

Boletim de Pesquisa 68 *e Desenvolvimento*

ISSN 1983-0483
Junho, 2009

Avaliação de Efeito Alelopático do Óleo
Essencial Obtido de Oriza sobre
Plantas Daninhas

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 68

Avaliação de Efeito Alelopático do Óleo Essencial Obtido de Oriza sobre Plantas Daninhas

*Antônio Pedro da Silva Souza Filho
Marcus Arthur Marçal de Vasconcelos
Roberto Lisboa Cunha
Maria das Graças Bichara Zoghbi
Francisco José Câmara Figueiredo
Sérgio de Mello Alves*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n.
Caixa Postal 48. CEP 66095-100 - Belém, PA.
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
www.cpatu.embrapa.br
sac@cpatu.embrapa.br

Comitê Local de Editoração

Presidente: *Moacyr Bernardino Dias-Filho*
Secretário-Executivo: *Walkymário de Paulo Lemos*
Membros: *Adelina do Socorro Serrão Belém, Ana Carolina Martins de Queiroz, Célia Regina Tremacoldi, Luciane Chedid Melo Borges, Vanessa Fuzinato Dall'Agnol*

Revisão Técnica: *Manuel Gonzalo Hernandez Terrones – UFU*
Moacir Geraldo Pizzolatti – UFSC
Nilbe Carla Mapeli - Unemat

Supervisão editorial e revisão de texto: *Luciane Chedid M. Borges*
Normalização bibliográfica: *Adelina Belém*
Editoração eletrônica: *Orlando Cerdeira Bordallo Neto*

1ª edição

Versão Eletrônica (2009)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Amazônia Oriental

Souza Filho, Antônio Pedro da Silva

Avaliação de efeito alelopático do óleo essencial obtido de oriza sobre plantas daninhas / Antônio Pedro da Silva Souza Filho... [et al.]. -- Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009.

18p. : il.; 21cm. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1517-2201; 68)

1. Alelopatia. 2. Óleo essencial. 3. Análise qualitativa. 4. Erva daninha. 5. Produção agrícola. I. Vasconcelos, Marcus Arthur Marçal de. II. Cunha, Roberto Lisboa. III. Zoghbi, Mara das Graças Bichara. IV. Figueiredo, Francisco José Câmara. V. Alves, Sérgio de Mello. VI. Título. VII. Série.

CDD : 633.84

© Embrapa 2009

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusão	15
Agradecimentos	16
Referências	17

Avaliação de Efeito Alelopático do Óleo Essencial Obtido de Oriza sobre Plantas Daninhas

Antônio Pedro da Silva Souza Filho¹
Marcus Arthur Marçal de Vasconcelos²
Roberto Lisboa Cunha³
Maria das Graças Bichara Zoghbi⁴
Francisco José Câmara Figueiredo⁵
Sérgio de Mello Alves⁶

Resumo

Este trabalho teve por objetivo caracterizar a atividade potencialmente alelopática do óleo essencial de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth). O óleo essencial obtido foi preparado em concentrações de 0,25 %, 0,5 % e 1,0 %, tendo como eluente o éter metílico, e testado na germinação de sementes e no desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas daninhas de área de pastagens cultivadas, malícia (*Mimosa pudica*) e mata-pasto (*Senna obtusifolia*). O óleo da espécie evidenciou atividade alelopática em intensidades que variaram de acordo com a concentração do óleo, da planta receptora e com o fator da planta analisado.

¹ Engenheiro Agrônomo, Doutor em Produção Animal, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. apedro@cpatu.embrapa.br

² Engenheiro Agrônomo, Mestre em Tecnologia de Alimentos, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. mavasc@cpatu.embrapa.br

³ Biólogo, Doutor em Fisiologia Vegetal, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

⁴ Química Industrial, Doutora em Química Orgânica, Pesquisadora do Museu Paraense Emílio Goeldi. zoghbi@museu-goeldi.br.

⁵ Engenheiro Agrônomo, Doutor em Ciências Biológicas, Pesquisador do Instituto de Desenvolvimento Econômico, Social e Ambiental do Pará (Idesp), Belém, PA. fjcf@uol.com.br

⁶ Engenheiro Químico, Mestre em Química de Agricultura, Belém, PA. sergiomelloalves@gmail.com

A germinação das sementes foi o fator mais intensamente inibido pelo óleo. *Mimosa pudica* foi a espécie receptora mais sensível aos efeitos do óleo. Os resultados foram atribuídos à composição química do óleo, especialmente em relação à presença de monoterpenos, monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos.

Termos para indexação: alelopatia, herbicida, *Pogostemon heyneanus*, inibição.

Evaluation of Allelopathic Effects of the Essential Oil Obtained from Oriza About Weeds

Abstract

*This study aimed to characterize the potential allelopathic activity of essential oil of oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth). The essential oil obtained were prepared at concentrations of 0.25 %, 0.5 % and 1.0 %, with methyl ether the eluent, and tested on the germination of seeds and the development of the radicle and the hypocotyl of the weeds of cultivated area of grassland, malícia (*Mimosa pudica*) and mata-pasto (*Senna obtusifolia*). Depending on their concentrations, oils of the oriza showed intensities of allelopathic activity on the receptor plant and on the examined plant factor. The germination of seeds was the factor most strongly inhibited by the oils. The oil of the species evidence allelopathic activity at intensities that varied depending on the concentration of oil and the receiving plant examined. The germination of seeds was the factor most intensely inhibited by the oils. *Mimosa pudica* was the receptor species most sensitive to the effects of oil. The results were attributed to the chemical composition of oils, especially in relation to the presence of monoterpenes, oxygenated monoterpenes and sesquiterpenes.*

Index terms: *allelopathy, herbicid, Pogostemon heyneanus, inhibition.*

Introdução

Historicamente, os óleos essenciais têm desempenhado papel importante para a humanidade. A utilização de espécies de plantas produtoras de óleos essenciais envolve desde a indústria de perfumes e alimentos até a medicina popular (SONWA; KÖNIG, 2001). Além disso, foram relatadas informações referentes à possibilidade de utilização de óleo essencial nas atividades agrícolas como alternativa viável com ação inseticida, fumigante e fungicida (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; HOAGLAND, 1999; MIYAZAWA et al., 1997; MONTES-BELMONT; CARVAJAL, 1999; NGOH et al., 1998).

Adicionalmente a todas essas possibilidades de uso, alguns óleos essenciais revelam-se como potentes inibidores da germinação de sementes e do desenvolvimento de diferentes espécies de plantas, ação de bioerbicida (DUKE et al., 2000, 2002; KWAK et al., 1999; ROMAGNI et al., 2000).

A Floresta Amazônica Brasileira, por sua riqueza e diversidade biológica, especificamente em relação às plantas produtoras de óleos essenciais, pode oferecer a oportunidade para descobertas de inovadoras e eficientes moléculas com potencial de uso em larga escala na agricultura, sobretudo para o controle de doenças e pragas agrícolas de importância econômica, como, por exemplo, para o controle de plantas daninhas. Foram listadas 90 espécies de plantas nativas da Amazônia com tal característica, evidenciando todo o manancial à disposição para prospecção química (MAIA et al., 2001).

Oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth), uma Lamiaceae, possui centro de origem na Índia, com cultivo na Indonésia e na Malásia de forma intensiva. Na América do Sul, é cultivada no Paraguai e no Brasil, sobretudo pelo fato de possuir um óleo essencial com odor característico, persistente e canforáceo (MAIA et al., 2001), com utilização na indústria de cosméticos.

Este trabalho teve por objetivo caracterizar a atividade potencialmente alelopática do óleo essencial de oriza e analisar seus efeitos sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas daninhas de área de pastagens cultivadas, tendo em vista um potencial bio-herbicida no controle de ervas invasoras.

Material e Métodos

Material vegetal e obtenção dos óleos essenciais

O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. Os materiais vegetativos, folhas e galhos de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth) foram obtidos com produtores da região de Belém, PA. A biomassa das folhas e os galhos da oriza foram secados sob proteção do sol e com ventilação natural. Os procedimentos de secagem tiveram a duração de 7 dias. Os materiais assim obtidos foram submetidos aos processos de extração e destilação de óleo essencial, utilizando extrator modelo ASSS-100, série S/14597, com capacidade cúbica para 100 litros de material, marca SHIMIZU Scientific Instruments MFG. Co, Ltd., acoplado a um trocador de calor marca ORION. O período de extração foi de 6 h, não ultrapassando a pressão de 0,2 kgf/cm², durante toda a extração. A mistura de vapor de água e óleo essencial foi arrastada até o condensador. Por meio de resfriamento, ocorreu a mudança de fase e a posterior separação da mistura por decantação. A fração de óleo essencial foi recuperada e secada em funil de separação com auxílio de Na₂SO₄. Os óleos assim obtidos foram imediatamente estocados em frasco de cor âmbar até o momento da utilização e armazenados em local ventilado e ao abrigo da luz e temperatura.

Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais

A composição química do óleo essencial foi determinada conforme descrita por Adams (2007). Os óleos essenciais foram analisados por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), em sistema Shimadzu QP-2010 Plus equipado com coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm de espessura de filme), nas seguintes condições operacionais:

- Gás de arraste: hélio, em velocidade linear de 36,5 cm/s.
- Tipo de injeção: sem divisão de fluxo (2 µL de uma solução de 2 µL de óleo em 1 mL de hexano).
- Temperatura do injetor e do detector: 250 °C.
- Programa de temperatura do forno: 60 °C – 240 °C (3 °C/min).
- EM: impacto eletrônico, 70 eV.
- Temperatura da fonte de íons e partes de conexão: 180 °C.

A identificação foi feita por meio da comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os de substâncias padrão existentes nas bibliotecas do sistema e com dados da literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram obtidos utilizando-se a série homóloga dos n-alcenos nas mesmas condições de operação (ADAMS, 2007). Os componentes identificados, índices de retenção e porcentagem relativa (%) estão apresentados na Tabela 1.

Bioensaios de germinação

O trabalho foi desenvolvido em câmara de germinação, com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 h, segundo Souza Filho (2006). A germinação das sementes foi monitorada em períodos de 10 dias, com contagens diárias e eliminação das sementes germinadas.

Tabela 1. Composição química (%) dos componentes do óleo essencial de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth).

Componente –CG/EM	IR	composição percentual (%)
δ-elemeno	1340	0,1
β-patchuleno	1386	2,3
β-elemeno	1396	1,6
Cicloseicheleno	1414	1,0
β-cariofileno	1424	3,1
α-guaieno	1444	8,6
Seicheleno	1448	6,6
α-patchuleno	1462	6,3
Acilfileno	1504	4,1
α-bulneseno	1413	11,8
7- <i>epi</i> - α-selineno	1522	0,4
<i>nor</i> -patchulenol	1561	1,0
Óxido de cariofileno	1579	1,6
Pogostol	1656	0,4
Álcool de patchuli	1671	21,9

IR = Índice de retenção.

Foi considerada semente germinada aquela que apresentava extensão radicular igual ou superior a 2,00 mm. Cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro, forrada com uma folha de papel de filtro qualitativo, recebeu 30 sementes, constituindo-se em uma parcela experimental.

Bioensaios de desenvolvimento das plantas

Também foram desenvolvidos em câmaras, com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 24 h. Cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro recebeu três sementes, pré-germinadas, a três dias de serem germinadas. Ao final do período de 10 dias de crescimento, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo.

Outros procedimentos experimentais

Cada placa de Petri recebeu 3,0 mL da solução teste, forradas com papel filtro esterilizado. Após a evaporação do solvente éter etílico, foi adicionado um volume equivalente de água destilada, mantendo-se, dessa forma, a concentração original. As soluções testes foram adicionadas apenas uma vez, quando do início dos bioensaios, sendo adicionada, a partir de então, apenas água destilada sempre que se fazia necessário. Os óleos essenciais foram testados nas concentrações de 0,25 %; 0,5 % e 1,0 % (v/v).

Como plantas indicadoras dos efeitos potencialmente alelopáticos, utilizaram-se as espécies de plantas daninhas, *Mimosa pudica* (malícia) e *Senna obtusifolia* (mata-pasto). As sementes dessas duas espécies, coletadas em áreas de pastagens cultivadas, no Município de Terra Alta, Estado do Pará, passaram por processo de limpeza e foram tratadas para quebra de dormência, via imersão em ácido sulfúrico, por 20 minutos, conforme especificado por Souza Filho et al. (1998).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, com quatro repetições, tendo como testemunha a água destilada, em modelo hierárquico, com dois fatores. Os dados foram transformados em arco-seno \sqrt{x} , para seguirem distribuição normal. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância, teste F, e, quando os efeitos de tratamentos apresentaram diferença significativa ($P < 0,01$), as médias foram comparadas por meio do teste de regressão. Para as análises, utilizou-se o programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1989).

Resultados e Discussão

Em estudos de avaliação da atividade fitotóxica de extratos brutos, cuidados especiais devem ser dirigidos para o fator potencial osmótico, mesmo porque alelopatia e potencial osmótico apresentam efeitos aditivos, levando a superestimar os efeitos alelopáticos (SOUZA FILHO, 2006). Neste trabalho, para todas as concentrações testadas, inclusive a máxima de 1 %, os efeitos osmóticos foram desprezados, tendo em vista as indicações de Souza Filho e Alves (2000).

A atividade biológica de um dado aleloquímico depende tanto da concentração como do limite da resposta da espécie afetada. O limite de inibição para uma dada substância não é constante, porém está intimamente relacionado à sensibilidade da espécie receptora, aos processos da planta e às condições ambientais. No presente trabalho, os efeitos inibitórios estiveram positivamente associados à concentração do óleo e às espécies receptoras, quando se analisaram os efeitos sobre a germinação das sementes (Figura 1), bem como quanto ao desenvolvimento da radícula (Figura 2) e do hipocótilo (Figura 3) das duas espécies de plantas receptoras. Inibições crescentes foram sempre obtidas com o aumento da concentração ($P < 0,001$). Invariavelmente, as inibições máximas foram sempre observadas na concentração mais elevada (1 %). No mesmo sentido, a espécie malícia tendeu a apresentar maior sensibilidade aos efeitos potencialmente alelopáticos em comparação com o mato-pasto, sendo essa observação mais marcante quando se analisaram os efeitos sobre a germinação das sementes e menos marcante para os efeitos sobre o desenvolvimento do hipocótilo.

Os efeitos do óleo essencial sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas são frequentemente explicados em termos individuais de alguns dos principais constituintes. Entretanto, o óleo essencial

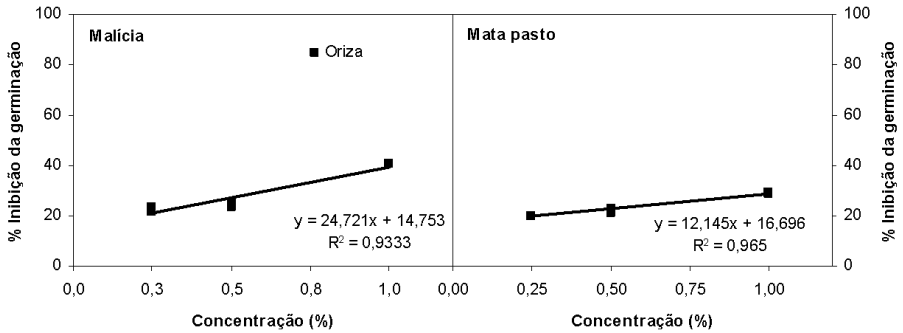


Figura 1. Efeitos potencialmente alelopáticos do óleo essencial de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth) sobre a germinação de sementes de malícia e mata-pasto. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

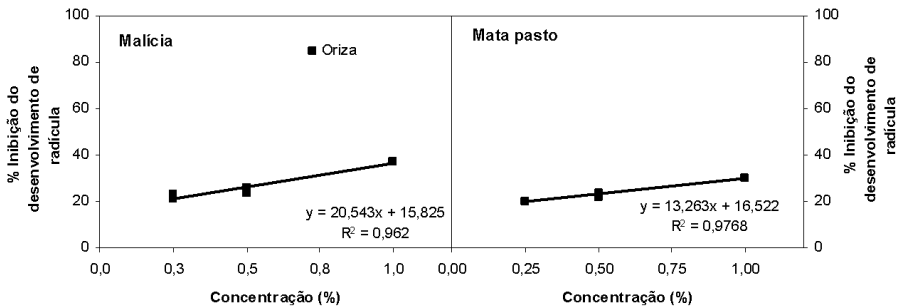


Figura 2. Efeitos potencialmente alelopáticos do óleo essencial de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth) sobre o desenvolvimento da radícula de sementes de malícia e mata-pasto. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

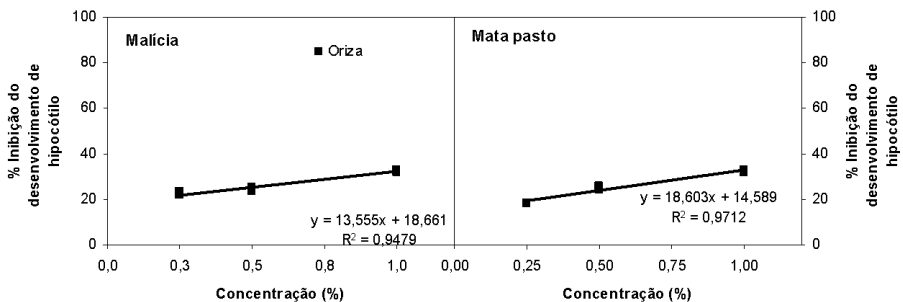


Figura 3. Efeitos potencialmente alelopáticos do óleo essencial de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth) sobre o desenvolvimento do hipocótilo de sementes de malícia e mata-pasto. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

é uma mistura de diferentes componentes, em proporções variadas e é, frequentemente, desconhecida a maneira como esses constituintes interagem entre si e promovem seus efeitos sobre outros organismos. Adicionalmente, há considerável variação na composição do óleo essencial de certas espécies de plantas; tal variação pode ser em virtude da sazonalidade e da diferença entre indivíduos de populações e indivíduos de mesma população (KOKKINI; VOKOU, 1989; TARAYRE et al., 1995).

Nas Tabelas 1 e 2, são apresentados os constituintes do óleo essencial de *Pogostemon heyneanus* Benth. Foram identificados, ao todo, 15 constituintes, sendo basicamente: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos, alifáticos e arilpropanóides. Os compostos majoritários foram o álcool de patchuli (21,9 %), α -bulneseno (11,8), α -guaieno (8,6), seicheleno (6,6 %) e α -patchuleno (6,3). Vilhena (2006), por exemplo, comparou duas espécies de *Cyperus* e atribuiu as diferenças na intensidade alelopática às diferenças verificadas na composição química dos óleos. Komai et al. (1991) indicaram que os óleos essenciais que apresentavam maiores índices de inibição alelopática eram constituídos, principalmente, por sesquiterpenos que continham o grupo cetona ou hidroxila. Os óleos constituídos de grupo acetato ou somente hidrocarboneto apresentaram menos atividade alelopática.

Tabela 2. Componentes majoritários dos óleos essenciais de oriza (*Pogostemon heyneanus* Benth).

Componente	Teor (%)
	<i>Pogostemon heyneanus</i> Benth
Álcool de patchuli	21,9
α -bulneseno	11,8
α -guaieno	8,6
Seicheleno	6,6
α -patchuleno	6,3

Conclusão

Como um todo, os resultados sugerem que a utilização de óleo essencial apresentou ação inibitória sobre a germinação e o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo.

Agradecimentos

Somos muito gratos aos funcionários José Gilberto Alves Costa e Solange Branches Vilar, do Laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental, pela ajuda durante a extração e processamento dos óleos essenciais.

Referências

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. London: Allured Pub. Corp., 2007. 804 p.
- BASTOS, C. N.; ALBUGUERQUE, P. S. B. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* no controle e pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.5, p. 555-557. 2004.
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHIRADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemical from nature for weed management. **Weed Science**, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.
- DUKE, S. O.; ROMAGNI, J. G.; DAYAN, F. E. Natural products as source from new mechanisms of herbicidal action. **Crop Products**, v. 19, n. 8, p. 583-589. 2000.
- HOAGLAND, R. E. Allelopathic interactions of plants and pathogens. In: MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CUTLER, H. C. (Eds.). **Recent advances in allelopathy**. Cadiz: Universidad de Cadiz. Servicio de Publicaciones, 1999. v. 1, p. 423-450.
- KOKKINI, S.; VOKOU, D. *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. **Economic Botany**, v. 43, n. 2, p. 192-202. 1989.
- KOMAI, K.; TANG, C. S.; NISHIMOTO, R. K. Chemotypes of *Cyperus rotundus* in Pacific Rim and inhibitory of their essential oils. **Journal Chemical Ecology**, v. 17, n.1, p. 1-11. 1991.
- KWAK, S. H.; KIL, B. S.; SOH, W. Y. Allelopathy effects of *Chamaecyparis obtuse* In: MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CUTLER, H. G. (Eds.). **Recent advances in allelopathy**. Cádiz: International Allelopathy Society, 1999. p. 121-148.
- MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. **Plantas aromáticas da Amazônia e seus óleos essenciais**. Belém, PA: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2001.173 p.

MIYAZAWA, M.; WATANABE, H.; KAMEOKA, H. Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a p-methane skeleton. **Journal of Agriculture Food Chemical**, v. 45, p. 3, p. 677-679. 1997.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. *Aspergillus flavus* control in maize with plant essential oil. In: MACIAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CUTLER, H. G. (Eds). **Recent advances in allelopathy**. Cádiz: International Allelopathy Society, 1999. p. 463-470.

NGOH, S. P.; CHOO L. E. W.; PANG F. Y.; HUANG, Y.; KINI, M. R.; HO S. H. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach (*Periplaneta americana* L.). **Pesticide Science**, v. 54, n. 3, p. 261-268. 1998.

ROMAGNI, J. G.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cineol. **Plant Physiology**, v. 123, n. 2, p. 725-732. 2000.

STATISTICAL Analyses System (SAS). Version 6.4. North Caroline: [s.n.], 1989. 846p.

SONOWA, M. M.; KÖNIG, W. A. Constituents of the essential oil of *Cyperus alopecuroides*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 4, p. 321-325. 2001.

SOUZA FILHO, A. P. S. **Alelopatia e as plantas**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 159 p.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. **Planta Daninha**, v. 18, n. 3, 435-441. 2000.

TARAYRE, M.; THOMPSON, J. D.; ESCARRE, J.; LINHART, Y. B. Intra-specific variation in the inhibitory effects of *Thymus vulgaris* (Labiatae) monoterpenes on seed germination. **Oecologia**, v. 101, n. 1, p. 110-118. 1995.

VILHENA, K. S. S. **Estudo químico e atividade alelopática dos extratos brutos e do óleo essencial dos rizomas de *Cyperus articulatum* L. e *Cyperus giganteus* Vahl. (Cyperaceae)**. 2006. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Belém, PA.



Amazônia Oriental

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



CGPE 8377