; JAFFREZIC-RENAULT, N. A new sensitive and selective sensor for heavy metal ions based on tannin extracted from the skin of *Punica granatum* L. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 96, p.1-13, 2016. DOI - 10.1080/03067319.2016.1196682

SBFGNOSIA. < <http://www.sbfgnosia.org.br>>. Acesso em 01/07/2023.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science Technology**, New York, 2001.

SOARES, Z. T.; SILVA, A. B. C.; DIAS, I. P. R. C. Manejo sustentável e potencial econômico da extração da mauritia flexuosa. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 9, 2020.

SILVA, F. C. Extração de taninos da casca de *Pinus oocarpa* Var. *oocarpa* e avaliação de suas propriedades de colagem. **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Seropédica, 2009.

SILVA, M. A. D.; SILVA, J. N.; ALVES, R. M.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S. Alelopatia de espécies da Caatinga. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, 2021.

TOLOZA, A. C.; ZYGADLO, J.; CUETO, G. M.; BIURRUN, F.; ZERBA, E.; PICOLLO, M. I. Fumigant and Repellent Properties of Essential Oils and Component Compounds Against Permethrin-Resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. **Journal of Medical Entomology**, n. 5, 2006.

TOMAZ, M. A.; COSTA, A. V.; RODRIGUES, W. N.; PINHEIRO, P. F.; PARREIRA, L. A.; RINALDO, D. Composição química e atividade alelopática do óleo essencial de eucalipto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, n. 2, 2014.

VELASCO, L. O. M. DE; CAPANEMA, L. X. DE L. O setor de agroquímicos. In: **BNDS Setorial**, 2006.

ZANUNCIO, A. J. V.; COLODETTE, J. L.; GOMES, F. J. B., CARNEIRO, A. C. O., VITAL, B. R. Composição química da madeira de eucalipto com diferentes níveis de desbaste. **Ciência Florestal**, Santa Maria, n. 4, 2013.