
INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO E DO
CRESCIMENTO RADICULAR DE ALFACE (CV.
"GRAND RAPIDS") POR EXTRATOS AQUOSOS DE
CINCO ESPÉCIES DE *Gleicheniaceae*

GERALDO LUIZ GONÇALVES SOARES

Dr., Prof. Adj., DBot, ICB, U.F. J. F.

TATIANA REIS VIEIRA

Lic. em Ciênc. Biol., DBot, ICB, U.F. J. F.

R E S U M O

A presença de atividade alelopática em cinco espécies de *Gleicheniaceae* (*Dicranopteris flexuosa* (Schrader) Underw., *Gleicheniella pectinata* (Willd.) Ching, *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching, *Sticherus penniger* (Mart.) Copel., *Sticherus nigropaleaceus* (Sturm.) J. Prado & Lellinger) foi investigada através da ação de extratos aquosos de frondes verdes e de frondes senescentes sobre a germinação e desenvolvimento radicular de alface (*Lactuca sativa* L., cv. "grand rapids"). Diferenças significativas entre o controle (água destilada) e os extratos aquosos foram detectadas. Efeitos específicos foram distinguidos pelo teste de comparações múltiplas de Tukey (HSD). Observou-se redução significativa da germinação e do crescimento radicular na maioria dos tratamentos. De maneira geral, os extratos aquosos de frondes verdes mostraram-se mais ativos.

Palavras-chaves: Pteridophyta, *Gleicheniaceae*, alelopatia.

A B S T R A C T

INHIBITIONS OF GERMINATION AND
RADICULAR GROWTH OF LETTUCE (CV.
GRAND RAPIDS) BY AQUEOUS EXTRACTS
OF FIVE SPECIES OF *Gleicheniaceae*

The allelopathic activity in five species of *Gleicheniaceae* (*Dicranopteris flexuosa* (Schrader) Underw., *Gleicheniella pectinata* (Willd.) Ching, *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching, *Sticherus penniger* (Mart.) Copel., *Sticherus nigropaleaceus* (Sturm.) J. Prado & Lellinger) was studied through the action of aqueous extracts of green and senescent fronds on the germination and the development of lettuce roots (*Lactuca sativa* L. - cv. grand rapids). Significant differences between the control (distillate water) and aqueous extracts were detected. Specific effects were detected by the test of multiple comparisons of Tukey (HSD). It was observed a significant reduction of germination and root growth in the majority of the treatments. Generally, the aqueous extracts of green fronds showed more activity.

Key words: Pteridophyta, *Gleicheniaceae*, allelopathy.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista da Ecologia Vegetal, a alelopatia pode ser definida como um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados impedindo a germinação e/ou desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas (KUITERS *et al.*, 1986). O termo alelopatia foi criado por MOLISCH (1937) (*apud* ALMEIDA, 1988) e, de acordo com esse autor, engloba todas as interferências desencadeadas entre microorganismos e entre plantas, provocadas pela liberação de substâncias químicas através de tecidos vivos ou mortos.

As substâncias alelopáticas classificam-se entre as substâncias aleloquímicas. Esse último termo pode abranger a totalidade de metabólitos secundários produzidos por um organismo vegetal. Tais metabólitos são responsáveis por diversas interações com a planta com o meio (HARBORNE, 1988; JANZEN, 1980).

Ainda não se conhece com exatidão o papel das substâncias do metabolismo secundário. No passado essas substâncias foram encaradas como resíduos do metabolismo celular que eram armazenados em vacúolos, evitando assim a autotoxidez (ALMEIDA, 1988). Os metabólitos secundários também já foram vistos simplesmente como substâncias de reserva (MULLER e CHOU, 1972; WHITTAKER, 1970). ALMEIDA (1988) destaca como a principal função dos produtos aleloquímicos a de proteção dos organismos que os produzem.

Atualmente acredita-se que os produtos secundários são biossintetizados na célula vegetal com finalidades específicas, obedecendo estritamente o seu código genético, e que os fatores do ambiente só modulem a sua produção (SWAIN, 1977; GOTTIEB, 1982; LUCKNER, 1990). GOTTLIEB *et al.* (1996) destaca a atividade antioxidante dos metabólitos secundários (denominados por ele de metabólitos especiais) e afirma que a proteção contra os efeitos

deletérios do oxigênio é a função principal dessas substâncias.

Os metabólitos secundários podem atuar em diversos processos do organismo vegetal, desempenhando deste modo uma infinidade de funções. Essas substâncias podem, por exemplo, prevenir a decomposição das sementes e interferir na sua dormência e também na dormência das gemas (ex. ácidos fenólicos). São inúmeros os exemplos de sua atuação sobre o comportamento de organismos associados, isto é, outras plantas, microorganismos, insetos e até animais superiores, incluindo o homem (HARBORNE, 1988).

Os metabólitos secundários podem interferir no crescimento das plantas e a detecção desses efeitos tóxicos é o ponto de partida para a identificação de espécies alelopáticas (RICE, 1984). Estudos desse tipo envolvendo pteridófitas restringem-se, praticamente, à espécie *Pteridium aquilinum* (L) Kuhn, uma samambaia cosmopolita e extremamente comum no Brasil, cuja a capacidade de colonizar ambientes impedindo o estabelecimento de outras espécies vegetais já foi relacionada ao seu efeito alelopático (GLIESSMAN & MULLER, 1978).

O objetivo do presente trabalho é a avaliação do efeito alelopático de espécies da família Gleicheniaceae, comuns na Zona da Mata de Minas Gerais. Tais espécies apresentam um comportamento consoante com a expectativa de atividade alelopática, ou seja, formação de populações densas e sinais de inibição do desenvolvimento de outras espécies vegetais em condições de campo.

METODOLOGIA

Para avaliação do potencial alelopático de cinco espécies de Gleicheniaceae nativas da Zona da Mata de Minas Gerais (Tabela 1) foram escolhidas populações no Campus da UFJF. Espécimens de todas as espécies estudadas

foram herborizados e depositados na coleção de pteridófitas do Herbário Leopoldo Krieger/UFJF (CESJ).

Foram realizadas coletas tanto de frondes verdes quanto de frondes senescentes, com o intuito de se estabelecer o possível mecanismo de liberação de toxinas para o solo. Os extratos aquosos de frondes verdes e de frondes senescentes das espécies estudadas foram obtidos por maceração estática em água destilada a temperatura ambiente por 24 h. Todos os extratos foram feitos obedecendo-se a proporção de 1000 ml de água destilada para 100 g de material vegetal.

Utilizou-se em modelo totalmente aleatório para os ensaios de germinação. Amostras de 50 sementes de alface (*Lactuca sativa* L. cv. "Grand Rapids") foram distribuídas em placas de Petri sobre papel filtro embebido com 5 ml dos extratos. Água destilada foi usada como controle e cada tratamento foi realizado em cinco repetições. Os testes de germinação foram realizados a temperatura ambiente e sob iluminação contínua, proporcionada por lâmpadas fluorescentes e após 72h da a sementeira foi feita a contagem do número de sementes germinadas. Nessa ocasião foram realizadas medidas do comprimento radicular das plântulas obtidas.

O tabelamento dos resultados e as análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa SPSS 7.0 ("student version"). Tanto as diferenças entre o controle (H₂O destilada) e os tratamentos (extratos aquosos de frondes verdes e de frondes senescentes), quanto os efeitos específicos, isto é,

diferenças entre os tratamentos, foram distinguidos pelo teste de comparações múltiplas HSD de Tukey (p= 0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observados efeitos significativos de inibição da germinação de sementes de alface para os extratos de frondes verdes de todas espécies testadas e para os extratos de frondes senescentes de *D. flexuosa*, *S. bifidus* e *S. nigropaleaceus* (Tabela 2). Apesar de praticamente todos os extratos apresentarem-se estatisticamente diferentes do controle, poucos deles se mostraram pouco diferentes entre si, o que pode ser observado no diagrama tipo "box-plot" gerado com os resultados desse ensaio (Figura 1).

Entretanto, em quase todas as espécies é ligeiramente maior a atividade dos extratos de frondes verdes sobre a germinação (Tabela 2, Figura 1). O somatório dos efeitos dos extratos de frondes verdes e senescentes, independente da espécie analisada, reforça essa afirmação (Figura 2). Portanto, é possível que o processo de produção e liberação de metabólitos alelopáticos nessas espécies ocorra, principalmente, através de tecidos vivos.

Observou-se também a redução significativa no comprimento das radículas, principalmente nos tratamentos com extratos aquosos de frondes verdes de todas espécies testadas (Tabela 3). Este

Tabela 1. Relação das espécies de Gleicheniaceae estudadas.

ESP CIE	C DIGO	REG. CESJ*
<i>Dicranopteris flexuosa</i> (Schrader) Underw.	Dflexu	29880
<i>Gleicheniella pectinata</i> (Willd.) Ching	Gpecti	29882
<i>Sticherus bifidus</i> (Willd.) Ching	Sbifid	29883
<i>Sticherus nigropaleaceus</i> (Sturm.) J. Prado & Lellinger	Snigri	29884
<i>Sticherus penniger</i> (Mart.) Copel.	Spenni	29881

* Herbário Leopoldo Krieger/UFJF

resultado permite ver com maior nitidez a diferença de atividades entre os tipos de extrato. Os tratamentos com extratos de frondes senescentes mostraram-se menos ativos, excetuando-se os provenientes de *S. bifidus*.

Em algumas das espécies testadas, o material senescente não se apresentou homogêneo. Para *S. bifidus*, especialmente, frondes em estágio avançado de senescência apresentavam ainda muitas áreas verdes, sugerindo alguma atividade metabólica nesse material.

Tal fato pode justificar a proximidade das médias de germinação obtidas para os extratos de *S. bifidus* (frondes verdes= 38,60 % e frondes senescentes=39,81 %). Essa é também a única das espécies testadas cujo extrato de frondes senescentes exibiu a maior inibição do crescimento radicular de plântulas de alfaca (frondes verdes= 0,64 cm e frondes senescentes= 0,33 cm).

Apesar da técnica branda de extração utilizada, foi obtida uma redução acentuada na germinação das sementes de alfaca para praticamente todos os tratamentos. Portanto, as substâncias tóxicas são provavelmente muito ativas e/ou muito polares. As plântulas que se desenvolveram sofreram uma forte interferência no crescimento radicular. O efeito tóxico observado sobre as radículas assemelha-se ao dano provocado pela ação detergentes, caracterizado pela redução do seu tamanho e pelo seu aspecto necrosado.

Todos os extratos aquosos de frondes verdes, e alguns extratos de frondes senescentes, das espécies de Gleicheniaceae estudadas exibiram formação de espuma persistente. Esse fato é um indicativo da presença de substâncias anfipolares, tais como saponinas ou outro tipo de terpenóide glicosilado.

Vários diterpenóides glicosilados foram recentemente isolados em espécies Gleicheniaceae (AOKI *et al.*, 1997; SHIOJIMA *et al.*, 1995; WADA *et al.*, 1998). Na Tabela 4 são mostrados alguns exemplos de diterpenóides dessas plantas. Segundo RAJA *et al.* (1995) essas substâncias, apesar de raras em outras pteridófitas, são excelentes

marcadores taxonômicos para espécies de *Dicranopteris*.

Foi observado que esses derivados diterpenóides exibem forte efeito fisiológico sobre plântulas de alfaca, estimulando o crescimento caulinar e/ou inibindo fortemente o crescimento radicular (MUNESADA, 1992; AOKI *et al.*, 1997). A intensidade de tais efeitos é dependente da concentração das substâncias (AOKI *et al.*, 1997).

Os extratos testados durante esse estudo exibiram atividade semelhante à produzida pelo (6S,13S)-6-O-[b-D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)-a-L-rhamnopiranosil]-13-O-[a-L-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 4)-b-D-fucopiranosil]-clerodano-3,14-dieno sobre plântulas de alfaca (AOKI *et al.*, 1997).

Esses dados sugerem que as espécies *D. flexuosa*, *G. pectinata*, *S. bifidus*, *S. penniger* e *S. nigropaleaceus* sejam um material interessante para prospecção de diterpenóides glicosilados. Os resultados desses estudos serão importantes não só para o aprofundamento do conhecimento da ecologia química de espécies de Gleicheniaceae como para o conhecimento das polarizações quimiotaxonômicas nesse grupo de pteridófitas.

Peres *et al.* (1998) detectou efeito alelopático nos extratos aquoso e butanólico de *Gleichenia pectinata* (sin. *Gleicheniella pectinata*). Foi demonstrado nesse trabalho que, dependendo da época de coleta das frondes, da idade das frondes e da semente testada (*Clidemia hirta* ou *Lactuca sativa*), o extrato de *G. pectinata* pode exibir efeito estimulante ou inibidor. Mais uma vez, fica clara a natureza polar da(s) substância(s) ativa(s), corroborando com as observações obtidas no presente estudo.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos são conclusivos na demonstração dos efeitos tóxicos dos extratos aquosos de espécies de Gleicheniaceae

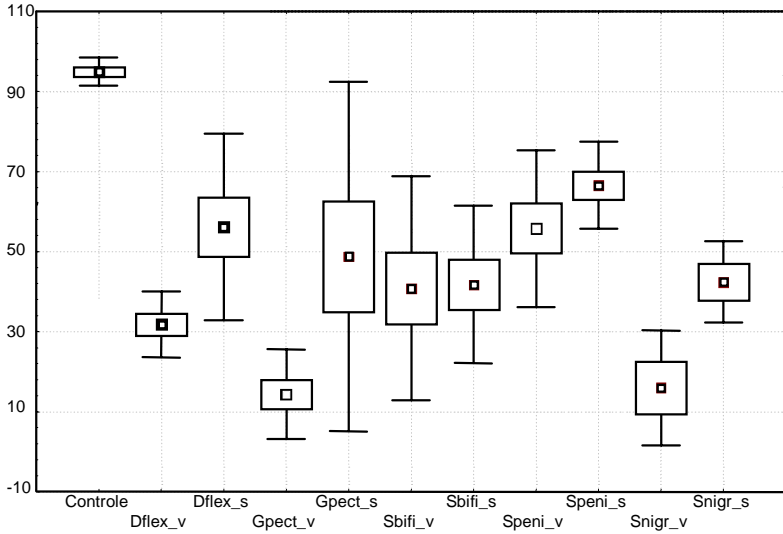


Figura 1. Gráfico tipo box-plot representando as distribuições dos valores de percentagem de germinação de sementes de alface cv “Grand Rapids” tratadas com extratos aquosos de espécies de Gleicheniaceae. A linha vertical representa o desvio padrão, o retângulo corresponde ao erro padrão e o quadrado à média. Os códigos das espécies encontram-se na Tabela 1, as letras após esses códigos referem-se ao tipo de extrato (v= extrato de frondes verdes, s= extrato de frondes senescentes).

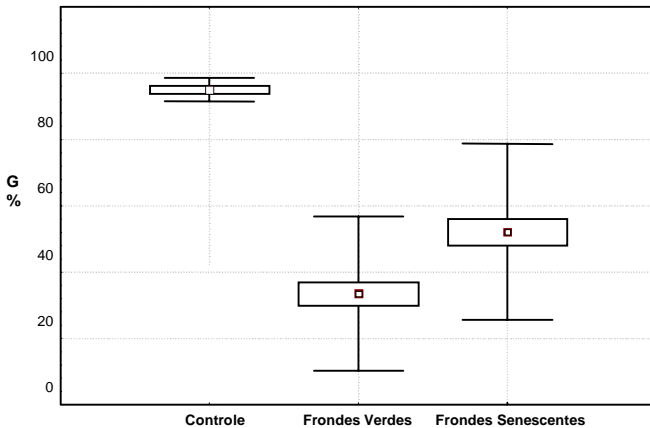


Figura 2. Gráfico tipo box-plot representando as distribuições dos valores de percentagem de germinação de sementes de alface cv “Grand Rapids” tratadas com extratos aquosos de espécies de Gleicheniaceae, evidenciando a diferença entre os tratamentos “fronde verde” e “fronde senescente”.

Tabela 2. Resultados da análise pelo teste HSD de Tukey* para o ensaio de germinação de alface “Grand Rapids” com extratos aquosos de frondes de espécies de Gleicheniaceae.

Tratamentos	H ₂ O	Dflexu_v	Dflexu_s	Gpecti_v	Gpecti_s	Sbifid_v	Sbifid_s	Snigri_v	Snigri_s	Spenni_v	Spenni_s
Médias (%)	96,80	32,80	55,60	15,10	48,60	38,60	39,81	17,10	41,00	54,80	67,98
	H ₂ O	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
		Dflexu_v	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
			Dflexu_s	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
				Gpecti_v	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
					Gpecti_s	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
						Sbifid_v	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
							Sbifid_s	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
								Snigri_v	<0,05	<0,05	<0,05
									Snigri_s	>0,05	<0,05
										Spenni_v	>0,05

*resultados < 0,05 (negrito) indicam efeito significativo; Obs: Códigos na Tabela 1, as letras s e v significam extrato de frondes verdes e senescentes, respectivamente.

Tabela 3. Resultados da análise pelo teste HSD de Tukey* referente ao efeito dos extratos aquosos de frondes de espécies de Gleicheniaceae sobre o comprimento das radículas de alface “Grand Rapids”.

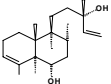
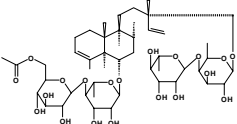
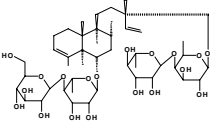
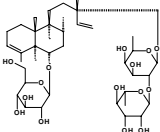
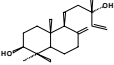
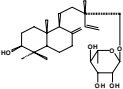
Tratamentos	H ₂ O	Dflexu_v	Dflexu_s	Gpecti_v	Gpecti_s	Sbifid_v	Sbifid_s	Snigri_v	Snigri_s	Spenni_v	Spenni_s
Médias (cm)	1,89	0,34	1,52	0,01	0,99	0,69	0,34	0,33	1,43	0,33	1,50
	H ₂ O	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05
		Dflexu_v	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
			Dflexu_s	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05
				Gpecti_v	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
					Gpecti_s	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
						Sbifid_v	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
							Sbifid_s	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
								Snigri_v	<0,05	>0,05	<0,05
									Snigri_s	<0,05	>0,05
										Spenni_v	<0,05

*resultados < 0,05 (negrito) indicam efeito significativo; Obs: Códigos na Tabela 1, as letras s e v significam extrato de frondes verdes e senescentes, respectivamente.

nativas da Zona da Mata de Minas Gerais sobre sementes e plântulas de alface. Essa toxidez pode ser um dos fatores responsáveis pela

elevada capacidade exibida por essas plantas em colonizar ambientes degradados e com alta atividade antrópica.

Tabela 4. Derivados diterpenoídicos produzidos por espécies de Gleicheniaceae

NOME TRIVIAL	ESTRUTURA	ESP CIE	REF.
(6S, 13S)-clerodano-3,14-diene-6,13-diol		<i>Dicranopteris pedata</i> <i>Gleichenia japonica</i>	AOKI et al. 1997
(6S, 13S)-[6-O-acetil-D-Glu-(1→4)-L-Rha]-13-[L-Rha-(1→4)-β-D-Fuc]-clerodano-3,14-diene		<i>Dicranopteris pedata</i> <i>Dicranopteris linearis</i> var. <i>brevis</i> <i>Dicranopteris linearis</i> var. <i>tenuis</i> <i>Dicranopteris linearis</i> var. <i>sebastiania</i>	RAJA et al. 1995
(6S, 13S)-6-O-[β-D-Glu-(1→4)-α-L-Rha]-13-O-[α-L-Rha-(1→4)-β-D-Fuc]-clerodano-3,14-diene		<i>Dicranopteris pedata</i>	AOKI et al. 1997
(6S, 13S)-6-O-[β-Glu]-13-O-[β-Fuc-(1→2)-α-Rha]-clerodano-3,14-diene		<i>Dicranopteris pedata</i>	AOKI et al. 1997
(3R,3S)-labdano-8(17), 14-diene-3,13-diol [=(+)-3β-hydroximanol]		<i>Gleichenia japonica</i>	MUNESADA et al. 1992
13-O-rhamnopyranosil-(+)-3β-hidroximanol		<i>Gleichenia japonica</i>	MUNESADA et al. 1992

LITERATURA CITADA

ALMEIDA, F.S. A Alelopatia e as Plantas, IAPAR, Londrina, 1988, 60pp.

AOKI, T., OHRO, T., HIRAGA, Y., SUGA, T., UNO, M., OHTA, S. Biologically active clerodane-type diterpene glycosides from the root-stalks of *Dicranopteris pedata*. *Phytochemistry*, v. 46, n. 5, 1997, p. 839-844.

GLIESSMAN, S. R. & MULLER, C. H. The

allelopathic mechanisms of dominance in bracken (*Pteridium aquilinum*) in southern California. *J. Chem. Ecol.* v. 4, n. 3, 1978, p. 337-362.

GOTTLIEB, O.R. *Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology: an Essay into a Novel Botanical Discipline*, Springer-Verlag, Berlin, 1982, 181pp.

GOTTLIEB, O.R., KAPLAN, M.A.C. & BORIN, M.R. DE M.B. *Biodiversidade: Enfoque Químico-Biológico do*

- Funcionamento da Natureza*. Editora da UFRJ, Rio de Janeiro, 1996, 267p.
- HARBORNE, J.B. *Introduction to Ecological Biochemistry*, 3ª ed. Academic Press, London, 1988, 382p.
- JANZEN, D.H. *Ecologia Vegetal nos Trópicos*. EPU/EDUSP, São Paulo, 1980, 78p.
- KUITERS, A.T., van BECKHOVEN, K. and ERNST, W.H.O. Chemical influences of tree litters on herbaceous vegetation. In: J. Fanta (ed.) *Forest dynamics research in Western and Central Europe*, Pudoc, Wageningen. 1986, p. 140-170.
- LUCKNER, M. *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals*, 3ª ed., VEB Gustav Fischer Verlag, Jena. 1990, 459p.
- MULLER, C.H. & CHOU, C.H. Phytotoxins: An Ecological phase of Phytochemistry. In: Harborne, J.B. (ed.) *Phytochemical ecology*, Academic press, London, 1972, p. 201-216.
- MUNESADA, K. Biologically active labdane-type diterpene glycosides from the root-stalks of *Gleichenia japonica*. *Phytochemistry*. v. 31, n. 5, 1992, p.1533-1536.
- PERES, M. T. L., PIZZOLATTI, M. G., DEQUEIROZ, M.H., YUNES, R.A. Allelopathic potential of *Gleichenia pectinata* Willd (Pr.). *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 33, n. 2, 1998, p.131-137.
- RAJA, D. P., MANICKAM, V. S., DEBRITTO, A. J., GOPALAKRISHNAN, S., USHIODA, T., SATOH, M., TANIMURA, A., FUCHINO, H., TANAKA, N. Chemical and chemotaxonomical studies on *Dicranopteris* species. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 43, n.10, 1995, p. 1800-1803.
- RICE, E. L. *Allelopathy*. Academic Press, New York, 1984, p.353p.
- SHIOJIMA, K., SUZUKI, M., AOKI, H., AGETA, H. Fern constituents: Four new diterpenoid glycosides from fresh leaflets of *Gleichenia japonica*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 43, n. 1, 1995, p. 5-8.
- SWAIN, T. Biochemical Evolution in Plants. In: Florkin, M. & Stotz, E.H. (eds.) *Comprehensive Biochemistry*, Elsevier, Amsterdam, 1974, p.125-302.
- WADA, H., SHIMIZU, Y., HAKAMATSUKA, T., TANAKA, N., CAMBIE, R. C., BRAGGINS, J. E. Two new clerodane glycosides from *Gleichenia microphylla*. *Australian Journal of Chemistry*. v. 51, n. 2, 1998, p.171-173.
- WHITTAKER, R. H. The Biochemical Ecology of Higher Plants. In: Sondheimer, E., Simeone, J.B. (ed.) *Chemical Ecology*, Academic Press, New York, 1970, p.210-240.

AGRADECIMENTOS

Os autores desse artigo agradecem ao Prof. Alexandre Salino (UFMG), pela identificação das espécies de Gleicheniaceae; ao Prof. Sérgio T. Meirelles (USP), pela realização das análises estatísticas; e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida no período de realização desse trabalho.