

## Avaliação do potencial fitotóxico de *Persea venosa* Nees & Mart. (Lauraceae) sobre sementes e plântulas de diferentes espécies cultivadas

MENDES, C.E.<sup>1\*</sup>; CASARIN, F.<sup>1</sup>; SPERANDIO, S.L.<sup>1</sup>; MOURA, N.F.<sup>2</sup>; DENARDIN, R.B.N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Mestrado em Ciências Ambientais, CEP: 89809-000, Chapecó-Brasil. \*carol\_engquimica@yahoo.com.br <sup>2</sup>Fundação Universidade do Rio Grande (FURG), CEP: 95500-000, Santo Antônio da Patrulha-Brasil. <sup>3</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), CEP: 89812-000, Chapecó-Brasil.

**RESUMO:** Este estudo objetiva a análise dos efeitos alelopáticos de *Persea venosa* (pau-de-andrade) frente a diversas espécies cultivadas. Para os testes, foram utilizados extratos alcoólicos da casca do caule de pau-de-andrade, conforme sua utilização medicinal, em quatro concentrações. A atividade alelopática foi testada frente às cultivares de milho, soja, alface e rabanete. O experimento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes. A análise de cromatografia em camada delgada, utilizando-se sílica como fase estacionária e solventes de diferentes polaridades como fase móvel, foi utilizada para obtenção do perfil fitoquímico, sendo utilizados reveladores específicos para cada classe de metabólitos secundários testada. Observou-se que com o aumento da concentração do extrato de *P. venosa*, houve o aumento do número de plântulas anormais em todas as cultivares, chegando a percentuais de anormalidade de 100% para milho e soja, 93% para alface e 67,48% para rabanete na concentração de 160 g/L. Ademais, as anormalidades evidenciadas foram predominantes no sistema radicular das plântulas, ocasionando em todos os casos, necrose, truncamento, engrossamento, atrofia e aumento do número de pêlos absorventes. Devido à severidade com que os extratos afetaram o crescimento e a normalidade das plântulas, este estudo evidencia a possibilidade da ocorrência de citotoxicidade por parte da espécie *P. venosa*, vastamente utilizada na medicina tradicional.

Palavras-chave: Planta medicinal, *Persea venosa*, toxicidade, alelopatia.

**ABSTRACT: Evaluation of the phytotoxic potential of *Persea venosa* Ness & Mart. (Lauraceae) on seeds and seedlings of different species grown.** This study aims to analyze the allelopathic effects of *Persea venosa* (pau-de-andrade) on several cultivars. For the tests, we used alcoholic extracts from the bark of pau-de-andrade, according to their medicinal use in four concentrations. The allelopathic activity was tested on different cultivars of corn, soybeans, lettuce and radish. The experiment was completely randomized, with four replications of 50 seeds. The chromatographic analysis of a thin layer, using silica as the stationary phase and solvents of different polarities as the mobile phase, was used to obtain the phytochemical profile, using specific developers to each class of secondary metabolites tested. It was observed that with an increasing concentration of the extract of *P. venosa*, there was an increase in the number of abnormal seedlings in all cultivars, reaching percentages of abnormality of 100% for corn and soybeans, 93% for lettuce, and 67.48% for radish at a 160 g/L concentration. Furthermore, the evidenced abnormalities were predominant in the seedling root system, causing, in all cases, necrosis, truncation, atrophy and increased number of hairs. Due to the severity with which the extracts affected the growth of seedlings and their normality, this study highlights the possible occurrence of cytotoxicity by the *P. venosa* species, which is widely used in traditional medicine.

**Keywords:** Medicinal plant, *Persea venosa*, toxicity, allelopathy.

### INTRODUÇÃO

A possibilidade de plantas medicinais apresentarem certa toxidez aos consumidores é

um fato que preocupa agentes de saúde de todo o mundo. Atualmente, muitas espécies consideradas medicinais, oriundas da flora nativa brasileira

Recebido para publicação em 26/09/2011

Aceito para publicação em 08/11/2012

são consumidas com praticamente nenhuma comprovação científica com relação as suas propriedades farmacológicas, tampouco quanto a sua toxicidade.

Por este motivo, estudos vêm sendo realizados a fim de comprovar a potencialidade ou não, destas espécies causarem malefícios à saúde. Segundo Veiga Junior e colaboradores, a utilização de plantas medicinais tornou-se um problema de saúde pública, devido aos efeitos adversos que podem ocasionar, assim como ações sinérgicas com outros medicamentos e grande potencial de toxidez de certas classes de compostos presentes nestas plantas (Veiga Junior et al., 2005).

Neste âmbito, estudos alelopáticos de plantas medicinais frente a diferentes espécies são realizados como um estudo preliminar, para verificar possíveis efeitos danosos a células vegetais que, por consequência, podem se manifestar inclusive em células animais, como é o caso de *Casearia sylvestris* (Dickel et al., 2007; Souza et al., 2005), *Achillea millefolium* (Dalsenter et al., 2004; Haida et al., 2010), *Mikania glomerata* (Souza et al., 2005; Costa et al., 2008), *Cymbopogon citratus* (Fortes et al., 2009; Akinboro e Bakare, 2007). Ademais, muitas das classes de metabólitos secundários responsáveis por atividades medicinais e alelopáticas apresentam toxidez a células vegetais e animais (Souza et al., 2003) como a classe dos terpenos (Adams et al., 2011; Gminski et al., 2010), alcalóides (Mulac e Humpf, 2011; Rakba et al., 1999; Jiménez et al., 2008) e antraquinonas (Mueller e Stopper, 1999).

Espécies como soja (*Glycine max* L.), milho (*Zea mays* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.) são vastamente utilizadas em testes alelopáticos por serem espécies com características de germinação conhecidas (Brasil, 2009), o que facilita a identificação de anomalias. No caso da alface, esta espécie é utilizada como um bioindicador, pois é considerada uma espécie sensível comum em testes de alelopatia (Lima et al., 2011).

A espécie *Persea venosa* Nees & Mart. (Lauraceae), conhecida popularmente como pau-de-andrade ou canela-sebo é nativa do estado do Rio Grande do Sul (Brasil), com ocorrência também nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Paraná e Santa Catarina (Fior et al., 2007).

A casca do caule pau-de-andrade é vastamente utilizada na medicina tradicional para tratamento de úlceras, feridas e como cicatrizante (Mazza et al., 2000). Entretanto, até o momento não há estudos fitoquímicos e citotóxicos preliminares, que assegurem seu uso na medicina tradicional.

Aliado a este fato, segundo Leite (2000), *P. venosa* é considerada uma das espécies raras e

em extinção no Brasil. Esta espécie está presente na lista das espécies presumivelmente ameaçadas de extinção no estado de Minas Gerais e, no estado de São Paulo, encontra-se em perigo de extinção (Biodiversitas, 2010), o que justifica a importância do estudo desta espécie, pois pode-se incentivar a sua produção e utilização em reflorestamentos ou em áreas de recuperação.

Portanto, este estudo tem como objetivo principal a avaliação das interferências alelopáticas do extrato da casca de caule de *Persea venosa* em várias concentrações, na germinação e crescimento inicial de plântulas de diferentes espécies cultivadas.

## MATERIAL E MÉTODO

### Coleta da espécie e preparação dos extratos

Fragmentos da casca da espécie *Persea venosa* Ness & Mart. foram coletados na cidade de Alfredo Wagner-SC, em agosto de 2010, sendo a exsicata depositada no herbário do Instituto de Ciências Naturais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob o número ICN 168787.

Os extratos foram obtidos a partir da casca do caule de *P. venosa* onde se realizou a extração exaustiva com solvente metanol de 1 kg de casca, por três dias, com filtração e recolhimento periódico do filtrado. O extrato alcoólico obtido foi concentrado com auxílio de um Evaporador Rotativo sob temperatura de 40°C e vácuo de 600 mmHg. Com o extrato bruto concentrado foram preparados quatro extratos metanólicos, de concentração 20 g/L (Tratamento 2), 40 g/L (Tratamento 3), 80 g/L (Tratamento 4) e 160 g/L (Tratamento 5).

### Testes de germinação

Os testes de germinação foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ. Para tanto, foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max* L. – cv. Embrapa BRS-282), milho (*Zea mays* L. – cv. SCS-154 Fortuna), rabanete (*Raphanus sativus* L. – cv. Comum) e alface (*Lactuca sativa* L. – cv. Áurea).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 repetições de 50 sementes de cada uma das cultivares testadas e para cada um dos tratamentos, sendo considerado o Tratamento 1, aquele no qual as sementes receberam apenas água destilada, a fim de comparar o efeito dos extratos testados.

As sementes de rabanete e alface passaram por um período de pré-friagem durante cinco dias sob temperatura de 10°C para quebra de dormência. Para os testes, 15 mL dos extratos foram aplicados

em papéis Germitest, 12 horas antes da sementeira para total a evaporação do álcool. Posteriormente, foram acondicionadas em caixas Gerbox contendo o papel Germitest com a aplicação dos extratos e previamente umedecido com água destilada. As caixas foram transferidas para um germinador onde permaneceram por período de sete dias, a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 8 horas.

As sementes de soja e milho foram semeadas em rolos de papel Germinest contendo os extratos (também aplicados com 12 horas de antecedência, para evaporação do álcool) e umedecidos com água destilada para possibilitar a germinação, permanecendo em câmara de germinação sob temperatura constante de 25°C por sete dias.

Para melhor observação do efeito alelopático com relação ao crescimento das plântulas nas diferentes concentrações, mediu-se o comprimento da parte aérea e das raízes de 70 plântulas normais de soja e milho. Para as medições, utilizou-se régua milimetrada, considerando-se a parte aérea como região de transição da raiz até a inserção dos cotilédones e o comprimento da raiz como sendo região de transição da parte aérea até o ápice da raiz.

Para todos os testes, determinaram-se as quantidades de plântulas normais e anormais, sementes mortas e não germinadas, no sétimo dia do teste, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Considerou-se como germinada, toda a semente que apresentou tegumento rompido com emissão da raiz de aproximadamente 2 mm de comprimento (Ferreira & Borghetti, 2004) e plântula anormal como aquela que apresentou necrose, variação na densidade de pêlos ou engrossamento na raiz distinto da testemunha, ou ainda, deformações na parte aérea.

Os resultados, expressos em porcentagem, sofreram transformação angular pela fórmula  $y = \sqrt{\arcsen [\%/100]}$ , sendo que a análise da variância e as comparações entre médias foram através do teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, efetuadas com auxílio do Software Sanest.

#### **Análise fitoquímica preliminar**

O perfil fitoquímico do extrato da casca de *Persea venosa* foi realizado com o intuito de identificar previamente as classes de metabólitos secundários com potencialidade aleloquímica presentes nesta espécie.

Portanto, a fim de facilitar a identificação dos grupos presentes neste extrato, o mesmo foi fracionado com auxílio de solventes de polaridade crescente, hexano, clorofórmio (triclora-metano), acetato de etila e metanol, respectivamente.

Foram realizadas análises de seis grupos

de metabólitos secundários: taninos, terpenos, antraquinonas, cumarinas, flavonóides e alcalóides. Para a realização dos testes de caracterização, utilizou-se a metodologia descrita por Wagner & Bladt (1996), Moreira (1979), Lock de Ugaz (1988) e Matos (1997) via cromatografia em camada delgada. As frações hexânica, clorofórmica, acetática e metanólica foram aplicadas com auxílio de tubos capilares de vidro em placas cromatográficas de sílica-gel (Macherey-Nagel) de dimensões 5 x 6 cm, formando manchas semelhantes e regulares. Três placas foram eluídas com uma solução de 10% de metanol em clorofórmio (v/v) e as demais placas foram eluídas com 10% de metanol em acetato de etila (v/v) para devida separação dos compostos de cada uma das frações. Após a eluição e secagem, as mesmas foram expostas a luz ultravioleta (UV), sendo registrado os resultados. Cada placa foi borrifada com um dos reagentes de detecção, cuja presença ou ausência do aleloquímico foi identificada pelo aparecimento de coloração específica nas reações.

A detecção dos taninos foi realizada com solução de 10% de cloreto férrico acidificado, observando-se o aparecimento de cor azul esverdeado (verde para taninos condensados e azul para taninos hidrolisáveis) após aquecimento.

Para verificação da presença de terpenos utilizou-se o Reagente de Liebermann-Burchard, misturando-se 5mL de ácido sulfúrico concentrado em 45mL de anidrido acético, considerando-se o teste positivo para o aparecimento de coloração rosa, vermelha ou violeta (triterpenos) ou azul esverdeado (esteróides) após aquecimento.

O grupo das antraquinonas foi detectado através do Reagente de Bornträger, utilizando-se 10mL de hidróxido de amônio e 40mL de éter etílico. O teste é positivo para este grupo, caso apareça coloração vermelha ou rosa.

Para detecção de cumarinas, utilizou-se uma solução alcalina de 5% de hidróxido de potássio em metanol. A coloração azul após o aquecimento ou fluorescência sob luz UV, indica a presença deste grupo.

Para observação da presença de flavonóides, utilizou-se o Teste de Shinoda, misturando-se 1 g de cloreto de magnésio, 5mL de ácido clorídrico (37%) e 45mL de etanol, o qual resulta em coloração vermelha ou violeta caso o teste seja positivo.

Por fim, os alcalóides foram detectados com auxílio do Reagente de Dragendorff, o qual é obtido de 50% de uma solução A contendo 0,85 g de nitrato de bismuto, 10mL de ácido acético e 40 mL de água e, 50% de uma solução B contendo 8 g de iodeto de potássio e 20ml de água. O aparecimento de coloração laranja indica a presença desta classe de metabólitos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato bruto da casca de caule de *Persea venosa* inibiu significativamente ( $p < 0,05$ ) a germinação das sementes de milho, soja, alface e rabanete, sendo que a germinação variou de forma inversamente proporcional à concentração deste extrato.

O aumento da concentração do extrato de *P. venosa* resultou no aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do número de plântulas anormais de alface, exceto para as concentrações de 80 e 160 g/L as quais não apresentaram diferença entre si (Tabela 1). Apesar disso, o dano causado pelo extrato a 160 g/L foi considerável, tendo em vista a inexistência de plântulas normais e origem de 93% de plântulas anormais. O percentual de sementes mortas e não germinadas não se diferenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) da testemunha e desta forma, não é possível afirmar que estas foram influenciadas pelos extratos testados.

As anormalidades detectadas neste estudo foram mais evidentes nas raízes das plântulas, sendo caracterizada principalmente pela atrofia, necrose, engrossamento e endurecimento do ápice destas raízes, observando-se ainda que, com o aumento da concentração de extrato, esta característica tornou-se mais visível. Outras modificações morfológicas na raiz como, espessamento e aumento da densidade de pêlos absorventes com relação ao controle, também foram observados.

Inúmeros são os estudos que demonstram a potencialidade de espécies utilizadas na medicina tradicional, originarem efeitos danosos ao crescimento e germinação de outras espécies vegetais, sendo muitas vezes, este efeito acompanhado das mudanças morfológicas observadas neste estudo, como é o caso do estudo realizado por Maraschin-Silva & Áquila (2006) os quais, em seus testes com espécies nativas brasileiras observaram que, as plântulas de alface tratadas com extratos a 4% de *Erythroxylum argentinum* apresentaram raízes escurecidas e mais espessas quando comparadas ao controle. O tratamento com extrato de *Ocotea*

*puberula* a 4% resultou nas mesmas características, somando-se um aspecto frágil e quebradiço das raízes.

Segundo o estudo realizado por Leyser et al. (2009), o extrato aquoso de concentração 1% de *Ocotea odorifera* promoveu uma inibição 70% maior do que o controle para a germinação de aquênios de alface. Para a espécie *Cryptocarya moschata*, o extrato aquoso a 1% promoveu o mesmo efeito, mas com intensidade 77% superior a testemunha. Os autores observaram ainda que ocorreu a diminuição do hipocótilo e da radícula, embora a radícula tenha apresentado problemas de atrofiamento ou até inexistência em alguns casos.

Anomalias em plântulas de alface, resultantes de espécies do gênero *Persea* foram preconizadas por Borella et al. (2009), os quais observaram que, com o aumento da concentração do extrato aquoso de *Persea americana*, houve redução significativa do percentual de germinação da espécie testada, chegando a um índice de 11% de germinabilidade para o extrato contendo 8% de folhas secas de *P. americana*. Ademais, para o mesmo extrato, observaram a redução de aproximadamente 99% do comprimento da radícula e 98% do comprimento da parte aérea, ambos com relação ao controle. O aparecimento de plântulas anormais, com raízes primárias atrofiadas e defeituosas, com ausência de raiz secundária e necrose radicular também foi observado.

Neste estudo, aparentemente, as plântulas de rabanete sofreram maiores danos com o aumento da concentração do extrato de *P. venosa* (Tabela 2), tendo em vista que, para a concentração de 20 g/L, mais de 50% das plântulas já eram consideradas anormais e para concentração de 40 g/L somente 5% eram consideradas plântulas normais. Nas concentrações acima de 80 g/L não detectou-se nenhuma plântula normal. Foi verificado grande aumento nos percentuais de plântulas anormais.

O escurecimento da raiz, seguido de ruptura radicular também foram observadas nas plântulas de rabanete com os tratamentos testados,

**TABELA 1.** Percentual de plântulas normais e anormais, sementes mortas e não germinadas de alface para as cinco concentrações de extrato de *Persea venosa*.

Concentração [g/L]	Plântulas Normais	Plântulas Anormais	Sementes Mortas	Sementes Não Germinadas
0	85,00 <sup>a*</sup>	10,00 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>
20	79,00 <sup>a</sup>	15,00 <sup>b</sup>	2,00 <sup>a</sup>	4,00 <sup>a</sup>
40	62,00 <sup>b</sup>	33,00 <sup>c</sup>	2,00 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>
80	10,00 <sup>c</sup>	83,00 <sup>d</sup>	4,00 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>
160	0,00 <sup>d</sup>	93,00 <sup>d</sup>	4,00 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>

\*Médias na coluna, seguida de letra diferente indica diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey.

observando-se que com o aumento da concentração do extrato, maior foi o efeito deletério nas raízes.

Estudos anteriores obtiveram resultados semelhantes, como o realizado por Periotto et al. (2004) no qual extratos das folhas e caule de *Andira humilis* foram utilizados para testes de germinação de alface e rabanete. Para as sementes de rabanete, o único tratamento com inibição significativa em relação ao controle, foi aquele que utilizou extrato do caule de *A. humilis* em concentração de 16% (p/v). Apesar de uma baixa atividade alelopática aparente destes extratos, mesmo nos tratamentos que não resultaram na inibição da germinação, os autores relatam um visível escurecimento das sementes, algumas com protrusão radicular, coifa oxidada e escurecida, seguido da interrupção do crescimento radicular, amolecimento e degradação dos tecidos.

Extratos foliares de *Rollinia sylvatica* em concentração de 8% (folhas secas) resultaram em um percentual de germinação de rabanete de somente 7%, indicando um forte potencial alelopático desta espécie. Aliado a este fato, este tratamento promoveu a redução de aproximadamente 93,88% no comprimento da parte aérea e 98,82% no comprimento das raízes das plântulas de rabanete (Borella et al., 2010). Resultados semelhantes foram encontrados por Borella & Pastorini (2009) onde os extratos aquosos de raízes de *Solanum americanum* influenciaram na redução da porcentagem

de germinação de sementes de rabanete na concentração 8% em relação ao controle e por Gatti et al. (2004), em seus testes com *Aristolochia esperanzae*.

O percentual de plântulas anormais de milho é diretamente proporcional ao aumento da concentração dos extratos de *P. venosa*, conforme pode ser visualizado na Tabela 3. Observa-se ainda que os extratos não originaram sementes mortas e não germinadas, entretanto, pode-se dizer que em concentrações superiores a 80 g/L praticamente todas as plântulas são consideradas anormais.

De forma análoga aos demais casos, a anormalidade das plântulas foi mais evidente nas raízes, com ocorrência de atrofiamento, necrose e escurecimento radicular, assim como redução da densidade de pêlos absorventes.

Semelhante a este estudo, o extrato de girassol promove, a baixas concentrações, um maior efeito deletério ao comprimento da parte aérea de plântulas de milho, ao passo que, altas concentrações deste extrato, resultam em maior sensibilidade por parte das raízes (Roncatto & Viecelli, 2009).

De maneira geral, pode-se dizer que a raiz é mais sensível às substâncias presentes nos extratos em comparação à parte aérea e, portanto, a presença de anormalidade em raízes torna-se um fator determinante para o registro de anormalidade

**TABELA 2.** Percentual de plântulas normais e anormais, sementes mortas e não germinadas de rabanete para as cinco concentrações de extrato de *Persea venosa*.

Concentração [g/L]	Plântulas Normais	Plântulas Anormais	Sementes Mortas	Sementes Não Germinadas
0	63,00 <sup>a*</sup>	8,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	29,00 <sup>cb</sup>
20	29,00 <sup>b</sup>	56,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	15,00 <sup>a</sup>
40	5,00 <sup>c</sup>	71,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>a</sup>	24,00 <sup>b</sup>
80	0,00 <sup>d</sup>	73,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>a</sup>	27,00 <sup>b</sup>
160	0,00 <sup>d</sup>	67,00 <sup>bc</sup>	0,00 <sup>a</sup>	33,00 <sup>c</sup>

\* Médias na coluna, seguida de letra diferente indica diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey.

**TABELA 3.** Percentual de plântulas normais e anormais, sementes mortas e não germinadas de milho para as cinco concentrações de extrato de *Persea venosa*.

Concentração [g/L]	Plântulas Normais	Plântulas Anormais	Sementes Mortas	Sementes Não Germinadas
0	93,00 <sup>a*</sup>	6,97 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
20	85,99 <sup>a</sup>	13,78 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
40	70,47 <sup>b</sup>	29,39 <sup>c</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
80	2,92 <sup>c</sup>	97,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
160	0,00 <sup>d</sup>	100,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>

\* Médias na coluna, seguida de letra diferente indica diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey.

de plântulas (Chon et al., 2000). Segundo Chung e colaboradores, este efeito é mais pronunciado nas raízes devido ao seu contato direto e prolongado com os extratos (Chung et al., 2001).

Este efeito nas raízes também foi observado neste estudo, conforme expresso na Tabela 4. O aumento da concentração de extrato promoveu um efeito negativo ao comprimento das raízes mais significativo, do que ao comprimento da parte aérea. Para a concentração de 160 g/L obteve-se aproximadamente 75% de redução do comprimento da raiz em relação ao controle, ao passo que para a mesma concentração, o percentual de redução da parte aérea não chegou a 40%. Pode-se dizer ainda que, o aumento da concentração de extrato, reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o comprimento da raiz em todos os tratamentos, fato que não ocorreu na parte aérea, tendo em vista que o seu comprimento não variou significativamente da concentração de 80 g/L para 160 g/L.

Corroborando com este fato, segundo Brito (2010) a espécie conhecida como jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*), provoca uma redução de 30% na germinação de sementes de milho, além de promover uma redução do comprimento da parte aérea em 72,7% e 76,9% para o comprimento da radícula. Já o marmeleiro (*Croton sonderianus*) praticamente não interfere na germinação das

sementes de milho, mas apesar disso, promoveu a redução do comprimento da parte aérea em 46,15% e em 61,53% o comprimento da radícula.

Conforme a Tabela 5, para a soja, os extratos de *P. venosa* resultaram em um efeito menos deletério em comparação aos resultados obtidos com o milho, mas não menos problemáticos. Inclusive para esta cultivar, a anormalidade das plântulas foi diretamente proporcional a concentração do extrato, chegando a 100% de plântulas anormais para a concentração de 160 g/L. De forma análoga ao milho, os tratamentos não resultaram na morte ou inibição da germinação das sementes.

Idêntico aos casos anteriores, as anormalidade foram predominantes nas raízes, sendo observados os mesmos fatores de anomalias apresentados para o milho.

Fortes et al. (2009) ao realizarem testes para verificação do efeito alelopático de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e sabugueiro (*Sambucus australis*) em sementes de alface, soja e picão-preto, observaram especificamente que para a soja, em todas as concentrações testadas, o capim-limão não apresentou qualquer efeito sobre suas sementes. Em contrapartida, extratos de sabugueiro com concentração de 80 e 100% foram capazes de inibir aproximadamente 75% da germinação

**TABELA 4.** Percentual de redução do comprimento da raiz e parte aérea do milho nas cinco concentrações de extrato de *Persea venosa*.

Concentração [g/L]	Comprimento Parte Aérea [cm]	% Redução de P.A.**	Comprimento Raiz [cm]	% Redução de Raiz***
0	5,39 <sup>ab*</sup>	-	13,38 <sup>a</sup>	-
20	6,03 <sup>a</sup>	-11,87	13,34 <sup>a</sup>	0,30
40	5,19 <sup>b</sup>	3,71	11,14 <sup>b</sup>	16,74
80	3,91 <sup>c</sup>	27,46	7,42 <sup>c</sup>	44,54
160	3,31 <sup>c</sup>	38,59	3,29 <sup>d</sup>	75,41

\* Médias na coluna, seguida de letra diferente indica diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey.

\*\* Percentual de redução do comprimento da variável parte aérea (P.A.) com relação ao Tratamento 1.

\*\*\* Percentual de redução do comprimento da variável raiz com relação ao Tratamento 1.

**TABELA 5.** Percentual de plântulas normais e anormais, sementes mortas e não germinadas de soja para as cinco concentrações de extrato de *Persea venosa*.

Concentração [g/L]	Plântulas Normais	Plântulas Anormais	Sementes Mortas	Sementes Não Germinadas
0	85,00 <sup>a*</sup>	15,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
20	67,00 <sup>b</sup>	33,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
40	63,00 <sup>b</sup>	37,00 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
80	43,00 <sup>c</sup>	57,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
160	0,00 <sup>d</sup>	100,00 <sup>d</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>

\*Médias na coluna, seguida de letra diferente indica diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey.

das sementes de soja e ainda, reduzir em 47% a velocidade média de germinação destas sementes.

No estudo realizado por Corsato et al. (2010), extratos das folhas de girassol (*Helianthus annuus*) em diferentes concentrações, interferiram na germinação das sementes de soja convencional (CD232) e transgênica (CD213RR). Extratos aquosos de concentração 80 e 100% foram capazes de inibir parcialmente a germinação da soja convencional, sendo que para a soja transgênica, apenas a concentração de 100% do extrato de girassol, resultou em uma inibição significativa em relação ao controle. Apesar da variável de percentual de germinação ter sido pouco afetada pelos extratos, a velocidade de germinação e o comprimento médio das raízes, foram afetados significativamente em concentrações superiores a 40% para a soja transgênica.

Conforme esperado (Tabela 6), o comprimento radicular da soja foi afetado de forma mais significativa com o aumento dos extratos, do que a parte aérea. O percentual de redução do comprimento da parte aérea foi semelhante ao encontrado para o milho, chegando próximo a 40% de inibição. Já o comprimento da raiz, para a maior concentração testada, resultou em

aproximadamente 68% de inibição do comprimento.

Segundo o estudo realizado por Rogerio et al. (2009) o extrato aquoso de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) também afeta o comprimento da radícula de soja, reduzindo significativamente em 14,1% e 13,8% o comprimento em concentrações de 3 e 5% respectivamente.

Como é possível visualizar na Tabela 7, o extrato da casca de *P. venosa* possui inúmeras classes de metabólitos secundários, dentre elas, taninos, terpenos, antraquinonas, flavonóides e alcalóides. Levando-se em consideração a possibilidade de infinitas interações entre estes metabólitos, torna-se impossível inferir quais são as classes que afetaram diretamente a germinação das espécies testadas. Em contrapartida, muitos são os estudos que evidenciam as alterações metabólicas de espécies vegetais devido à presença destas classes de aleloquímicos.

Sabe-se, por exemplo, que o crescimento e a reprodução de espécies vegetais dependem em grande parte, da absorção de íons minerais pelas raízes sendo que, segundo o estudo realizado por Balke (1985) ácidos fenólicos e flavonóides inibem a absorção destes minerais pelas raízes das plantas, através da interrupção das funções normais da

**TABELA 6.** Percentual de redução e comprimento da raiz e parte aérea da soja nas cinco concentrações de extrato de *Persea venosa*.

Concentração [g/L]	Comprimento	% Redução de P.A.**	Comprimento	% Redução de Raiz***
	Parte Aérea [cm]		Raiz [cm]	
0	5,39 <sup>ab*</sup>	-	13,38 <sup>a</sup>	-
20	6,03 <sup>a</sup>	-11,87	13,34 <sup>a</sup>	0,30
40	5,19 <sup>b</sup>	3,71	11,14 <sup>b</sup>	16,74
80	3,91 <sup>c</sup>	27,46	7,42 <sup>c</sup>	44,54
160	3,31 <sup>c</sup>	38,59	3,29 <sup>d</sup>	75,41

\* Médias na coluna, seguida de letra diferente indica diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey.

\*\* Percentual de redução do comprimento da variável parte aérea (P.A.) com relação ao Tratamento 1.

\*\*\* Percentual de redução do comprimento da variável raiz com relação ao Tratamento 1.

**TABELA 7.** Perfil fitoquímico demonstrando a presença (+) ou ausência (-) de metabólitos secundários no extrato bruto fracionado de *Persea venosa*.

Metabólitos secundários	Frações do extrato bruto			
	Hexânica	Clorofórmica	Acetática	Metanólica
Taninos	-	+	-	-
Terpenos	+	+	-	-
Antraquinonas	+	+	+	-
Cumarinas	-	-	-	-
Flavonóides	-	+	+	-
Alcalóides	+	+	-	-

membrana de células vegetais. Estes aleloquímicos podem diminuir o teor de ATP de células, inibindo o transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa, as quais são as duas funções das membranas mitocondriais, além de promoverem alterações na permeabilidade das membranas aos de íons minerais.

De maneira geral, compostos com atividade alelopática podem afetar as características citológicas, a permeabilidade de membranas, a absorção de minerais, os fitormônios, a germinação, a respiração, atividades enzimáticas e divisões celulares de outras espécies vegetais. Estas modificações em nível molecular refletem nos efeitos visíveis como o atrofiamento, necrose e outras alterações morfológicas de raízes e parte aérea das plantas (Rizvi & Rizvi, 1992).

Como pode ser observado para todas as cultivares testadas, as raízes das plântulas foram mais afetadas pelos extratos, sendo que segundo Cruz-Ortega e colaboradores, fatores como o escurecimento, endurecimento e a fragilidade das raízes são resultantes da ação de substâncias tóxicas presentes nos extratos (Cruz-Ortega et al., 1998). Além disso, a ocorrência de redução de tamanho e necrose de raízes pode ser oriunda da ação de saponinas (Soares & Vieira, 2000), classe de compostos não testada neste estudo.

Por fim, o efeito deletério ocasionado pelo extrato de *P. venosa* as cultivares testadas é um indício de toxicidade a células vegetais por parte desta espécie a qual é vastamente utilizada na medicina tradicional. Entretanto, é evidente a necessidade de testes para verificação dos níveis de citotoxicidade e genotoxicidade por parte deste extrato.

Portanto, conclui-se neste estudo que o extrato da casca de *Persea venosa* afetou significativamente ( $p < 0,05$ ) a germinação das cultivares testadas ocasionando anormalidades nas plântulas, sendo este fator diretamente proporcional ao aumento da concentração do extrato.

As cultivares soja e milho foram as mais afetadas com relação ao percentual de anormalidade. Em todos os casos, as anormalidades foram mais evidenciadas no sistema radicular ocorrendo necrose, truncamento, escurecimento, atrofia e redução de pêlos absorventes com relação ao controle. De forma análoga, estes sintomas foram mais evidentes com o aumento da concentração. Para soja e milho, o comprimento das raízes é mais afetado do que a parte aérea para o extrato testado.

Das classes de metabólitos secundários presentes no extrato de pau-de-andrade, muitos possuem atividade alelopática e toxicidade

comprovada, entretanto não é possível inferir qual classe contribuiu de forma mais significativa nos resultados obtidos.

Devido à notável sensibilidade demonstrada pelas cultivares frente ao extrato de *P. venosa*, tornam-se importantes estudos para verificação e quantificação de citotoxicidade e genotoxicidade por parte deste extrato.

## AGRADECIMENTOS

A FAPESC pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIA

- ADAMS, T.B. et al. The FEMA GRAS assessment of aliphatic and aromatic terpene hydrocarbons used as flavor ingredients. **Food Chem. Toxicol.**, v.49, n.10, p. 2471–2494, 2011.
- AKINBORO, A.; BAKARE, A.A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. **J. Ethnopharmacol.**, v.112, n.3, p.470-475, 2007.
- BALKE, N.E. Effects of allelochemicals on mineral uptake and associated physiological processes. **ACS Symposium Series**, v.268, n.11, p.161-178, 1985.
- BIODIVERSITAS. **Lista 2: lista das espécies presumivelmente ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais**. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br/listasmg/MG-especies-presumivelmente-ameacadas.pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2011.
- BORELLA, J.; PASTORINI, L.H. Interferência alelopática de extratos aquosos de raízes de erva-moura (*Solanum americanum*) sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, v.3, n.2, p.31-36, 2009.
- BORELLA, J.; TUR, C.M.; PASTORINI, L.H. Atividade alelopática de extratos aquosos de folhas de *Rollinia sylvatica* sobre a germinação e o crescimento inicial do rabanete. **Revista Biociências - UNITAU**, v.16, n.2, p.94-101, 2010.
- BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. **R. bras. Bioci.**, v.7, n.3, p.260-265, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análises de sementes**. Departamento de Defesa Vegetal. 2009, 398p.
- BRITO, I.C.A. **Alelopatia de espécies arbóreas da caatinga na germinação e vigor de sementes de feijão macaçar e de milho**. 2010. 53 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 2010.
- CHON, S.U.; COUTTS, J.H.; NELSON, C.J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v.92, n.4, p.715-720, 2000.
- CHUNG, I.M.; AHN, J.K.; YUN, S.J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v.20, n.10, p.921-928, 2001.

- CORSATO, J.M.; FORTES, A.M.T.; SANTORUM, M.; LESZCZYNSKI. Efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de girassol sobre a germinação de soja e picão-preto. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n.2, p.353-360, 2010.
- COSTA, R.J. et al. *In vitro* study of mutagenic potential of *Bidens pilosa* Linné and *Mikania glomerata* Sprengel using the comet and micronucleus assays. **J. Ethnopharmacol.**, v.118, n.1, p.86-93, 2008.
- CRUZ-ORTEGA, R. et al. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyios deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* e *Curcubita ficifolia*. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, n.12, p.2039-2057, 1998.
- DALSENTER, P.R. et al. Reproductive evaluation of aqueous crude extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in Wistar rats. **Reproductive Toxicology**, v.18, n.6, p. 819-823, 2004.
- DICKEL, M.L. et al. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v.109, n.1, p. 60-71, 2007.
- FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.
- FIOR, C.S. et al. Aspectos da propagação de *Persea willdenovii* Lostrerm. (Lauraceae). **Rodriguésia**, v.58, n.1, p.27-44, 2007.
- FORTES, A.M.T. et al. Efeito alelopático de sabugueiro e capim-limão na germinação de picão-preto e soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.31, n.2, p.241-246, 2009.
- GATTI, A.B.; PEREZ, S.C.J.G.A.; LIMA, M.I.S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta bot. bras.**, v.18, n.3, p.459-472, 2004.
- GMINSKI, R.; TANG, T.; SUNDERMANN, V.M. Cytotoxicity and genotoxicity in human lung epithelial A549 cells caused by airborne volatile organic compounds emitted from pine wood and oriented strand boards. **Toxicology Letters**, v.196, n.1, p.33-41, 2010.
- HAIDA, K.S. et al. Efeito alelopático de *Achillea millefolium* L. sobre sementes de *Lactuca sativa* L. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.3, n.1, p.101-109, 2010.
- JIMÉNEZ, J. Cytotoxicity of the  $\alpha$ -carboline alkaloids harmine and harmaline in human cell assays in vitro. **Exp. Toxicol. Pathol.**, v.60, n.4-5, p.381-389, 2008.
- LEITE, E.C. **A vegetação de uma Reserva Biológica Municipal: contribuição ao manejo e à conservação da Serra do Japi, Jundiá, SP**. 2000. 189 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2000.
- LEYSER, G. et al. Bioensaios de alelopátia com extrato aquoso de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer e *Cryptocarya moschata* Nees & Mart. Ex Ness na germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 10, 2009, São Lourenço-MG. **Resumos...** São Lourenço: Anais do X Congresso de Ecologia do Brasil, 2009.
- LIMA, C.P. et al. Efeito dos extratos de duas plantas medicinais do gênero *Bidens* sobre o crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* L. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 32, n.1, p. 83-87, 2011.
- LOCK de UGAZ, O. **Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales**. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú, 1988. p. 1-7.
- MAGIERO, E.C. et al. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.11, n.3, p.317-324, 2009.
- MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M.E.A. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. **R. Árvore**, v.30, n.4, p.547-555, 2006.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997. 141 p.
- MAZZA, M.C.M. et al. Potencial de aproveitamento medicinal de espécies do sub-bosque dos bracingais da região de Curitiba, PR. **Embrapa Florestas**, Colombo-PR, Documentos 43, 2000.
- MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Trib. Farmac.**, v. 47, n. 1, p. 1-19, 1979.
- MUELLER, S.O.; STOPPER, H. Characterization of the genotoxicity of anthraquinones in mammalian cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v.1428, n.2-3, p.406-414, 1999.
- MULACA, D.; HUMPF, H.U. Cytotoxicity and accumulation of ergot alkaloids in human primary cells. **Toxicology**, v.282, n.3, p.112-121, 2011.
- PERIOTTO, F.; PEREZ, S.C.J.G.A.; LIMA, M.I.S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta bot. bras.**, v.18, n.3, p.425-430, 2004.
- RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Eds.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p.443-472.
- ROGERIO, E.C.; MARIANO, W.C.; LIMBERGER, D.C.; BIDO, G.S. Os efeitos alelopáticos do extrato de pata de vaca (*Bauhinia forticata* BENTH) em sementes de soja (*Glycine max* MERR). In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 5, 2009, Maringá-PR. **Resumos...** Maringá: Anais do Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, 2009.
- RAKBA, N. et al. Bgugaine, a pyrrolidine alkaloid from *Arisarum vulgare*, is a strong hepatotoxin in rat and human liver cell cultures. **Toxicology Letters**, v.104, n.3, p.239-248, 1999.
- RONCATTO, F.; VIECELLI, C.A. Adubação verde de girassol sobre o desenvolvimento do milho. **Cultivando o saber**, v.2, n.3, p.1-6, 2009.
- SOARES, G. L. G.; VIEIRA, T. R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids.) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, v.7, n.1, p.180-197, 2000.
- SOUZA, S.A.M. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul sobre a germinação de sementes de alface. **Publ. UEPG Ci.**

- Biol. Saúde**, v.11, n.3, p.29-38, 2005.
- SOUZA, L.S. et al. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim brachiaria (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**. v.21, n.3, p. 343-54, 2003.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Quim. Nova**, v.28, n.3, p.519-528, 2005.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis - A thin layer chromatography atlas**. 2.ed. Berlim: Springer, 1996, 384 p.