

ÂNGELA PAWLOWSKI

Potencial Alelopático Dos Voláteis De *Schinus lentiscifolius* March.

Regras de Publicação seguidas de acordo com a Revista Brasileira de Botânica

PORTO ALEGRE, 2009

Potencial Alelopático Dos Voláteis De *Schinus lentiscifolius* March.

ÂNGELA PAWLOWSKI¹, JORGE ABEL RINGUELET² & GERALDO LUIZ GONÇALVES
SOARES¹

ABSTRACT – (Allelopathic Potential of Volatiles From *Schinus lentiscifolius* March.). Among the different classes of secondary metabolites of plants, terpenoids, substances presents in volatile oils, are involved in a variety of ecological interactions, acting as potent inhibitors of germination and plant growth. In this study we observed the phytotoxic activity of the volatile oil from *Schinus lentiscifolius* in the germination of lettuce and red clover. More significant effect was observed on the initial growth of onion seedlings. The results show the phytotoxicity of the essential oil of *S. lentiscifolius* and suggest that these volatile substances can play an important role in the interactions between this plants and the associated plants, exhibiting allelopathic effects.

Key words: allelopathy, phytotoxicity, *Schinus*, volatile oil

RESUMO – (Potencial Alelopático Dos Voláteis De *Schinus lentiscifolius* March.). Entre as diferentes classes de metabólitos secundários das plantas, os terpenóides, substâncias constituintes dos óleos voláteis, estão envolvidos em uma variedade de interações ecológicas, atuando como potentes inibidores da germinação e crescimento de plantas. Neste estudo observou-se a atividade fitotóxica do óleo volátil de *Schinus lentiscifolius* sobre a germinação da alface e do trevo vermelho. Efeito mais expressivo foi observado sobre o crescimento inicial de plântulas de cebola. Os resultados demonstram a atividade fitotóxica do óleo essencial de *S. lentiscifolius* e sugere que tais substâncias voláteis possam desempenhar papel importante nas interações dessas plantas com a biota associada, exibindo inclusive efeitos alelopáticos.

Palavras-chave: alelopatia, fitotoxidez, óleo volátil, *Schinus*

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.432, sala 218, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil. pawlowski_angela@yahoo.com.br

2. Catedra de Bioquímica y Fitoquímica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

Introdução

As plantas sintetizam uma série de substâncias químicas que estão envolvidas em diversas interações entre plantas e entre estas e a biota associada. Tais substâncias, conhecidas como aleloquímicos, apresentam uma grande diversidade estrutural e funcional (Singh *et al.*, 2006) e são produzidas em diversas rotas metabólicas que compõem o metabolismo secundário.

O termo alelopatia foi definido por Rice (1984) como “a ciência que estuda processos nos quais os metabólitos secundários de plantas e microorganismos estão envolvidos, afetando o crescimento e o desenvolvimento de sistemas biológicos”. Tais substâncias químicas produzidas pelas plantas são lançadas no ambiente, seja na fase aquosa no solo ou substrato, seja por substâncias voláteis que se dispersam na atmosfera que cerca as plantas terrestres.

Entre as diferentes classes de metabólitos secundários das plantas, os terpenóides, substâncias constituintes dos óleos voláteis, estão envolvidos em uma variedade de interações ecológicas, atuando como potentes inibidores da germinação e crescimento de plantas (Simões & Spitzer, 2007).

Os produtos do metabolismo secundário, embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema. Nesse sentido, a atividade alelopática pode resultar em alterações na composição florística de uma comunidade vegetal e na dominância de uma em detrimento de outras espécies vegetais. Ainda não está claro em que medida a alelopatia influencia tais processos, uma vez que outros mecanismos de interferência (como a competição por recursos) podem operar simultaneamente. Entretanto, a competição não pode ser considerada como o único fator atuante na distribuição espacial das plantas, sendo importante buscar determinar se a alelopatia apresenta um papel relevante em cada distribuição junto com a competição (Santos, 2007; Ferreira, 2004; Ferreira & Áquila, 2000).

Deste modo, este trabalho teve como objetivo verificar o potencial alelopático de *Schinus molle* L. através da avaliação do efeito do seu óleo volátil sobre a germinação e sobre o

desenvolvimento inicial de espécies vegetais tradicionalmente utilizadas em estudos alelopáticos (*Allium cepa* L., *Lactuca sativa* L.) e uma espécie comum em pastagens naturais (*Trifolium pratense* L.).

Material e métodos

Folhas de *Schinus lentiscifolius* (aroeira-cinzenta) foram coletadas no Jardín Botánico y Arboretum “C. Spegazzini”, La Plata – Província de Buenos Aires – Argentina, depositada sob número 273 no Herbário da Faculdade de Agronomia de La Plata (LPAF).

Os diásporos das espécies utilizadas nos ensaios de germinação foram obtidos no comércio (*Lactuca sativa* – alface; e *Allium cepa* – cebola) ou no Departamento de Fisiologia Vegetal – Universidad Nacional de La Plata (*Trifolium pratense* – trevo vermelho). *Lactuca sativa* e *A. cepa* foram escolhidas por serem espécies modelo em testes de germinação; *T. pratense*, por ser uma espécie forrageira comum no sul do continente americano.

O óleo essencial foi obtido através da hidrodestilação das folhas de *S. lentiscifolius* em aparelho do tipo Clevenger (Gottlieb & Taveira-Magalhães, 1960), dessecado com Na₂SO₄ e acondicionado em tubo hermético, envolto em papel alumínio e armazenado em freezer até a execução dos experimentos.

Utilizou-se um modelo totalmente aleatório para os ensaios de germinação, no qual 50 diásporos foram distribuídos em placas de Petri sobre papel filtro umedecido com 5 mL de água destilada. O óleo (0,1 mL) foi aplicado sobre algodão fixado na tampa da placa de Petri com fita dupla-face, evitando dessa forma o contato direto do óleo com os diásporos, criando uma atmosfera saturada pelos voláteis. Água destilada foi usada como controle e cada tratamento foi realizado em quatro repetições. Os testes de germinação foram realizados em sala de cultivo sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 16 horas.

Após o início da protusão das raízes, foi feita a contagem do número de diásporos germinados. A avaliação do efeito dos tratamentos sobre a velocidade de germinação foi realizada

através da contagem periódica do número de diásporos germinados, o que foi avaliado a cada 12 horas quando a semente alvo testada foi a alface, e 24 horas, no caso da cebola e do trevo. O índice de velocidade de germinação (IVG) é calculado a partir da seguinte fórmula: $IVG = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} + \dots + \frac{Gn}{Nn}$, onde G = número de diásporos germinados; N = número de dias ou horas após a semeadura (Borghetti & Ferreira, 2004).

Para a avaliação do crescimento foram realizadas três abordagens diferentes quanto ao período de exposição das espécies alvo aos voláteis (figura 1):

- tratamento 1: as espécies alvo foram expostas ao óleo durante o período de germinação. Após a protusão da radícula, tais plântulas foram transferidas para outra placa de Petri, a fim de crescerem apenas na presença de água destilada.
- tratamento 2: as espécies alvo foram previamente germinadas em água destilada e, após a protusão da radícula, estas foram expostas aos voláteis, durante o período de crescimento.
- tratamento 3: as espécies alvo foram expostas ao óleo durante o período de germinação e nestas placas permaneceram até o fim do experimento.

Após 72 horas, foi realizada a medida do comprimento do hipocótilo e da raiz primária das plântulas obtidas.

Os dados obtidos para os experimentos de germinação foram submetidos à análise estatística por teste t, e os de crescimento por ANOVA seguido de Tukey, com nível de significância de 0,05.

Resultados

O óleo essencial de *Schinus lentiscifolius* causou forte inibição sobre a porcentagem final de germinação da alface e do trevo (figura 2). A espécie mais sensível ao óleo foi o trevo, que teve a germinação reduzida 40,56% comparado com o seu controle. A cebola foi a menos sensível, não apresentando diferença estatística na germinação entre o grupo controle e o tratamento com o óleo.

Comparados com seus respectivos controles, a velocidade de germinação da alface e a do trevo também foram afetadas (tabela 1). O índice de velocidade de germinação (IVG) da alface

reduziu em 68,22%; a redução do trevo foi pouco menos expressiva, sendo esta de 54,97%. Quanto ao IVG, novamente a cebola não apresentou diferença significativa.

Efeito também foi verificado sobre o crescimento do hipocótilo e o da raiz primária das plântulas expostas ao óleo volátil da aroeira-cinzenta (figura 3). Todos os tratamentos (à exceção do trevo germinado na presença do óleo e crescido sem o mesmo – tratamento 1) apresentaram reduções médias acima de 40% no comprimento do hipocótilo, quando comparados com os seus controles. O efeito mais pronunciado foi verificado sobre o crescimento do hipocótilo da cebola germinada e crescida na presença do óleo (tratamento 3), cuja redução média foi de 70,79%.

Quanto ao crescimento da raiz primária, novamente o efeito mais pronunciado foi observado sobre a cebola (tratamento 3), que apresentou uma redução média de 70,81%. O trevo foi a única espécie que, quando germinada na presença do óleo e transferida para água destilada para crescer, manteve o comprimento da raiz primária igual ao do seu controle, apesar de observada uma pequena redução no comprimento do hipocótilo (27,78%).

De um modo geral, conforme aumentou o tempo de exposição das espécies alvo ao óleo, também aumentou o efeito inibitório sobre o crescimento do hipocótilo e da raiz primária. Entretanto, efeito diferente foi observado para o comprimento da raiz primária da alface, o qual apresentou uma redução média maior quando exposta ao óleo no período de germinação e não no período de crescimento (tratamento 1) do que quando exposta apenas no período de crescimento (tratamento 2) ou quando continuamente exposta ao óleo (tratamento 3). O investimento médio em raiz primária na alface foi de 15,82% no tratamento 2 e 32,28% no tratamento 3.

Discussão

Nos estudos envolvendo fitotoxidez, o efeito de uma substância muitas vezes não é verificado diretamente sobre a germinabilidade (percentual final de germinação no tempo), mas sobre outro parâmetro do processo, como a velocidade de germinação ou o crescimento da plântula (Ferreira & Áquila, 2000), o que corrobora os resultados obtidos no presente estudo.

Era esperado que, conforme aumentasse o tempo de exposição das espécies alvo ao óleo (apenas na germinação, apenas no crescimento ou desde a germinação até o crescimento), também aumentasse o efeito inibitório sobre o crescimento do hipocótilo e da raiz primária. Entretanto, cada espécie pode responder de maneira diferente a um mesmo estímulo. É conhecido que as plantas apresentam um elevado investimento em raízes em resposta a determinados tipos de estresse, como o fazem frente ao estresse hídrico (Taiz & Zeiger, 2004) ou ao luminoso (Ramos *et al.*, 2004). Poderia considerar-se que, neste caso, a alface estaria apresentando um investimento na formação de raiz como resposta ao volátil, servindo como um dreno para a atividade fotossintética. No ambiente, investir no crescimento de raízes e reduzir a parte aérea poderia ser considerada uma estratégia interessante uma vez que a parte aérea é a parte da planta que primeiro entra em contato com o volátil, enquanto que a raiz estaria menos exposta ao mesmo. O maior comprimento da raiz primária de alface verificado no tratamento 3 pode ter ocorrido devido ao tempo de exposição. No decorrer do experimento, os voláteis tornam-se menos saturados na placa. Um efeito diferente poderia ser observado se o óleo fosse reaplicado no tratamento 3 em um momento posterior a protusão da raiz, mantendo-se a placa saturada pelos voláteis.

Diversos estudos têm demonstrado a atividade biológica dos terpenóides voláteis, merecendo destaque os estudos com o α -pineno, um dos monoterpenos amplamente encontrado em plantas. *Schinus molle* e *S. terebinthifolius* são duas espécies que apresentam o α -pineno na composição dos seus óleos essenciais (Pawlowski & Soares, dados não publicados). Nishida *et al.* (2005) relata os efeitos dos monoterpenóides presentes no óleo de *Salvia leucophylla* (entre eles α -pineno, β -pineno e canfeno, além de cânfora e 1,8-cineoleno) sobre a germinação e o crescimento de *Brassica campestris*. Nesse mesmo trabalho, os autores mostram que o efeito inibitório observado foi mais intenso sobre o crescimento da raiz primária que do hipocótilo das plântulas obtidas, influenciando de forma pouco pronunciada também a germinação da semente.

No presente estudo, os efeitos inibitórios dos voláteis de *S. lentiscifolius* sobre a germinação foram bastante expressivos. As alterações verificadas no processo de germinação podem resultar de

efeitos sobre a permeabilidade das membranas, os processos de transcrição e tradução, a conformação de enzimas, a atividade de fitormônios e receptores, ou pela combinação destes fatores (Ferreira & Áquila, 2000).

Quanto ao crescimento inicial da plântula, além dos fatores citados, os resultados observados podem também estar relacionados com a atividade dos voláteis sobre o processo de divisão celular dos meristemas, reduzindo o índice mitótico. Alguns estudos têm demonstrado que terpenos voláteis atuam sobre o crescimento da raiz de espécies vegetais. Singh *et al.* (2006) cita que substâncias como o α -pineno, 1,8-cineoleno e citronelal atuam inibindo a atividade mitótica de raízes de cebola.

O fato dos óleos essenciais e dos terpenos neles presentes serem voláteis tem implicações para seu eventual mecanismo de ação em condições naturais. Tal mecanismo poderia ser utilizado a fim de explorar os óleos essenciais como agentes de controle das ervas daninhas. Recentemente, a alelopatia vem ganhando atenção de cientistas interessados em melhorar a produtividade das culturas e a proteção do ambiente através do controle de plantas daninhas, pragas, doenças, conservação do nitrogênio no solo e da síntese de agroquímicos baseados em produtos naturais (Chron *et al.*, 2005).

S. molle e *S. terebinthifolius* são amplamente utilizadas como ornamentais, e esse fato influenciou o cultivo de tais espécies tanto dentro quanto fora de sua área de ocorrência natural. Como consequência, tais espécies passaram a ser consideradas invasoras agressivas, sendo encontradas em comunidades perturbadas, alterando de maneira danosa a estrutura de comunidades naturais, interferindo sobre o desenvolvimento das espécies nativas, gerando um impacto ambiental considerável (Iponga *et al.*, 2008; Morgan & Overholt, 2005). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, é possível que as substâncias voláteis presentes no óleo de *S. lentiscifolius* desempenhem papel importante nas interações dessas plantas com a biota associada, exibindo inclusive efeitos alelopáticos.

Estudos como o presente podem contribuir para um maior entendimento a respeito do modo de ação dos produtos do metabolismo secundário e como estes podem estar relacionados com a capacidade competitiva das espécies frente a outras espécies vegetais.

O presente trabalho mostra, pela primeira vez, a atividade fitotóxica do óleo volátil de *Schinus lentiscifolius* sobre a germinação e o crescimento de plantas. Tais efeitos provocados pelo óleo são manifestações secundárias de efeitos ocorridos a nível molecular e celular. Demais estudos se fazem necessários para uma melhor compreensão dos processos bioquímicos e citológicos que possam estar relacionados com os efeitos observados.

Agradecimentos - Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor. Ao Prof. Dr. Pedro A. Balatti do Instituto de Fisiologia Vegetal – UNLP, pela disponibilização de material para a execução dos experimentos. À Cátedra de Bioquímica y Fitoquímica – UNLP, pelo apoio no trabalho realizado.

Referências bibliográficas

- BORGHETTI, F. & FERREIRA, A.G. 2004. Interpretação de resultados de germinação. *In* Germinação: do básico ao aplicado (A.G. Ferreira & F. Borghetti, orgs.). Artmed, Porto Alegre, p. 209-222.
- CHRON, S.U.; JANG, H.G., KIM., D.K., KIM, Y.M.; BOO, H.O. & KIM, Y.J. 2005. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Scientia Horticulturae* 106: 309-317.
- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M. & LEWIS, N.G. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). *In* Biochemistry & Molecular Biology of Plants (B. Buchanan, W. Gruissem & R. Jones, eds.). American Society of Plants Physiologists, Rockville, p. 1250-1318.
- FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 175-204.

- FERREIRA, A.G. 2004. Interferência: competição e alelopatia. *In* Germinação: do básico ao aplicado (A.G. Ferreira & F. Borghetti, orgs.). Artmed, Porto Alegre, p. 251-262.
- GOTTLIEB, O. R. & TAVEIRA-MAGALHÃES, M. 1960. Modified distillation trap. *Chemist-Analyst* 49: 14-115.
- IPONGA, D.M.; MILTON, S.J. & RICHARDSON, D.M. 2008. Superiority in competition for light: a crucial attribute defining the impact of the invasive alien tree *Schinus molle* (Anacardiaceae) in South African savanna. *Journal of Arid Environments* 72: 612-623.
- MORGAN, E.C. & OVERHOLT, W.A. 2005. Potential allelopathic effects of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae) aqueous extract on germination and growth of selected Florida native plants. *Journal of the Torrey Botanical Society* 132: 11-15.
- NISHIDA, N.; TAMOTSU, S.; NAGATA, N.; SAITO, C. & SAKAI, A. 2005. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 31: 1187-1203.
- RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; FAGG, C.W.; SOUSA-SILVA, J.C. & FRANCO, A.C. 2004. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. *Acta Botanica Brasilica* 18: 351-358.
- RICE, E.L. 1984. Allelopathy. Academic Press, Orlando, 422p.
- SANTOS, R.I. 2007. Metabolismo básico e origem dos metabolismos secundários. *In* Farmacognosia: da planta ao medicamento (C.M.O Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick, orgs.). Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 403-434.
- SIMÕES, C.M.O. & SPITZER, V. 2007. Óleos voláteis. *In* Farmacognosia: da planta ao medicamento (C.M.O Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick, orgs.). Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 467-495.

SINGH, H.P.; BATISH, D.R.; KAUR, S.; ARORA, K. & KOHL, R.K. 2006. α -pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Annals of Botany* 98: 1261-1269.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre. 719p.



Figura 1. Esquema mostrando o momento de exposição ao óleo essencial de *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae) nos experimentos para avaliar o efeito sobre o crescimento de alface, cebola e trevo.

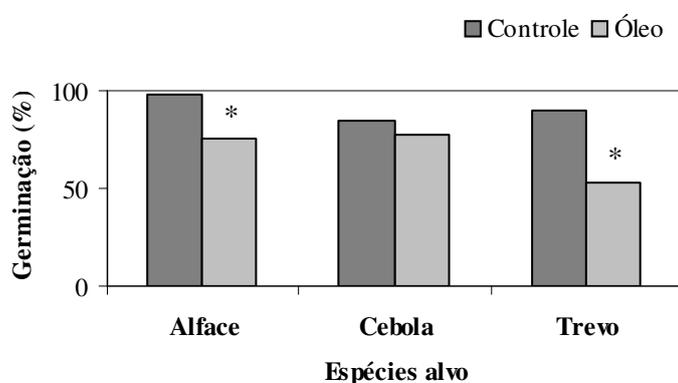


Figura 2. Porcentagem de germinação dos diásporos de alface (*Lactuca sativa*), cebola (*Allium cepa*) e trevo (*Trifolium pratense*) expostos ao óleo volátil de *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae). Asterisco indica diferença do controle a $p < 0,001$.

Tabela 1. Índice de velocidade de germinação (IVG) dos diásporos de alface (*Lactuca sativa*), cebola (*Allium cepa*) e trevo (*Trifolium pratense*) expostos ao óleo volátil de *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae).

Espécies alvo	Tratamentos	N	IVG	
			Média	DP
Alface	Controle	4	26,15 ^a	2,39
	Óleo	4	8,31 ^b	0,43
$p < 0,001$				
Cebola	Controle	4	11,28 ^a	0,76
	Óleo	4	9,55 ^a	0,62
$p = 0,016$				
Trevo	Controle	4	30,49 ^a	3,82
	Óleo	4	13,73 ^b	2,54
$p < 0,001$				

Médias indicadas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste t.

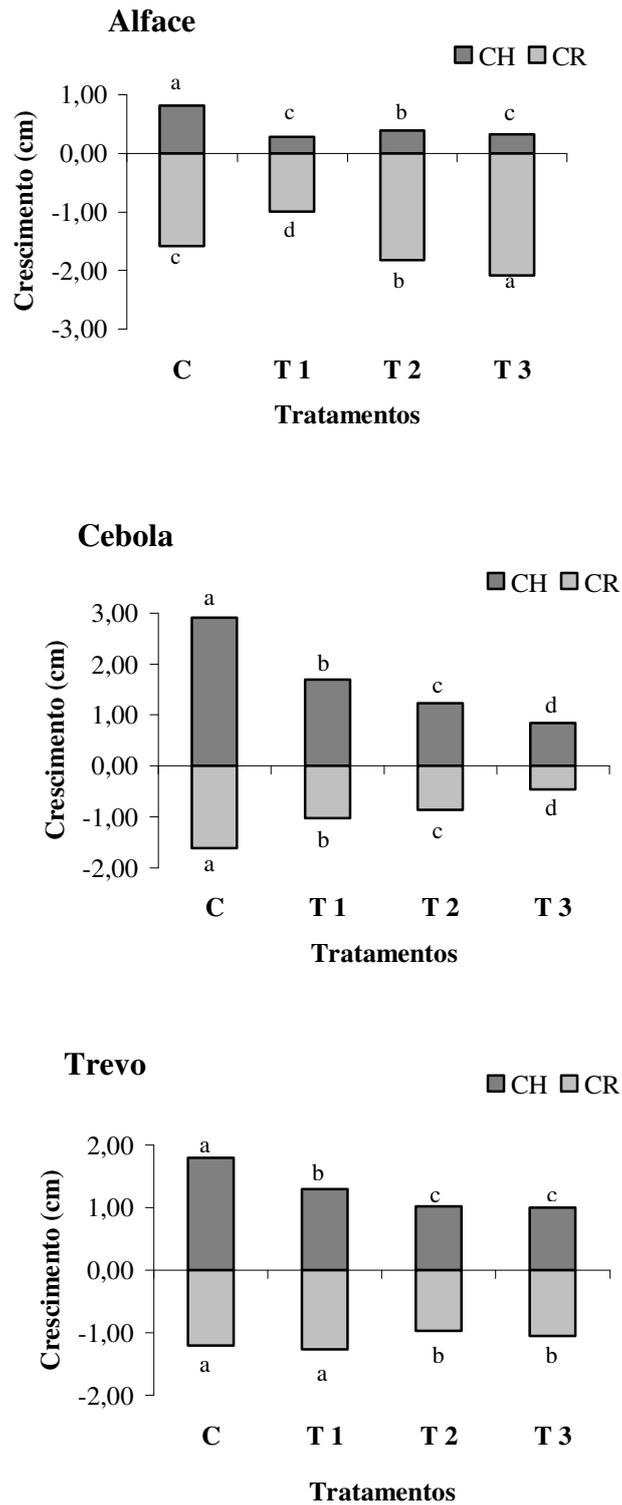


Figura 3. Comprimento do hipocótilo (CH) e da raiz primária (CR) de plântulas de alface (*Lactuca sativa*), cebola (*Allium cepa*) e trevo (*Trifolium pratense*) expostas ao óleo volátil de *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae). C=controle; T1 = exposição ao óleo no período de germinação; T2= exposição ao óleo no período de crescimento; T3= exposição ao óleo na germinação e no crescimento.