

1. INTRODUÇÃO

1.1 A AGRICULTURA BIOLÓGICA E O CONTROLO DE INFESTANTES

As infestantes causam maior prejuízo à agricultura que as pragas e doenças e constituem a maior barreira para a produção de alimentos e desenvolvimento económico de muitas regiões do mundo (Muzik, 1970). Em média, cerca de 20-30% do custo de produção de uma cultura deve-se aos gastos no controlo das plantas infestantes (Lorenzi, 1994). Assim, as perdas com as infestantes podem ter um profundo efeito sobre a economia mundial em termos de redução da produtividade, elevação do custo de produção e a qualidade do produto colhido (Cobb, 1992). Por esse motivo, a descoberta de novas substâncias químicas com actividade herbicida é de fundamental importância para a agricultura mundial. Todavia, é importante que essas novas moléculas apresentem baixa toxicidade para os animais e solo, e curta persistência no ambiente (Cobb, 1992). Quando se consideram os problemas decorrentes dos usos indiscriminados de herbicidas sintéticos (Anaya, 1999; Killham & Foster, 1996) e o aumento sistemático no número de espécies de plantas infestantes resistentes aos atuais produtos no mundo (Vidal & Meroto, 2001; Heap, 1997; Jasieniuk *et al.*, 1996; Christoffoleti *et al.*, 1994; LeBaron, 1991; Holt & LeBaron, 1990), assume aspecto ainda mais relevante a necessidade de colocar à disposição da agricultura, produtos alternativos. O uso abusivo de herbicidas tem sido alvo frequente de críticas de técnicos, investigadores e agricultores preocupados, em particular, com a contaminação da água e do solo e o desenvolvimento de resistência em ervas infestantes. A transição do modelo de agricultura convencional para a agricultura em modo de produção biológico também depende da suspensão ou diminuição do uso de herbicidas

que por sua vez, depende da criação de alternativas para o controle de infestantes.

As plantas, infestantes e cultivadas, são capazes de produzir compostos químicos que podem influenciar o crescimento e a produtividade de plantas vizinhas, designados por aleloquímicos. As plantas têm o seu próprio mecanismo de defesa e os aleloquímicos são, de fato, herbicidas naturais. A alelopatia é o fenómeno que ocorre na natureza com a libertação de substâncias químicas (aleloquímicos) pelas plantas no meio ambiente e que provocam efeitos estimulantes ou inibitórios na germinação, crescimento e desenvolvimento de outras plantas. Estudos desenvolvidos de processos de alelopatia indicam que os aleloquímicos, têm a sua origem em processos do metabolismo secundário. Possuem ação estimulante em baixa concentração e inibitória com o aumento da concentração (Luís Rodrigues, 2008). As substâncias aleloquímicas libertadas no solo são absorvidas pelas raízes e transportadas através do xilema, atingindo pontos de crescimento celular, inibindo-os. Podem igualmente interferir nos processos metabólicos celulares induzindo ao crescimento inicialmente, para inibi-los posteriormente. Além disso, substâncias como os ácidos orgânicos, resultantes da decomposição de resíduos no solo, interferem na absorção de nutrientes retardando o desenvolvimento da planta. Estes herbicidas naturais podem ser mais específicos, com novos modos de ação e de maior potencial que aqueles usados atualmente na agricultura.

O uso de aleloquímicos como herbicidas, naturais ou modificados, é uma das técnicas, envolvendo alelopatia, que têm sido sugeridas para eliminar as plantas infestantes em modo de produção biológico. Nesse contexto, a investigação de propriedades alelopáticas em plantas pode representar uma oportunidade para equacionar esses problemas (Souza Filho *et al.*, 2005).

Os herbicidas aplicados nas superfícies foliares devem penetrar a cutícula e a membrana do citoplasma, antes de atingir o citoplasma e ser posteriormente transportados para o seu local de ação (Holloway & Edgerton, 1992).

A cutícula atua como barreira entre a folha e o ambiente, impedindo a perda excessiva de água pela transpiração celular e protegendo a célula contra o stress biótico e abiótico. A variação na composição química, as características morfológicas e estruturais da cera epicuticular entre espécies de plantas infestantes, associadas às condições ambientais, são fatores determinantes da seletividade e eficácia de herbicidas.

O controlo eficiente de plantas infestantes por herbicidas aplicados à respetiva parte aérea, depende da velocidade de absorção e da sua deslocação nas plantas e é determinado por inúmeros fatores tais como: espécie e estágio de desenvolvimento das plantas infestantes, condições ambientais no momento da aplicação, quantidade aplicada, interação com outros herbicidas e uso de adjuvantes. Os adjuvantes são adicionados à calda de pulverização dos herbicidas com o objetivo de aumentar a eficiência, reduzir o impacto das interferências ambientais e melhorar a sua atividade, devido à propriedade que alguns deles têm de alterar a permeabilidade das membranas (Stougaard, 1997), facilitar o humedecimento em superfícies hidro repelentes, melhorar o contato da calda com a cutícula em superfícies pilosas que tendem a manter as gotas suspensas e finalmente aumentar a penetração.

Este tema é contextualizado na agricultura biológica, na medida em que se trata de um produto natural, que pode ser inibidor do crescimento herbáceo e portanto com potencial biocida e suscetível de ser utilizado, em substituição de outras práticas menos amigas do ambiente. Este produto inovador irá acrescentar valor, como subproduto, à nucicultura nacional, e ao mesmo tempo poderá resolver um problema ambiental – a utilização de resíduos líquidos provenientes do descasque das drupas. As suas áreas prioritárias de intervenção podem estar no âmbito da agricultura, como herbicida, natural,

selectivo, extreme ou auxiliar e com potencial homologação em agricultura biológica. Tem também uma outra utilização positiva na decoração de espaços verdes, como produto adicionado a suportes físicos, como sejam, resíduo sólido florestal ou argila expandida, manifestando-se, obviamente, a sua função de inibição herbácea.

Apontam-se três razões que justificam o aparecimento deste produto num mercado verde:

- A utilização de produtos naturais ou orgânicos como fitofármacos, orientando-se o seu consumo, como uma preocupação ambiental.
- As políticas governamentais direcionam-se para a redução dos pesticidas.
- A necessidade de poupança de água com o conceito de jardim seco.

1.2 A NOGUEIRA (*Juglans regia*)

O nome botânico *Juglans regia* é derivado do Latim *Jovis glans* e que significa “bolota de Jupiter”. Em Portugal, é conhecida por noqueira – comum. Esta árvore é de folha caduca, com casca lisa de cor cinzento-prateado e que se torna fissurada com a idade (Lillo e Cáceres, 2004). As folhas masculinas agrupam-se em amentilhos e as femininas encontram-se reunidas em grupos de 1 a 5 nos ápices dos ramos do mesmo ano. Os frutos (drupas) aparecem em grupos de 1 a 4 sobre o mesmo pedúnculo, são arredondados, glabros, lisos, de cor verde, de 3 a 5 cm de diâmetro (Lillo e Cáceres, 2004). Quando maduros o pericarpo deiscente separa-se da noz – endocarpo + semente, (Rodrigues,2008).

A produção de nucicultura na Europa é 147 096 toneladas (FAO - 2004); em Espanha, estão plantadas 700 000 noqueiras na Galiza, Andaluzia, Castille-La

Mancha e Castille-Léon, Estremadura, Valença e Catalogne (Aletà & Ninot, 1992).

Em Portugal estavam 400 000 árvores recenseadas no Centro e em Trás-os-Montes (Gomes Pereira, 1990). Entre 1986 e 1998, verificou-se em Portugal Continental um incremento nas plantações de noqueira, tendo a superfície passado de 1400 para 2143 hectares. O maior investimento nas plantações ocorreu no ano de 1999, com a área a atingir os 3063 hectares. Em 2005, a área de noqueiras totalizava 3167 hectares, com uma produção associada de 4167 toneladas e uma produtividade média de cerca de 1,3 toneladas por hectare (gpp/diagnósticos/subfileiras/Noz2007).

Em Portugal, esta cultura encontra-se como árvore dispersa um pouco por todo o país. Os pomares ordenados assumem maior importância nas regiões de Trás-os-Montes (Bragança e Mirandela), Beira Litoral (Condeixa e Penela), Alentejo (Estremoz, Arraiolos, Portalegre, Castelo de Vide e Marvão) e Ribatejo e Oeste (gpp / diagnósticos / subfileiras /Noz2007).

A área atual de cultura em Portugal é de 3155 hectares e a produção é superior a 4500 toneladas anuais. É no Alentejo, em particular nos concelhos de Estremoz e Arraiolos, que se obtêm as maiores produtividades do país, devido à natureza dos pomares, na sua maioria bem implantados e com técnicas de condução bem adequadas.

Cada árvore deve dispor de uma superfície mínima de 80 m², a partir do décimo quinto ano, inclusive, depois do ano de plantação, o que corresponde, no máximo, a 125 árvores/ha. A distância mínima entre as árvores deve ser, pelo menos, igual a sete metros. O rendimento médio dos pomares de exploração é limitado a quatro toneladas por hectare, segundo informações recolhidas no Instituto de Recursos Biológicos em Alcobaça.

A noqueira (*Juglans regia* L.) teve a sua origem no Sudoeste Asiático e Mediterrâneo Oriental e foi introduzida na Europa pelos Romanos. Hoje em dia, a nível mundial, os maiores produtores de noz são a China, Índia, Turquia, Irão, EUA, Itália e França (gpp/diagnósticos/subfileiras/noz2007).

A noqueira apresenta diversas variedades cultivadas, que geralmente se reproduzem por enxertia, tais como a Franquette, Hartley, Mayette, Chandler, Lara, Frenor e Howard. Existem apenas duas variedades portuguesas a Arco e a sua polinizadora Rego. O fruto da noqueira, que é uma drupa, possui uma casca designada por epicarpo, o mesocarpo - onde está a maior percentagem dos constituintes químicos a estudar neste trabalho e, por fim, o endocarpo que é a semente, rija, enrugada e dividida incompletamente em dois ou quatro partes - gomos.

Um dos principais compostos presentes na casca verde da noz, é a juglona, que é um pigmento natural do tipo das quinonas. É um composto hidroxi-naftoquinina (Figura 1) proveniente também das folhas, sementes e caules das árvores *Juglans nigra* L, *Juglans regia* L. e *Juglans cinérea* L (Kiran Aithal et al , 2009).

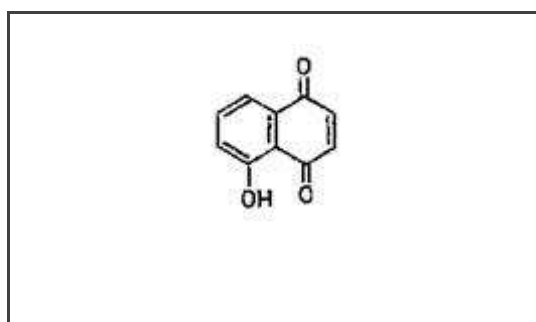


Figura1. Estrutura química da juglona
Fonte: Química orgânica – Fundação Calouste Gulbenkian

Como características físico-químicas, este produto poderá ser um herbicida natural “com dupla ação” de pré e pós-emergência das infestantes, com características de um produto de ação residual e de contacto. Em estudos

efetuados por diversos autores, foi verificado o efeito como herbicida deste composto químico: redução da taxa fotossintética, da respiração e da transpiração nas plantas de milho e soja (José & Gillespie 1998); inibição da fotossíntese e da atividade respiratória por quinonas, ácidos vanílico, ferulico, cumárico e cafeico (González-Bernardo *et al.*, 2003; Jose & Gillespie, 1998; Hejl *et al.*, 1993; Rizvi & Rizvi 1992); inibição do crescimento, diminuição do teor de clorofila e perturbações a nível do cloroplasto e da função mitocondrial (Hejl *et al.*, 1993), apresentando como sintomas mais comuns de toxicidade o amarelecimento foliar, emurchecimento e eventual morte (Bertin *et al.*, 2003; Funt e Martin, 1999; WVU, 1999).

A juglona caracteriza-se pela sua baixa solubilidade em água que dificulta a sua deslocação em profundidade e portanto a sua contaminação nos lençóis freáticos. A sua solubilidade em água que é regulada pela temperatura – quanto mais alta for, menor a sua solubilidade em água - será a principal responsável pela degradação da juglona no ambiente.

Os químicos alelopáticos mais úteis ou potencialmente úteis na agricultura, nomeadamente como herbicidas, incluem os flavonóides (tricina, canferol e quercetina), os poliacetilenos, as quinonas (juglona, sorgolona e lausona), os terpenos (mono e sesquiterpenos) (Putnam, 1998 in Kebede, 1994), e as lactonas (Kohli *et al.*, 2006). As quinonas, tais como a juglona e a lausona, estão entre os compostos fenólicos mais fitotóxicos (Spencer *et al.*, 1986 in Kebede, 1994). A juglona parece constituir um inibidor irreversível e altamente seletivo (Chao *et al.*, 2001; Henning *et al.*, 1998;). A toxicidade final é particularmente influenciada pela fotocatalise, uma vez que a exposição de extratos ao oxigénio e à luz aumenta os seus efeitos inibitórios (Willis, 2000 in Bertin *et al.*, 2003). A toxicidade pela juglona permanece por vários anos

mesmo após a remoção das nogueiras, uma vez que as raízes mortas ainda continuam a libertar esta quinona (Funt e Martin, 1999; WVU, 1999).

Os frutos (drupas) aparecem em grupos de 1 a 4 sobre o mesmo pedúnculo, são arredondados, glabros, lisos, de cor verde, de 3 a 5 cm de diâmetro (Lillo e Cáceres, 2004). Quando maduros o pericarpo deiscente separa-se da noz (endocarpo + semente) (Figura 2).

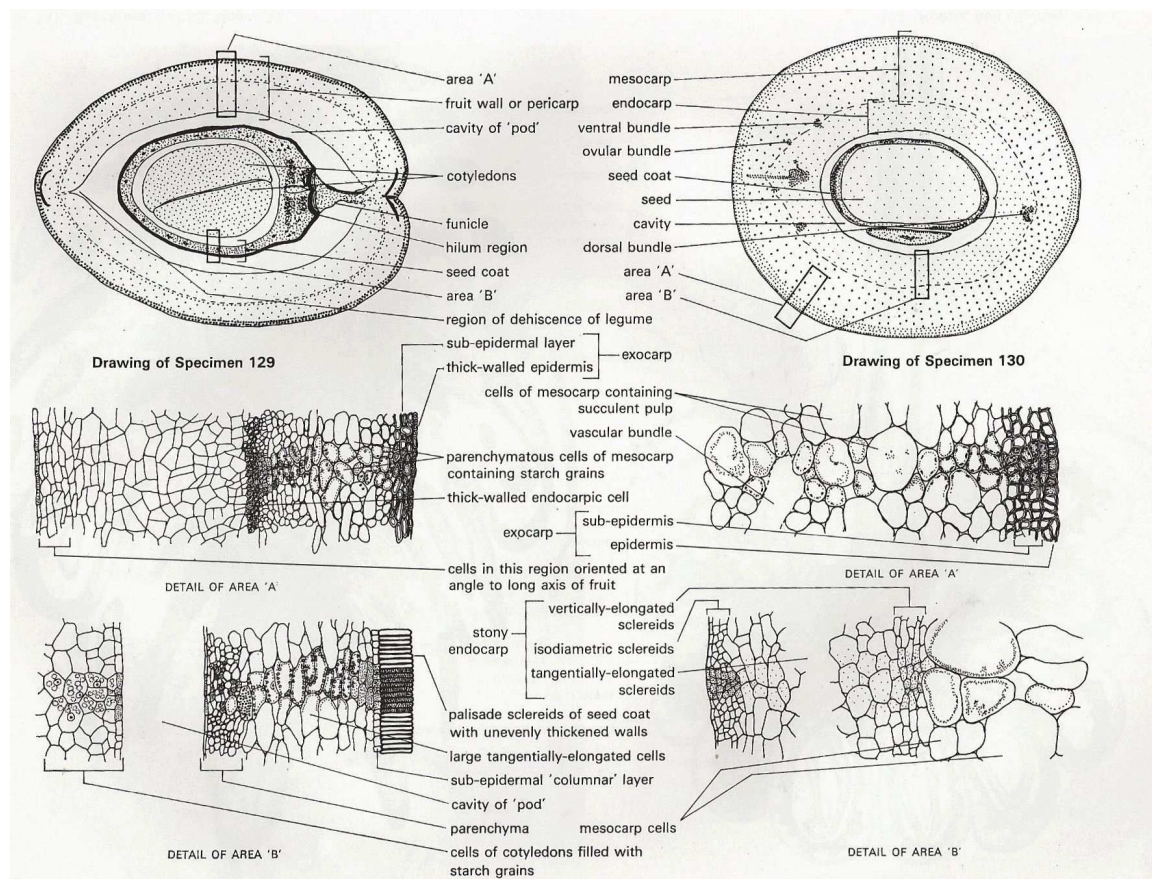


Figura 2. Organização dos tecidos e das células de uma drupa.

Fonte: *An Atlas of Plant Structure – volume 2*

1.3 OBJETIVOS

A constatação de fruticultores de pomares de nogueiras – nucicultores, que verificaram o aparecimento de necroses na cobertura herbácea dos pomares, foi a razão da escolha do produto residual proveniente da colheita e descasque da drupa - fruto verde da nogueira, para testar a sua eficiência como herbicida natural.

Constituem objetivos deste trabalho, a obtenção e quantificação de componentes da drupa da nogueira (*Juglans regia L*) com potencial efeito biocida e o estudo desse efeito quer no crescimento vegetal quer na germinação de sementes.

A primeira fase do trabalho consistiu nos procedimentos necessários à obtenção, identificação e quantificação do composto com efeito biocida presente na drupa. Na segunda fase do trabalho procedeu-se à execução de ensaios de campo e *in vitro* no sentido de evidenciar o referido efeito biocida.