



INFLUÊNCIA ALELOPÁTICA DE FRAÇÕES DO EXTRATO DE RAÍZES DE *Drimys brasiliensis* MIERS SOBRE A GERMINAÇÃO DE *Panicum maximum* JACQ.

ANESE, S. (Departamento de Botânica – UFSCar, São Carlos/SP - simonianese@yahoo.com.br), GRISI, P.U. (Departamento de Botânica – UFSCar, São Carlos/SP - patriciaumeda@hotmail.com), PEREIRA, V.C. (Departamento de Botânica – UFSCar, São Carlos/SP - vivicpereira@gmail.com), JATOBÁ, L.J. (Departamento de Botânica - lujatoba.bio@gmail.com), BERLINCK, R.S.G. (Instituto de Química de São Carlos – USP, São Carlos/SP - rgsberlinck@iqsc.usp.br), GUALTIERI, S.C.J. (Departamento de Botânica – UFSCar, São Carlos/SP - soniacristina3012@hotmail.com).

RESUMO: O objetivo do estudo foi avaliar o efeito alelopático de frações do extrato de raízes de *Drimys brasiliensis* sobre a germinação de capim-colonião. Após extração inicial em CH₂Cl₂/MeOH (1:1), o extrato bruto foi fracionado por partição líquido-líquido, resultando nas frações hexânica, acetato de etila e aquosa. O efeitos das frações hexânica e acetato de etila foram testados nas concentrações de 1000, 500, 250 e 125 ppm e comparados ao controle. O teste de germinação foi realizado em placas de Petri, com quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento. Foram avaliados os parâmetros porcentagem e tempo médio de germinação. As frações hexânica e acetato de etila exerceram efeito inibitório significativo no processo de germinação de sementes de capim-colonião. No entanto, a fração hexânica ocasionou efeito inibitórios mais expressivos, especialmente sobre a germinabilidade. Estudos estão sendo desenvolvidos para elucidar os compostos responsáveis por tais efeitos.

Palavras-chave: fitotoxicidade, germinabilidade, capim-colonião.

INTRODUÇÃO

Alelopatia é um fenômeno no qual metabólitos secundários sintetizados por plantas ou outros microrganismos influenciam sistemas biológicos e agrícolas, de forma estimulatória ou inibitória. Envolve a síntese de compostos bioativos conhecidos como aleloquímicos, capazes de atuar como herbicidas naturais. Tais substâncias podem eventualmente servir para atuar contra a resistência desenvolvida por plantas daninhas, e em problemas de saúde e contaminação de solos, causados pelo uso intensivo de agroquímicos sintéticos (Farroq et al., 2011).

Muitos compostos derivados de plantas, como os sesquiterpenos drimanos presentes em espécies do gênero *Drimys*, apresentam ampla variedade de atividades

biológicas, incluindo leishmanicida (Côrrea et al., 2011), herbicida e inseticida (Zapata et al., 2011; 2009), propriedades fitotóxicas e reguladoras do crescimento de plantas (Jansen & Groot, 2004). Assim, espécies do gênero *Drimys* apresentam-se como promissoras para investigação de propriedades alelopáticas.

Drimys brasiliensis Miers, ou casca-de-anta, como é popularmente conhecida, pertence à família Winteraceae, é encontrada na Mata Atlântica e em matas de galerias no domínio do Cerrado (Ehrendorfer et al., 1979). Estudos anteriores revelaram seu potencial fungicida (Malheiros et al., 2005) e anti-inflamatório (Lago et al., 2010). No entanto, são poucos os trabalhos que investigam seu potencial alelopático contra outras plantas, particularmente sobre plantas daninhas de culturas agrícolas.

Panicum maximum Jacq. (capim-colonião) é conhecida como uma das plantas daninhas mais importantes em áreas canavieiras e de reflorestamentos, principalmente devido a sua elevada agressividade, intensa capacidade de produção e longevidade de sementes (da Costa et al., 2002). Assim, este estudo foi desenvolvido com objetivo de estudar o potencial alelopático de frações do extrato das raízes de *D. brasiliensis* sobre a germinação de sementes de capim-colonião.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal - Raízes de *D. brasiliensis* foram coletadas de indivíduos ocorrentes na área de reserva de cerrado “*sensu strictu*” pertencente à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), estado de São Paulo (21° 58' a 22°00' S e 47°51' a 47°52'W), em setembro de 2010. Após a coleta, todo material vegetal foi lavado em água corrente, para eliminação de impurezas, e seco em estufa de circulação forçada de ar, a 40 °C, por 120 horas. Após secagem, o material foi triturado em moinho industrial, pesado, embalado a vácuo em sacos plásticos e armazenado até a realização dos experimentos.

Preparo das frações químicas - A extração e partição inicial das substâncias presentes em raízes de *D. brasiliensis* foram realizadas com base na metodologia proposta por Rangel et al., (2001). Inicialmente, 50 g de pó das raízes foram submetidas à extração exaustiva com CH₂Cl₂/MeOH (1:1) (5 x 200 mL). O extrato resultante foi filtrado a vácuo, utilizando-se papel de filtro em funil de Buchner, reunido e concentrado. O extrato bruto concentrado foi suspenso em MeOH 95% (200 mL) e particionado com n-hexano (3 x 200 mL), resultando nas frações metanólica e hexânica. A fração metanólica foi concentrada, suspensa em água (200 mL) e submetida a partição com acetato de etila (3 x 200 mL), obtendo-se duas frações: acetato de etila (AcOEt) e a aquosa. Ao final, as frações hexânica e AcOEt foram evaporadas até a secura, pesadas e submetidas ao bioensaio com sementes.

Bioensaio com sementes (Macias et al., 2008): Para o preparo das soluções, 40 mg de cada fração (hexânica e AcOEt) foram solubilizados em 40 mL de solução tampão (10 mM de ácido 2-[N-morfolino] etanossulfônico (MES) e 1M de NaOH, pH = 6) e DMSO (5 $\mu\text{L mL}^{-1}$), resultando na concentração inicial de 1000 ppm (1mg mL^{-1}). A partir desta solução, foram feitas diluições para as concentrações de 500 (0.5 mg mL^{-1}), 250 (0.25 mg mL^{-1}) e 125 ppm (0.125 mg mL^{-1}). Foi realizado um controle positivo com solução tampão e DMSO (5 $\mu\text{L mL}^{-1}$).

Para o teste de germinação, as soluções das frações hexânica e AcOEt foram aplicadas nas sementes de capim-colonião. Os experimentos foram conduzidos em placas de Petri sobre duas folhas de papel de filtro umedecidas com 5 mL das soluções e com o controle, separadamente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes, instalado em estufa B.O.D com alternância de temperatura de 20-30 °C e fotoperíodo de 16 h - 8 h (Tomaz et al., 2010). As leituras foram realizadas diariamente até a estabilização da germinação. A germinabilidade e o tempo médio de germinação foram calculados de acordo com Ranal & Santana (2006).

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Levene), seguidos da análise de variância (ANOVA), a 0,05 de significância. Como o resultado da ANOVA foi significativo, procedeu-se à regressão linear ou quadrática. A qualidade do ajuste dos modelos foi aferida pelo coeficiente de determinação (R^2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frações hexânica e AcOEt exerceram efeito inibitório significativo no processo de germinação de sementes de capim-colonião. As diferentes concentrações da fração AcOEt promoveram decréscimo linear da germinabilidade de 17% para cada 1 ppm de solução adicionada, e aumento linear no tempo médio de germinação de 1.57 dias para cada 1 ppm de solução. Sob a ação da fração hexânica, as sementes atingiram valores mínimos de germinabilidade (3.3 %) na concentração estimada de 0.94 mg mL^{-1} e acréscimo linear no tempo médio de germinação de 0.0026 dias para cada adição de 1 ppm de solução (figura 1).

Pode-se observar que a fração hexânica ocasionou efeito inibitório mais expressivo, especialmente sobre a germinabilidade, quando comparado com a fração AcOEt. Compostos de baixa polaridade são extraídos com solventes orgânicos como n-hexano. Jansen & Groot (2004) discutem que, entre os principais compostos de baixa polaridade que foram isolados de espécies da família Winteraceae, estão presentes vários sesquiterpenos drimanos com amplo espectro de atividades biológicas, incluindo inibição da germinação e crescimento de plantas. Resultado semelhante foi encontrado por Zapata et al., (2011), que

demonstraram que o extrato do caule de *Drimys winteri* obtido com n-hexano reduziu a porcentagem de emergência, crescimento e biomassa de quatro espécies de plantas daninhas.

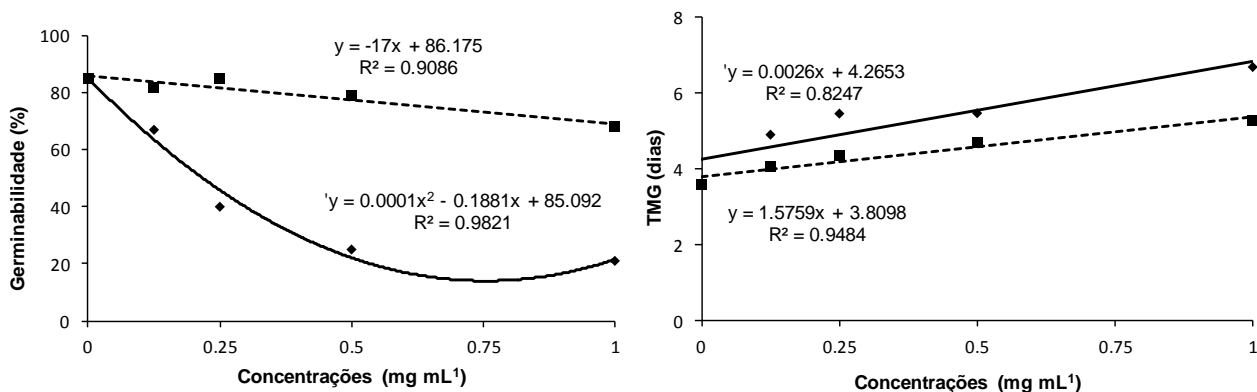


Figura 1 – Germinabilidade (%) e tempo médio de germinação (dia) de sementes de capim-colonião submetidas ao efeito das frações hexânica (◆, y) e AcOEt (■, y) de raízes de *D. brasiliensis*, em diferentes concentrações.

Desta maneira, este estudo evidenciou que raízes de *D. brasiliensis* apresentam grande potencial fitotóxico sobre a germinação da espécie alvo estudada, podendo ser uma estratégia promissora para o controle de plantas daninhas. No entanto, são necessários mais estudos para elucidar quais compostos são responsáveis por tais efeitos, assim como uma investigação em nível de campo para o controle da espécie, principalmente em sistemas de agricultura orgânica.

CONCLUSÃO

As frações hexânica e acetato de etila do extrato bruto *D. brasiliensis* apresentaram grande potencial para inibir a germinação de capim-colonião. No entanto, a fração hexânica foi a mais ativa, com resultado dependente da concentração.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e CNPq pelo suporte financeiro e ao grupo de Química Orgânica do IQSC/USP pela orientação metodológica e apoio estrutural oferecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORRÊA, D.S.; TEMPONE, A.G.; REIMÃO, J.Q.; TANIWAKI, N.N.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O.F.; SARTORELLI, P.; MECCH, M.C.; LAGO, H.G. Anti-leishmanial and anti-trypanosomal potential of polygodial isolated from stem barks of *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae). *Parasitol Research*, v. 109, 231–236, 2011.

da COSTA, E.A.D.; MATALLO, M.B.; CARVALHO, J.C.; ROZANSKI, A. Eficiência de nova formulação do herbicida oxyfluorfen no controle de plantas daninhas em área de *Pinus caribea* morelet var. *hondurensis* barr. et golf. **Revista Árvore**, v.26, p.683-689, 2002.

EHRENDORFER, F., GOTTSBERGER, I.S., GOTTSBERGER, G. Variation on the population, racial, and species level in the primitive relic angiosperm genus *Drimys* (Winteraceae) in South America. **Plant Systematics and Evolution**, v.132, p.53-83, 1979.

FAROOQ, M.; ZAHID, K.J.; CHEEMA, A.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H.M. The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest Management Science**, v. 67, 493-506, 2011.

JANSEN, B.; GROOT, A. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. **Natural Products Reports**. v. 24, p. 449-477, 2004.

LAGO, G.H.G.; CARVALHO, L.A.C.; da SILVA, F.S.; TOYAMA, D.O.; FÁVERO, O.A.; ROMOFF, P. Chemical Composition and Anti-Inflammatory Evaluation of Essential Oils from Leaves and Stem Barks from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p.1760-1765, 2010.

MACIAS, F.A.; LACRET, R.; VARELA, R.M.; MOLINILLO, J.M.G. Bioactive apocarotenoids from *Tectona grandis*. **Phytochemistry**. v. 69, 2708-2715, 2008.

MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; SCHMITT, C.B.; YUNES, R.A.; ESCALANTE, A.; SVETAZ, L.; ZACCHINO, S.; MONACHE, F.D. Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassayguided fractionation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 8, 335-339, 2005.

RANAL, M. A.; SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, p.1-11, 2006.

RANGEL, M.; SANCTIS, B.; FREITAS, J.C.; POLATTO, J.M.; GRANATO, A.C.; BERLINCK, R.J.S.; HAJDU, R. Cytotoxic and neurotoxic activities in extracts of marine sponges Porifera from southeastern Brazilian coast. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 262, p.31-40, 2001.

TOMAZ, C.A.; MARTINS, C.C.; CARVALHO, L.C.; NAKAGAWA, J. Duração do teste de germinação do capim-tanzânia. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, p. 080-087, 2010.

ZAPATA, N.; BUDIA, F.; VINUELA, E.; MEDINA, P. Antifeedant and growth inhibitory effects of extracts and drimanes of *Drimys winteri* stem bark against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). **Industrial Crops and Products**. v. 30, 119-125, 2009.

ZAPATA, N.; VARGAS, M.; MEDINA, P. Actividad fitotóxica de un extracto n-hexano obtenido de la corteza de *Drimys winteri* sobre cuatro especies de malezas. **Planta Daninha**, v. 29, p. 323-331, 2011.