



ATIVIDADE FITOTÓXICA DA SAMAMBAIA *Pteridium arachnoideum* (KAULF.) MAXON, SOBRE O ALONGAMENTO DE COLEÓPTILOS DE TRIGO

RIBEIRO, J. W. F. (Ananguera – UNIDERP, Campo Grande/MS); MONTANHIM, G. C. (PPGERN – UFScar, São Carlos/SP, gramontanhim@yahoo.com.br); JATOBÁ, L. J. (PPGERN – UFScar, São Carlos/SP, lujatoba.bio@gmail.com); ANESE, S. (PPGERN – UFScar, São Carlos/SP, simonianese@yahoo.com.br); GUALTIERI, S. C. J. (DB – UFScar, São Carlos/SP, dscp@power.ufscar.br)

RESUMO: O gênero *Pteridium* apresenta-se distribuído por todo o mundo, com exceção das calotas polares e possuem alta capacidade invasiva. Espécies do gênero *Pteridium* já foram descritas como causadoras de intoxicação bovina e com atividade carcinogênica. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade fitotóxica de frações de extratos de fronde e rizoma de *P. arachnoideum* sobre o alongamento de coleóptilos de trigo. Extratos brutos dos dois órgãos utilizados foram obtidos através da extração direta com metanol e diclorometano na proporção 1:1. Para o fracionamento dos extratos brutos obtidos, procedeu-se a partição com metanol 95% e hexano na proporção 1:1. A fração metanólica foi submetida à partição com acetato de etila e água deionizada. Obteve-se frações hexanólica e acetatoétilica de cada órgão. Para cada uma delas foram preparadas soluções nas concentrações de 800, 400 e 200 ppm, além de um controle positivo (herbicida GOAL) nas mesmas concentrações e de um controle negativo (solução tampão). As frações da fronde e rizoma apresentaram atividade alelopática sobre o alongamento de coleóptilos de trigo. A fração de acetato de etila do rizoma desta planta possui atividade inibitória sobre o crescimento de coleóptilos de trigo equivalente a do herbicida GOAL.

Palavras-chave: Alelopatia, herbicida natural, plantas infestantes.

INTRODUÇÃO

Pteridium arachnoideum (Kaulf.) Maxon, é uma samambaia pertencente à família Dennstaedtiaceae, com frondes bipinadas atingindo cerca de 60 a 180 cm de comprimento e 60 a 120 cm de largura, tem rizomas profundos, com capacidade de expansão e armazenamento de nutrientes, tornando-a resistente ao fogo e facilitando a colonização, agindo muitas vezes como invasora em diversos ambientes (Durão et al., 1995). Alguns estudos tem atribuído mecanismos alelopáticos como fator para a agressividade e dominância de *Pteridium ssp.* (Silva Matos e Belinato, 2010).

A alelopatia, por sua vez, é uma interação ecológica em que uma planta pode afetar o desenvolvimento de outras plantas, de maneira prejudicial (fitotóxica) ou benéfica (fitoestimulante), ao liberar substâncias químicas no ambiente (Rice, 1984). Tais substâncias

químicas são denominadas aleloquímicos e são provenientes do metabolismo secundário dos vegetais (Macías et al., 2000).

Os estudos em alelopatia visando o conhecimento de aleloquímicos naturais com potencial herbicida vêm se desenvolvendo principalmente como alternativa para o uso de defensivos agrícolas sintéticos, pois apresentam vantagens como maior solubilidade, meia vida mais curta e geralmente não são considerados potencialmente tóxicos (Duke, 2000).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade fitotóxica de diferentes frações obtidas a partir do extrato bruto de fronde e rizoma de *P. arachnoideum* sobre o alongamento de coleóptilos de trigo (*Triticum aestivum* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado consistiu de frondes e rizomas de *P. arachnoideum* coletados na reserva de Cerrado da UFScar, *campus* São Carlos, em fevereiro de 2011. O material foi seco em estufa a 40°C até atingir massa constante por três dias consecutivos. Após a secagem, o material vegetal foi moído em moinho elétrico e o pó resultante foi utilizado para a obtenção dos extratos brutos dos rizomas e frondes da espécie.

Extratos brutos dos dois órgãos utilizados foram obtidos através da extração direta com metanol e diclorometano na proporção 1:1. Para obtenção dos extratos brutos de frondes e rizomas, 100g de material vegetal foi adicionado a uma mistura de 250mL de metanol e 250mL de diclorometano em um Becker, levado a banho de ultrassom por trinta minutos. A mistura foi filtrada utilizando-se uma bomba a vácuo acoplada a um funil de Buchner, forrado com papel de filtro.

Após a filtração, o material vegetal foi recolhido do funil de Buchner e novamente submetido ao processo de extração. Os extratos brutos assim obtidos foram então evaporados em rotaevaporador com banho-maria a 37°C. Assim, após o processo de extração e secagem, foram obtidos os extratos brutos de fronde e Rizoma de *P. arachnoideum*, armazenados sob refrigeração até a realização do fracionamento por partição.

Para o fracionamento dos extratos brutos obtidos, procedeu-se a partição com metanol 95% e hexano na proporção 1:1. Para tanto, o extrato bruto seco foi solubilizado em uma mistura de 600mL de metanol 95% e 600 mL de hexano, sendo a mistura acondicionada em um funil de separação até a completa separação das fases. As frações hexanólica e metanólica foram separadas e evaporadas em rotaevaporador com banho-maria a 37°C. A fração metanólica foi submetida à partição com acetato de etila e água deionizada, seguindo as mesmas proporções e metodologia da partição anterior. A fração acetoetílica foi evaporada em rotaevaporador com banho-maria a 37°C e a fração aquosa foi descartada.

Ao final do processo de fracionamento, obteve-se, para cada extrato bruto, uma fração hexanólica e uma fração acetoetílica, para as quais foram calculados os rendimentos, identificadas e armazenadas sob refrigeração.

Para a realização dos bioensaios, sementes de trigo foram distribuídas em caixas tipo gerbox forradas com duas folhas de papel de filtro e umedecidas com 10mL de água destilada. As caixas foram embrulhadas em papel alumínio e acondicionadas em estufas tipo B.O.D. durante 72h, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, no escuro. As plântulas estioladas de trigo assim obtidas foram cortadas com o auxílio de uma guilhotina de Van der Veij sob luz verde de segurança. Os ápices (2mm) foram descartados e o restante foi cortado em fragmentos de 4 mm utilizados no bioensaio (Macías et al., 2005).

Para testar o efeito fitotóxico das diferentes frações de cada extrato bruto sobre o alongamento dos colóptilos de trigo, 10 mg de cada fração foram dissolvidos em dimetil sulfóxido (DMSO), sendo então acrescentado solução tampão (pH 5,6) de fosfato de potássio (250mL de água destilada, 5g de sacarose, 0,2625g de ácido cítrico e 0,725g de fosfato de potássio di-básico) para a obtenção de soluções a 800, 400 e 200 ppm, com concentração constante de 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de DMSO em cada concentração.

Foram realizadas três repetições em tubos de ensaio contendo 2 mL das respectivas soluções e cinco coleóptilos para cada tratamento, além do controle negativo com solução tampão e DMSO (5 $\mu\text{L}/\text{mL}$) e do controle positivo com herbicida GOAL® nas três concentrações e DMSO (5 $\mu\text{L}/\text{mL}$) (Macías et al., 2006; García, 2009). Estes tubos foram tampados e mantidos em estufa B.O.D. a 25°C no escuro sob constante rotação (0,25 rpm) (García, 2009). Após 24h, os coleóptilos foram retirados dos tubos, fotografados e medidos com o auxílio do *software* Image-Pro Plus 5.0®.

Os dados foram avaliados como porcentagem de inibição ou estímulo em relação ao controle negativo (Macías et al., 2006). Os resultados foram apresentados em um gráfico de colunas, onde o "0" representa o resultado apresentado pelo controle negativo, enquanto que valores positivos implicam no estímulo da característica analisada e os negativos, na inibição. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tuckey a $\alpha=0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na metodologia adotada e descrita, espera-se que estejam presentes nas frações hexanólicas substâncias de baixa polaridade. Nas frações de acetato de etila espera-se que haja substâncias de polaridade intermediária, provenientes do metabolismo secundário da planta. Substâncias que apresentam atividade alelopática pertencem principalmente a esses grupos com polaridade intermediária (Kim et al., 2005).

Para o extrato de frondes, a fração acetoetílica apresentou atividade fitotóxica inibitória sobre o alongamento dos coleóptilos de trigo na maior concentração (800 ppm), embora essa atividade seja menor do que aquela apresentada pelo herbicida GOAL na mesma concentração e em 400 e 200 ppm. A fração hexanólica também apresentou atividade fitotóxica inibitória sobre o alongamento dos coleóptilos de trigo, que foi mais significativa na concentração de 800 ppm, apresentando-se, porém, menos pronunciada do que a observada para a fração acetoetílica e para o controle positivo na mesma concentração. (Tabela 1).

Tabela 1. Comprimento médio dos coleóptilos de trigo submetidos à ação das frações do extrato bruto frondes de *P. arachnoideum* e do herbicida GOAL® em diferentes concentrações.

Frações	Comprimento (mm)			
	800 ppm	400 ppm	200 ppm	Controle
Hexano	6,35±0,53 Ab	6,79±2,35 Ab	7,11±0,17 Aab	9,44±0,15 a
Acetato de Etila	5,52±0,25 Ab	5,75±0,02 Ab	6,55±0,27 Ab	9,44±0,15 a
GOAL	4,38±0,13 Ab	4,44±0,11 Ab	5,37±0,43 Ab	9,44±0,15 a

*Média±desvio padrão, seguidos das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (<0,05). Letras maiúsculas para coluna e minúsculas para linha.

Para o extrato de rizoma, a fração acetoetílica apresentou atividade fitotóxica inibitória sobre o alongamento dos coleóptilos de trigo, equivalente à apresentada pelo herbicida GOAL® nas mesmas concentrações, assim como atividade inibitória quando comparada ao controle em todas as concentrações (Tabela 2).

Tabela 2. Comprimento médio dos coleóptilos de trigo submetidos à ação das frações do extrato bruto de rizoma de *P. arachnoideum* e do herbicida GOAL® em diferentes concentrações.

Frações	Comprimento (mm)			
	800 ppm	400 ppm	200 ppm	Controle
Hexano	8,30±1,24 Aa	7,84±2,70 Aa	8,27±1,37 Aa	9,44±1,15 a
Acetato de Etila	4,26±0,21 Bb	4,97±0,06 ABb	5,21±0,12 Ab	9,44±1,15 a
GOAL	4,38±0,13 Bb	4,44±0,11 Bb	5,37±0,43 Ab	9,44±1,15 a

*Média±desvio padrão, seguidos das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (<0,05). Letras maiúsculas para coluna e minúsculas para linha.

A fração acetoetílica do extrato bruto de rizoma de *P. arachnoideum* foi a que apresentou maior atividade na inibição do alongamento dos coleóptilos de trigo, equivalente ao herbicida GOAL® na maior concentração. Devido à ação inibitória significativa, a fração acetoetílica de rizoma foi considerada a mais promissora para futuros estudos e fracionamento.

CONCLUSÕES

Tanto fronde como rizoma de *P. arachnoideum* possuem substâncias com atividade fitotóxica sobre o alongamento de coleóptilos de trigo. Portanto, a liberação de tais substâncias pode se dar por exudação (liberação por meio dos rizomas) e lixiviação (liberação por meio das frondes).

A fração de acetato de etila de rizoma desta planta possui atividade inibitória sobre o crescimento de coleóptilos de trigo equivalente a do herbicida GOAL®. A fração acetato de etila de rizoma é relevante para futuros estudos, pois as substâncias contidas apresentam alta ação inibitória.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RAMAFNANI, J. G.; RIMADO, A. M. **Natural products as sources of herbicides: current status and future trends.** *Weed Research* 40: 2000. p.499-505.
- DURÃO, C. J. F.; FERREIRA, L. M.; CABRAL, A.; PELETEIRO, C. M.; AFONSO, F.; GARCÍA, J. L. L. G. **Aislamiento y síntesis de compuestos bioactivos de girasol variedades cultivadas de Perodovick y Atila.** Tese de Doutorado, Universidad de Cádiz, Puerto Real, Espanha, 2009.
- KIM, Y. O., JOHNSON, J. D.; LEE, E. J. Phytotoxic effects and chemical analysis of leaf extracts from three *Phytolaccaceae* species in South Korea. **Journal of Chemical Ecology**, v.31, n.5, p.1175-1186, 2005.
- MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.2512–2521, 2000.
- MACÍAS, F. A.; OLIVEROS-BASTIDAS, A.; MARÍN, D.; CASTELLANO, D.; SIMONET, A. M.; MOLINILLO, J. M. G. Degradation studies on benzoxazinoids soil degradation dynamics of (2r)-2-o-â-d-glucopyranosyl-4-hydroxi-(2h)-1,4-benzoxazin-3(4h)-one (diboa-glc) and its degradation products, phytotoxic allelochemicals from gramineae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.554-561, 2005.
- MACÍAS, F. A.; CHINCHILLA, N.; VARELA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G. Bioactive steroids from *Oryza sativa* L. **Steroids**, v.7, n.1, p.603-608, 2006.
- RICE, E. L. **Allelopathy**. 2. ed. New York: Academic Press, 1984. 422 p.
- SILVA MATOS, D. M.; BELINATO, T. A. Interference of *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon. (Dennstaedtiaceae) on the establishment of rainforest trees. **Brazilian Journal Biology**, v.70, n.2, p.311-316, 2010.