

EXTRATOS AQUOSOS DE *Schinus terebinthifolius* Raddi INIBEM A GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Lactuca sativa* L.

Márcia Bündchen

Doutora em Ecologia e Conservação (UFPR). Docente IFRS – Campus Porto Alegre

Jean-François Rousseau

Discente do Cégep de Sherbrooke

Sabrina Letícia Couto da Silva

Mestre em Epidemiologia (UFRGS). Docente IFRS – Campus Porto Alegre

Ângelo Cássio Magalhães Horn

Mestre em Ciências Biológicas/Fisiologia (UFRGS). Docente IFRS – Campus Porto Alegre

Michael Säge

Discente do Cégep de Sherbrooke

William Weber Carpes

Discente do IFRS – Campus Porto Alegre. Bolsista PROBITEC

Thais Lopes

Discente do IFRS – Campus Porto Alegre

Vivian Bamberg Corassini

Discente do IFRS – Campus Porto Alegre. Bolsista PROBITEC

Celson Roberto Canto-Silva

Doutor em Biologia Animal (UFRGS). Docente IFRS – Campus Porto Alegre

Resumo: Neste trabalho, a atividade alelopática de *Schinus terebinthifolius* Raddi, a aroeira-vermelha, foi avaliada utilizando-se *Lactuca sativa* L., a alface, como planta alvo. Os bioensaios foram conduzidos em laboratório com extratos aquosos preparados a partir de folhas e frutos, resultando nos seguintes tratamentos: folha 5% (F₀₅), folha 10% (F₁₀), folha 20% (F₂₀), fruto 5% (Fr₅), fruto 10% (Fr₁₀), fruto 20% (Fr₂₀) e água destilada (Controle). A germinação foi acompanhada por seis dias e os resultados expressos em termos de Porcentagem de Germinação (PG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Biomassa das Plântulas (BP). Os dados foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Ápices radiculares foram processados em glicolmetacrilato para análise histológica qualitativa ao microscópio óptico. A germinação foi totalmente inibida pelos tratamentos de maior concentração (F₂₀ e Fr₂₀) e todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas com relação ao controle, exceto PG e BP no tratamento Fr₅, indicando forte efeito alelopático da aroeira-vermelha. Necrose do ápice radicular e

alterações celulares nas raízes submetidas aos extratos também foram evidenciadas. Os resultados sugerem que *S. terebinthifolius* tem potencial para ser utilizada como fonte de compostos bioativos no manejo de ervas daninhas em agroecossistemas.

Palavras-chave: alelopatia; compostos bioativos, herbicidas.

AQUEOUS EXTRACTS OF *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI INHIBIT THE GERMINATION AND EARLY GROWTH OF *LACTUCA SATIVA* L.

Abstract: In this paper the allelopathic activity of *Schinus terebinthifolius* Raddi, the brazilian pepper, was evaluated using *Lactuca sativa* L., the lettuce, as target plant. Bioassays were carried out in laboratory with aqueous extracts prepared from leaves and fruits, resulting in the following treatments: leaf 5% (Fo5), leaf 10% (Fo10), leaf 20% (Fo20), fruit 5% (Fr5), fruit 10% (FR10), fruit 20% (Fr20) and distilled water (control). Germination was monitored for six days and the results expressed as Germination Percentage (PG), Germination Speed Index (IVG) and Seedlings Biomass (BP). The data were subjected to analysis of variance (One-way ANOVA) followed by Tukey test ($p < 0.05$). Roots apex were processed in glicolmetacrilato for qualitative histological analysis by optical microscopy. Germination was completely inhibited by the higher concentration treatments (Fo20 and Fr20) and all variables showed significant differences compared to the control, except for PG and BP in the Fr5 treatment. These findings indicate a strong allelopathic effect of brazilian pepper tree. Root apex necrosis and changes in root cells submitted to extracts were also observed. The results suggested that *S. terebinthifolius* has potential to be used as a source of bioactive compounds in weed management in agroecosystems.

Key-words: allelopathy, bioactive compounds, herbicides.

1. INTRODUÇÃO

A alelopatia é um processo natural presente em praticamente todos os ecossistemas e consiste na interferência de metabólitos secundários produzidos por uma planta sobre aspectos da germinação ou desenvolvimento de outra (FERREIRA, 2004). Estas interações químicas contribuem para definir a distribuição dos indivíduos nos ambientes naturais (REIGOSA E GONZÁLEZ, 2006), ou seja, o efeito alelopático de determinadas espécies implica sua capacidade competitiva, condicionando sua distribuição (BLANCO, 2007).

Metabólitos secundários com potencial alelopático estão presentes em muitas plantas em praticamente todos os seus órgãos. Seus efeitos são dependentes da forma de liberação da substância, das condições do ambiente (umidade, temperatura, solo), da sensibilidade da planta alvo, da concentração do aleloquímico e das interações com outros organismos (micro-organismos do solo, por exemplo), entre outros fatores (GONZÁLEZ, 2003).

Algumas espécies vegetais exibem forte efeito inibitório sobre os principais patógenos de plantas e sobre a germinação e o desenvolvimento de ervas, constituindo instrumentos eficientes para o desenvolvimento de bio-herbicidas e controle de pragas agrícolas (PUTNAM; DUKE, 1978). O aumento no número de plantas que se tornaram resistentes aos herbicidas e as implicações ambientais do uso desses compostos também contribuem para o grande interesse na pesquisa de estratégias alternativas no manejo de agroecossistemas (KALINOVA, 2010).

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae), a aroeira-vermelha, é uma planta nativa do Brasil conhecida também como pimenta rosa ou *brazilian pepper* em referência aos seus frutos que são utilizados como condimento. A espécie tem ampla distribuição no Brasil, onde ocorre em várias formações florestais e também espontaneamente em diferentes habitats devido à sua rusticidade, tolerância a uma ampla gama de condições ambientais e dispersão ornitocórica dos frutos (LORENZI, 2002). Introduzida em outros países como ornamental é considerada planta exótica invasora, com significativo impacto em áreas naturais (LI; NORLAND, 2001), onde forma agrupamentos monotípicos deslocando as espécies nativas (MORGAN; OVERHOLT, 2005). Tem sido demonstrado que essa elevada capacidade de colonizar habitats em prejuízo das espécies nativas é devida, ao menos em parte, à liberação de substâncias alelopáticas (DONELLY; GREEN; WALTERS, 2008). A atividade biológica de seus metabólitos tem sido demonstrada também a partir de estudos do seu efeito alergênico (LORENZI; MATOS, 2002), mutagênico (CARVALHO et al., 2003) e inseticida (SANTOS et al., 2007). Os resultados dos estudos sobre a atividade alelopática da aroeira-vermelha desenvolvidos por Souza et al. (2007), Silva et al. (2009) e Arcanjo et al. (2009) contrastam com aqueles verificados por Carpes, Lopes e Bündchen (2010), demandando a condução de novos experimentos no sentido de elucidar o potencial alelopático da espécie.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade alelopática de extratos aquosos de folhas e frutos de *S. terebinthifolius* sobre a planta alvo *Lactuca sativa* L. (alface).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS), Campus Porto Alegre.

Folhas e frutos de cinco árvores de *S. terebinthifolius* foram coletados no Campus do Vale, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizado no município de Porto Alegre/RS, em abril de 2011. O material botânico foi previamente lavado com água destilada, desidratado em estufa a 50°C, sendo posteriormente triturado até a obtenção de um pó homogêneo.

A partir de cada fração de folhas e frutos foi preparado um extrato aquoso estoque (20% m/v). O pó foi adicionado à água destilada aquecida (80°C), mantido em repouso por 12 horas e a seguir centrifugado a 5000 RPM por 20 minutos; por fim, foram utilizados para os bioensaios diluições de alíquotas do sobrenadante do extrato estoque nas concentrações de 10% e 5%, resultando nos seguintes tratamentos: folha 5% (Fo₅), folha 10% (Fo₁₀), folha 20% (Fo₂₀), fruto 5% (Fr₅), fruto 10% (Fr₁₀), fruto 20% (Fr₂₀) e água destilada (Controle).

A semeadura foi realizada em placas de Petri forradas com três camadas de papel germitest®. Cada tratamento constou de dez repetições de 30 sementes de alface (*Lactuca sativa* L., marca Isla), mantidas sob iluminação constante e temperatura controlada (23-25°C).

Todos os materiais utilizados, incluindo os extratos, foram esterilizados em autoclave antes do início dos experimentos e os procedimentos realizados em câmara de fluxo laminar.

A germinação foi acompanhada por seis dias utilizando-se como critério de germinação a emissão da radícula. A partir dos resultados foi calculada a Porcentagem de Germinação (PG) e do Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Após o término do experimento as plântulas sobreviventes foram desidratadas em

estufa a 50°C e pesadas em balança de precisão para determinar a sua Biomassa (BP).

As médias dos tratamentos foram comparadas via Análise de Variância (One-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey (sendo considerado resultado de diferença significativa se $p < 0,05$ para ambos os testes). A análise foi realizada com o auxílio do software SPSS versão 15.

A análise histológica qualitativa foi realizada a partir de ápices radiculares obtidos de aquênios germinados em placas de Petri suplementares. O material foi fixado em FAA₅₀ (Formol, Ácido Acético e Álcool Etílico 50%), armazenado em álcool 50%, processado em glicolmetacrilato, seccionado em micrótomo e corado com solução aquosa de azul de toluidina 0,05%. Posteriormente, as lâminas foram analisadas ao microscópio óptico comparando-se os ápices radiculares do controle e dos tratamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas em relação ao controle, exceto PG e BP no tratamento Fr₅ (Tab. 1).

Os resultados indicam forte atividade inibitória dos extratos aquosos de folhas e de frutos de *S. terebinthifolius*, havendo completa inibição da germinação com os extratos a 20%.

Em estudos anteriores, conduzidos por Souza et al. (2007) e Silva et al. (2009), os extratos aquosos das folhas de aroeira-vermelha apresentaram efeitos inibitórios significativos sobre a porcentagem de germinação somente em concentrações muito elevadas, de 75% e 100% e, mesmo nestas concentrações, a inibição foi muito menor do que a observada no presente estudo.

O tratamento Fr₅ não diferiu do controle em termos de porcentagem de germinação, mas o IVG foi significativamente reduzido. O efeito alelopático pode não ser visualizado na germinabilidade, mas pode ser detectado na análise da velocidade de germinação (FERREIRA, 2004). Neste sentido, o IVG foi mais sensível para refletir a atividade alelopática dos extratos foliares da aroeira-vermelha sobre a germinação da alface (SILVA et al., 2009) e da braquiária (PESSANHA et al., 2010).

Tabela 1. Médias (seguidas pelo desvio-padrão) das variáveis analisadas e resultados da análise de variância dos efeitos dos extratos aquosos de *Schinus terebinthifolius* sobre a germinação de *Lactuca sativa*. Legenda: PG = Porcentagem de Germinação, IVG = Índice de Velocidade de Germinação, BP = Biomassa das Plântulas (g). Tratamentos: folha 5% (Fo₅), folha 10% (Fo₁₀), folha 20% (Fo₂₀), fruto 5% (Fr₅), fruto 10% (Fr₁₀), fruto (Fr₂₀) e água destilada (Controle). Médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tratamentos				
Folhas				
Variáveis	Controle	Fo ₅	Fo ₁₀	Fo ₂₀
PG (F=190,33)	75,67 (9,69)a	55,33 (7,9)b	15 (10,09)c	0 (0)d
IVG (F=315,99)	16,9 (2,37)a	7,40 (1,17)b	1,14 (0,7)c	0 (0)c
BP (F=178,87)	0,018 (0,002)a	0,016 (0,003)b	0,004 (0,003)c	0 (0)d
Frutos				
Variáveis	Controle	Fr ₅	Fr ₁₀	Fr ₂₀
PG (F=82,74)	75,67 (9,69)a	70,33 (15,67)a	19,67 (18,35)b	0 (0)c
IVG (F=188,76)	16,9 (2,37)a	10,44 (2,38)b	1,51 (1,43)c	0 (0)c
BP (F=67,76)	0,018 (0,002)a	0,019 (0,004)a	0,005 (0,005)b	0 (0)c

A redução da biomassa observada nos tratamentos Fo₅, Fo₁₀ e Fr₁₀ indica que as plântulas originadas dos aquênios germinados sob a influência dos extratos apresentaram alterações no seu desenvolvimento que resultaram na produção de menor quantidade de biomassa.

Necrose do ápice radicular foi observada nas raízes das plântulas expostas ao extrato. Essa característica é compatível com a ação citotóxica das substâncias alelopáticas, que podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns (FERREIRA, 2004).

O estudo histológico revelou que as células da região subapical da radícula apresentaram características anômalas comparativamente com o controle, incluindo o formato irregular, o aumento no número de nucléolos e a abundante formação de vesículas citoplasmáticas. Zamyatmina et al. (2002) apontam vesículas citoplasmáticas como sintomas do processo de morte celular.

Os resultados do presente estudo confirmam a atividade alelopática de *S. terebinthifolius* e indicam que os extratos aquosos são fortemente inibitórios sobre PG, IVG e BP em concentrações muito menores do que as anteriormente descritas na literatura, sugerindo que a espécie tem substancial potencial para ser utilizada no controle de ervas daninhas na agricultura, em substituição aos herbicidas convencionais.

REFERÊNCIAS

ARCANJO, W.; NATALI, R. L.; MOREIRA JR., A.C.; MARTIN-DIDONET, C. C.G. Extratos aquosos de pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi): efeitos no crescimento de alface e rabanete. In: *XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal – Desafios para produção de alimentos e bioenergia*. Fortaleza, 07 a 12 de setembro de 2009. Resumo.

BLANCO, J.A. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. *Ecological modelling*, v.209, p. 65-77, 2007.

CARPES, W.W.; LOPES, T.; BÜNDCHEN, M. Efeito alelopático de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre a germinação de *Lactuca sativa*. In: *Anais da 11ª MOSTRATEC – Mostra de Trabalhos de Iniciação Técnico-Científica do IFRS*, Campus Porto Alegre. Porto Alegre, 25 a 27 de Novembro de 2010. Resumo.

CARVALHO, M.C.R.D.; BARCA, F.N.T.B.; AGNEZ-LIMA, L.F.; MEDEIROS, S.R.B. Evaluation of Mutagenic Activity in an Extract of Pepper Tree Stem Bark *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v.42, p. 185-191, 2003.

DONNELLY, M.J.; GREEN, D.M.; WALTERS, L.J. Allelopathic effects of fruits of the Brazilian pepper *Schinus terebinthifolius* on growth, leaf production and biomass of seedlings of the red mangrove *Rhizophora mangle* and the black mangrove *Avicennia germinans*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.357, p. 149-156, 2008.

FERREIRA, A.G. Interferência: competição e alelopatia. In: Ferreira, A.G.; Borghetti, F. (Orgs.) *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.251-264.

GONZÁLEZ, L.R. Relaciones alelopáticas. In: Reigosa, M.J.; Pedrol, N.; Sánches, A. *La ecofisiología vegetal Una ciencia de síntesis*. Madrid: Thomson, 2003. p. 527-576.

KALINOVA, J. Allelopathy and Organic Farming. In: Lichtfouse, E. (ed.), *Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science*. Sustainable Agriculture Reviews, v. 3, 2010. p. 379-418.

LI, Y.; NORLAND, M.. The role of soil fertility in invasion of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius*) in Everglades National Park, Florida. *Soil Science*, v.166, p. 400-405, 2001.

LORENZI, H. *Árvores Brasileiras* Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil Vol.1. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas Medicinais no Brasil Nativas e Exóticas*. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MORGAN, E. C.; OVERHOLT, W. A. 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*, v.132, p. 11-15, 2005.

PESSANHA, A.C.; SANTOS, L.M.; FREITAS, S.P.; HUZIWARA, E. Efeito alelopático de extrato de *Schinus terebinthifolius* L. em *Brachiaria decumbens*. In: XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. Ribeirão Preto, 19 a 23 de julho de 2010.

PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Allelopathy in Agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, v.16, p. 431-51, 1978.

REIGOSA, M.J.; GONZÁLEZ, L. Forest ecosystems and allelopathy. In: Reigosa, M.J, Pedrol, N., González, L. (Eds.). *Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications*. Dordrecht:Springer, 2006. p.451-463.

SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; SILVA, A.G.; FERNANDES, C.F.F; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D; FACUNDO, V.A. Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 48. Porto Velho: Embrapa, 2007.

SILVA, E.C.R; VASCONCELOS; F.M.T; ALBUQUERQUE, M.B; SANTOS, R.C; FILHO, P.A.M. Efeito alelopático do extrato aquoso de *Schinus terebinthifolius* Raddi. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE– JEPEX 2009. *Anais...* Recife, 19 a 23 de outubro de 2009. Disponível em: <www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0216-1.pdf>.

SOUZA, C.S.M; SILVA, W.L.P; GUERRA, A.N.M.N; CARDOSO, M.C.R; TORRES; S.B. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. *Revista Verde*, v.2, n.2, p.96-100, 2007.

ZAMYATNINA V.A., BAKEEVA L.E., ALEKSANDRUSHKINA N.I., VANYUSHIN B.F. Apoptosis in the initial leaf of etiolated wheat seedlings: influence of the antioxidant ionol (BHT) and peroxides. *Biochemistry*. V. 6, n.2, p.212-21, 2002.

Apoio: Probitec/IFRS.