

Avaliação alelopática e fitoquímica de *Artocarpus heterophyllus* Lam e *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., duas espécies invasoras presentes em unidades de conservação do Espírito Santo, Brasil

Allelopathic effect and phytochemical evaluation of *Artocarpus heterophyllus* Lam and *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., two alien species present in protected areas of Espírito Santo, Brazil

DOI:10.34117/bjdv6n8-167

Recebimento dos originais: 08/07/2020

Aceitação para publicação: 13/08/2020

Schirley Aparecida Costalonga

Doutora em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES
Pós-doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES

Endereço: Av. Fernando Ferrari, 514, CEP 29075-910, Vitória, ES – Brasil

E-mail: schirleycostalonga@uol.com.br

Maria do Carmo Pimentel Batitucci

Doutora em Fisiologia pela Universidade Federal do Espírito Santo, UFES
Professora do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, UFES

Endereço: Av. Fernando Ferrari, 514, CEP 29075-910, Vitória, ES – Brasil

E-mail: docarmo_batitucci@yahoo.com.br

RESUMO

A contaminação biológica é um grave problema ambiental da atualidade, contribuindo para a extinção de espécies nativas; compreender os mecanismos que favorecem o domínio das espécies invasoras é importantíssimo na busca de soluções eficazes para combatê-las. Neste sentido, investigações sobre suas propriedades alelopáticas são fundamentais, mas geralmente negligenciadas. No Espírito Santo, as unidades de conservação estaduais estão com sua biodiversidade ameaçada pela presença de espécies invasoras. Assim, o presente trabalho objetivou inferir sobre a ação alelopática dos extratos etanólicos das folhas de *Artocarpus heterophyllus* Lam e *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. por meio de dois organismos-teste: *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L, bem como avaliar os principais grupos fitoquímicos presentes nessas espécies. Para isso, as sementes dos organismos-teste foram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel filtro e submetidas à germinação em água deionizada (controle) ou uma das quatro concentrações de cada extrato avaliado (1, 5, 10 e 50 mg/mL). Foram mensurados os índices de germinação (IG), de velocidade de germinação (IVG), de alelopatia (IA) e de crescimento radicular (IVCR), além do tempo médio de germinação (TMG), velocidade média de germinação (VMG) e crescimento radicular médio (CRM). O extrato de *A. heterophyllus* Lam apresentou flavonoides, triterpenos e taninos e afetou significativamente o IA, IG e IVG de *L. sativa* a partir da concentração de 5 mg/mL e em todas as concentrações para *A. cepa*, levando à inibição total em 50 mg/mL. Não houve alteração no TMG e VMG de nenhum sistema-teste. Por sua vez, o desenvolvimento inicial das radículas de *A. cepa*, foi afetado em todas as concentrações testadas, sendo que para *L. sativa*, houve redução de CRM e IVCR em 10 mg/mL. Em relação ao extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl., foi

detectada a presença de flavonoides, esteroides, saponinas e alcaloides; o tratamento das sementes de *A. cepa* com esse extrato reduziu os IG e IVG nas concentrações de 10 e 50 mg/mL, mas o IA foi significativo apenas na maior concentração; não houve alteração nos TMG e VMG, mas os CRM e IVCR foram modificados a partir de 5 mg/mL. Em *L. sativa*, a capacidade de germinação reduziu a partir de 5 mg/mL e os IA, IVG e VMG foram afetados a partir de 10 mg/mL; já o desenvolvimento radicular foi reduzido a partir de 10 mg/mL. Os extratos testados exerceram alelopatia sobre os organismos-teste, comprovando ser este um dos mecanismos utilizados por estas invasoras na conquista de novos ambientes.

Palavras-chave: Alelopatia, Contaminação biológica, Desenvolvimento inicial, *A. heterophyllum* Lam., *E. japonica* (Thunb.) Lindl., Espécies invasoras.

ABSTRACT

Alien species contributes to the extinction of native species. Understanding the mechanisms that promote their domain over native species is very important in the search for effective solutions to combat these species; at this point, researches about allelopathic properties of that species are essential. In this way, this study aimed to analyze the allelopathic actions of foliar ethanolic extract of *Artocarpus heterophyllum* Lam and *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl, through two test organisms (*Lactuca sativa* and *Allium cepa*) and analyze their phytochemical contents. Seeds of test organisms germinated on Petri dishes covered with filter paper soaked with deionized water (negative control) or four concentration of each extract (1, 5, 10 and 50 mg/mL). In allelopathic assay were measured the germination index (GI), germination speed index (GSI), allelopathic index (AI), radicles growth speed index (RGSI), germination mean time (GMT), germination mean speed (GMS) and radicles mean length (RML). To *A. heterophyllum* Lam extract, was detected flavonoids, triterpenes and tanins and occurred significant changes in AI and GI to *L. sativa* from the concentration of 5 mg/mL and in all concentrations to *A. cepa*, leading to total inhibition in 50 mg/mL. There was no change in the GMT and GMS of any test system. The GSI was affected in *L. sativa*. RML and RGSI of all test organisms were altered. In turn, the extract of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl shown flavonoids, steroids, saponins and alkaloids in its phytochemical profile and reduced the GI, GSI and AI in *L. sativa* and *A. cepa*. The extracts demonstrated allelopathic properties what indicates that it is one of the mechanisms used by alien species to conquer new environments.

Keywords: Allelopathy, Biological contamination, Initial development, *A. heterophyllum* Lam., *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., Alien species.

1 INTRODUÇÃO

Desde seu surgimento no planeta, os organismos terrestres estiveram em constante movimentação, o que favoreceu o intercâmbio de conjuntos inteiros de espécies, levando à diversos eventos de destruição de espécies nativas por espécies introduzidas (LOWE et al., 2004; SAX; STACHOWICZ; GAINES, 2005). Entretanto, a dispersão dessas espécies exóticas para além de seu território de origem foi maximizada pela humanidade, à medida que novos territórios eram ocupados; neste cenário, a superação das barreiras ecológicas culminou com o expressivo aumento

na ocorrência de espécies exóticas por todo o globo terrestre, tornando a contaminação biológica a segunda causa atual de perda de biodiversidade.

A invasão biológica é o resultado de uma cadeia de eventos que têm início com a transposição da barreira geográfica (com a saída do organismo de sua área de ocorrência natural) e resulta na consolidação de uma população autossustentável no ecossistema receptor (BARNES, 2014). O alto potencial apresentado pelas espécies invasoras para modificar severamente sistemas naturais, favorece sobremaneira a extinção da biota nativa, uma vez que se tornam por demasiado eficientes no uso dos novos recursos (água, nutrientes, etc.) e alteram as características e funcionalidade do ecossistema invadido, homogeneizando a biota, reduzindo as populações nativas e dificultando sua restauração e conservação (DIAS et al., 2013). Destarte, estudos que visem conhecer mais profundamente os mecanismos de invasão utilizados por esses organismos são fundamentais na busca por soluções para esse grave problema ambiental.

Diversos são os mecanismos empregados pelas espécies alóctones na ocupação de novos habitats (LORENZO; GONZÁLES, 2010) e, em se tratando de espécies vegetais, uma estratégia ainda pouco estudada é a alelopatia, uma forma de interação bioquímica entre plantas, onde metabólitos secundários desenvolvidos e aperfeiçoados ao longo da evolução, impactam, positiva ou negativamente, o desenvolvimento da flora residente (LARCHER, 2006; RIZVI, 2012; RASCHER; HAY, 2014).

Tal interação pode ser determinante na distribuição e abundância da comunidade vegetal, bem como para o sucesso de espécies invasoras (INDERJIT, 2011; CHENG e CHENG, 2015; FABBRO; PRATI, 2015), o que reforça a importância de seu estudo, uma vez que os dados obtidos nessas investigações podem lançar uma luz sobre o combate às espécies invasoras, principalmente quando se trata daquelas presentes em Unidades de Conservação, haja vista a prerrogativa de preservação da biota residente nesses locais.

Os impactos das espécies invasoras em áreas protegidas vão além da modificação na estrutura da comunidade, interferindo – também – na ciclagem de nutrientes, hidrologia e regime de fogo (FOXCROFT, 2013). No Espírito Santo, há contaminação biológica em todas as Unidades de Conservação, seja em maior ou menor grau, dificultando as ações de recuperação e conservação; duas dessas espécies são *Artocarpus heterophyllus* Lam e *Eriobothrya japônica* (Thunb.) Lindl., popularmente conhecidas como jaqueira e ameixeira, respectivamente.

Originária da Índia e Malásia, *A. heterophyllus* Lam foi uma das primeiras espécies exóticas a serem introduzidas no bioma Mata Atlântica e apresenta elevada capacidade de substituir a vegetação nativa e modificar a relação fauna-flora, visto que seus frutos se tornam fonte de alimento

para a fauna local (THE NATURE CONSERVANCY, 2009; ZENNI; ZILLER, 2011). Tendo em vista a predominância de suas plântulas no ambiente onde são introduzidas, sugere-se que esta exerça um efeito alelopático sobre as nativas (PERDOMO; MAGALHÃES, 2007), cuja população é drasticamente suprimida; no Espírito Santo - Brasil, tal espécie domina vinte hectares na Reserva Biológica de Duas Bocas – REBio D.B.

Em se tratando de *E. japonica* (Thunb.) Lindl., o grau de invasão é maior no Parque Estadual de Pedra Azul – PEPAZ, local em que já ocorreram diversas tentativas de controle; é originária do sudeste da China e foi largamente difundida em diversos países, dentre eles o Brasil, como fonte alimentar.

Diante disso e, tendo em vista a problemática da permanência dessas espécies em UCs, o presente trabalho objetivou avaliar o conteúdo fitoquímico preliminar das espécies invasoras *Artocarpus heterophyllus* Lam e *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl, bem como investigar a ação alelopática de seus extratos etanólicos foliares, sobre dois sistemas-teste, visando estabelecer se esta é uma das estratégias adotadas por esses organismos na conquista de novos habitats.

2 METODOLOGIA

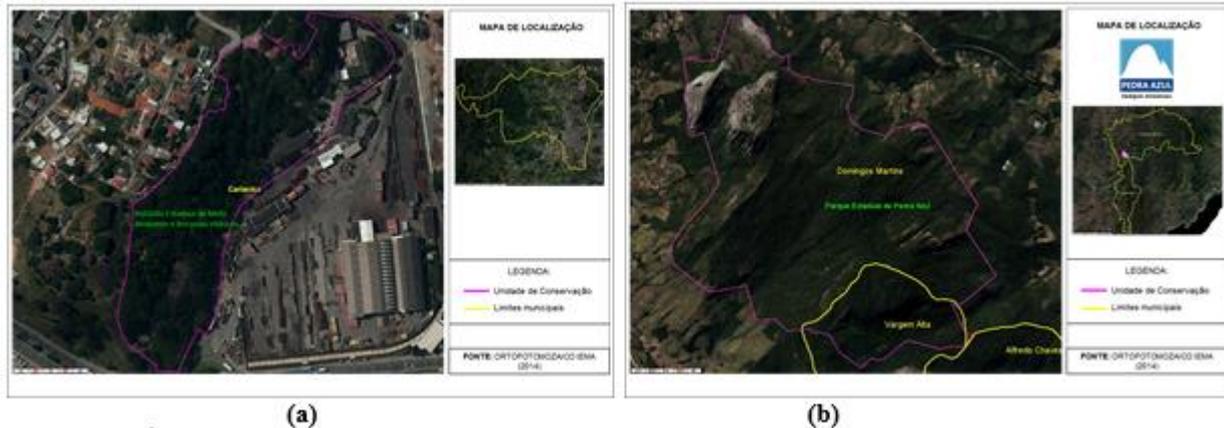
O preparo dos extratos etanólicos foliares, bem como a realização dos experimentos alelopáticos foram conduzidos nas dependências do laboratório de Genética de Plantas e Toxicológica, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

2.1 ÁREAS DE COLETA DAS ESPÉCIES VEGETAIS

Folhas de *A. heterophyllus* Lam foram coletadas em março de 2014 na sede do Instituto Estadual de Meio Ambiente – IEMA (figura 1-a), às coordenadas 24K/UTM 358035/7751317 Datum WGS84; por sua vez, *E. japonica* (Thunb.) Lindl foi coletada em abril de 2014, no Parque Estadual de Pedra Azul – PEPAZ (figura 1-b), às coordenadas 24K/UTM 288774/7742988 Datum WGS84. A coleta foi realizada com o auxílio de podão e secas separadamente à temperatura ambiente; após, foram reduzidas a pedaços menores manualmente e, em seguida, trituradas em liquidificador industrial de baixa rotação Vitalex – modelo L.QI-04.

Um exemplar-testemunha de cada espécie foi depositado no Herbário Central VIES/UFES, sob os números de tombo 38068 e 38067, respectivamente.

Figura 1 – Áreas de coleta das espécies investigadas, onde: (a) - Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA), Cariacica – ES/Brasil, área de coleta de *A. heterophyllus* Lam; e (b) - Parque Estadual de Pedra Azul (PEPAZ), Domingos Martins/Vargem Alta – ES/Brasil, área de coleta de *E. japonica* (Thunb.) Lindl.



Fonte: ESPÍRITO SANTO, 2014.

2.2 PREPARO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Para a obtenção dos extratos etanólicos, o material vegetal triturado foi adicionado a cinco litros de álcool etílico 99,3° (INPM) e submetidos à maceração por exaustão no escuro durante cinco dias. Após, o material foi filtrado e o sobrenadante submetido à rotaevaporação em Evaporador Rotativo Tecnal – modelo TE 210 e posterior secagem em estufa para a completa extração do etanol.

2.3 DETERMINAÇÃO DA MASSA SECA E DO pH DOS EXTRATOS

A massa seca de cada extrato foi determinada por meio do aquecimento de 500 mg do extrato bruto em cápsula de porcelana até a total evaporação do solvente; o procedimento foi repetido até se obter a mesma massa três vezes, utilizando, para isso, a balança digital Celtec – modelo FA2104N. As concentrações de extratos utilizadas neste estudo foram baseadas na massa seca dos mesmos.

Para a determinação do pH das concentrações testadas dos dois extratos vegetais foi utilizado o phmetro portátil KASVI – modelo K39-0014P.

2.4 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DOS EXTRATOS

A partir dos extratos etanólicos das folhas de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl, foram realizadas reações seletivas para detecção qualitativa dos principais grupos de metabólitos secundários (flavonoides, triterpenos, esteroides, cumarinas, saponinas, alcaloides, taninos e glicosídeos antraquinônicos conforme protocolo de COSTA (1982).

O potencial alelopático dos extratos de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl foram avaliados em dois sistemas-teste: *Lactuca sativa* (alface - cultivar Americana, lote nº. 034269) e *Allium cepa* (cebola - cultivar Baia Periforme, lote nº. 25870). Todas as sementes foram obtidas de uma fonte comercial e selecionadas pelo mesmo lote, sendo - entretanto - não-clonais.

As sementes foram acondicionadas em placas de Petri (30 por placa, totalizando 90 por tratamento) recobertas com uma folha de papel filtro e embebidas em 5mL de água deionizada (controle negativo – CN) ou uma das quatro concentrações dos extratos testados (1, 5, 10 e 50mg/mL). A cada vinte e quatro horas, contados a partir da semeadura até a estabilização da germinação, foram mensurados o número de sementes germinadas e o comprimento das radículas. Foram consideradas germinadas as sementes que emitiram protusão radicular com cerca de 2 mm, conforme recomendação da RAS (BRASIL, 2009).

Para análise dos efeitos alelopáticos foram mensurados parâmetros para a germinabilidade (Índice de Germinação - IG, Índice de Alelopatia - IA, Índice de Velocidade de Germinação - IVG, Tempo Médio de germinação – TMG, e Velocidade média de germinação – VMG) e de desenvolvimento inicial (Índice de Velocidade de Crescimento Radicular - IVCR e Crescimento Radicular Médio - CRM).

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram feitos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), utilizando dados não-paramétricos e amostragem probabilística, com cinco tratamentos para cada sistema-teste, feitos em triplicatas. Os dados foram submetidos à análise estatística por meio da ANOVA, com pós-teste de comparação de médias Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO DA MASSA SECA E DO pH DOS EXTRATOS

As massas secas estabelecidas para os extratos etanólicos foram: 37,2 mg (7,44%) para o extrato de *A. heterophyllus* Lam e 28,64 mg (5,73%) para o extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl.

Na tabela 1 estão descritos os valores de pH encontrados para as concentrações testadas dos extratos foliares de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl.

Tabela 1. Valores de pH para as concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/mL dos extratos foliares de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl.

EXTRATO	CONCENTRAÇÃO (mg/ml)	pH
CN (H ₂ O deionizada)	-	6,03
<i>A. heterophyllus</i> Lam	1	4,84
	5	4,48
	10	4,39
	50	4,23
<i>E. japonica</i> (Thunb.) Lindl	1	4,86
	5	4,50
	10	4,30
	50	4,13

A verificação do pH é importante, uma vez que solutos como açúcares e ácidos orgânicos presentes nos extratos podem mascarar o efeito alelopático ou causar resultados falso-positivo.

O pH da água está dentro dos parâmetros recomendados pela RAS, que preconizam uma faixa entre 6,0 e 7,5 para testes de germinação (BRASIL, 2009). Quanto aos extratos, os valores obtidos ficaram entre 4,13 e 4,86, considerados ideais para a promoção da germinação, uma vez que, conforme Silveira, Maia e Coelho (2012), pH abaixo de 4,0 e superior a 10 afetam negativamente o processo de emissão radicular e, até mesmo, o desenvolvimento da plântula.

Observa-se que, conforme a concentração do extrato se eleva, ocorre uma queda nos valores de pH, o que pode ser explicado pelo acúmulo dos metabólitos secundários nas maiores concentrações; contudo, essa redução não chegou a valores que interfeririam negativamente no desenvolvimento dos organismos-teste.

3.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Dentre os extratos etanólicos foliares testados, o de *E. japonica* (Thunb.) Lindl foi o que apresentou maior diversidade de classes de metabólitos secundários, contendo flavonoides, saponina, esteroides e alcaloides, estando os dois últimos presentes apenas nesta espécie (tabela 2). Quanto ao extrato de *A. heterophyllus* Lam, foram registradas a ocorrência de flavonoides, triterpeno e tanino.

Tabela 2. Análise fitoquímica preliminar dos extratos foliares de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl., sendo + positivo e – negativo para a presença da classe de composto analisada.

Classe de Metabólitos Secundários	Extratos Vegetais	
	<i>A. heterophyllus</i> Lam	<i>E. japonica</i> (Thunb.) Lindl
Flavonoide	+	+
Triterpeno	+	-
Esteroides	-	+
Cumarina	-	-
Saponina	-	+
Alcaloide	-	+
Tanino	+	-
Antraquinona	-	-

Não foram identificadas cumarina e antraquinona nas folhas de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl.; contudo, cabe ressaltar que não se pode afirmar que esses compostos estão ausentes nessas plantas, uma vez que a constituição fitoquímica de uma espécie apresenta variação quanto ao órgão vegetal, conforme demonstrou o trabalho de Baliga e outros (2011), onde os autores citam os ésteres como principal constituinte do fruto de *A. heterophyllus* Lam, enquanto no caule estavam presentes flavonoides, triterpenos e taninos e diferentes tipos de flavonas nas raízes; quanto às sementes, Gupta e outros (2011) encontraram, saponinas, alcaloides e polifenóis, enquanto Ajayi, Ajibade e Oderinde (2011) encontraram flavonoides, taninos e terpenos.

Em frutos de *E. japonica* (Thunb.) Lindl., Goulas e outros (2014) encontraram polifenóis e flavonoides.

A caracterização fitoquímica, mesmo que preliminar, pode auxiliar no entendimento dos efeitos exercidos por extratos vegetais sobre outros organismos. Flavonoides, por exemplo, são capazes de interferir na síntese de ATP agindo diretamente no mecanismo de fosforização (STELIND, apud REZENDE; TERRONES; REZENDE, 2011), impactando negativamente diversas reações necessárias ao desenvolvimento do organismo, além de induzir danos ao DNA (SIMÕES et al., 2017); já alcaloides e saponinas são compostos capazes de inibir a germinação, enquanto o crescimento vegetal é reduzido por alta concentração de taninos, que inibem a atividade das giberelinas (REZENDE; TERRONES; REZENDE, 2011).

3.3 AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA DOS EXTRATOS FOLIARES

Conforme Jansen (apud SANTANA; RANAL, 2004), a análise da germinação se torna completa quando engloba – além da porcentagem de germinação – a sua velocidade média e o tempo médio em que o processo ocorreu.

Considerando a capacidade de capturar a maior gama de grupos químicos, o extrato etanólico foi utilizado para avaliação alelopática. A toxicidade dos extratos foliares de *A. heterophyllum* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl foi associada à inibição da germinação das sementes de *L. sativa* e *A. cepa* e às alterações no crescimento de suas radículas.

Ensaio com *Lactuca sativa*

A tabela 3 demonstram os dados obtidos para parâmetros de germinabilidade. Considerando os valores dos índices de germinação (IG) e de alelopatia (IA) para as sementes de *L. sativa*, observou-se que houve uma redução significativa na germinação quando se aplicou os extratos de *A. heterophyllum* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl, em um efeito concentração-dependente, ou seja, quanto maior a concentração utilizada, maiores as concentrações de aleloquímicos e, conseqüentemente, menos sementes conseguiram emitir radícula, chegando ao ponto de inibição máxima em 50 mg/mL; todavia, o IA só atingiu valores acima de 50% nas duas maiores concentrações testadas. Nota-se que, na concentração de 1 mg/mL do extrato de *A. heterophyllum* Lam, o valor do IA foi negativo, pois a germinação foi maior que a do controle, indicando um efeito alelopático positivo; entretanto, à medida que se elevou a concentração do extrato, o efeito se tornou negativo.

Tabela 3. Índices de Germinação (IG), Índice de velocidade de Germinação (IVG), Tempo Médio de Germinação (TMG), Velocidade Média de Germinação (VMG) e Índice de Alelopatia (IA) para as sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao tratamento com o controle negativo (CN) e com as concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/mL dos extratos foliares de *A. heterophyllum* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Extrato	Concentração (mg/mL)	Sementes germinadas	IG (%)	IVCR	TMG (dias)	VMG (dias ⁻¹)	IA (%)
CN	-	85	94,44 a	22,44 a	1,66 bc	0,74 ab	-
<i>A. heterophyllum</i> Lam	1	87	95,55 a	26,78 a	1,18 cd	0,85 a	-1,17
	5	49	54,44 b	7,20 b	2,67 ab	0,38 bc	42,35
	10	8	8,88 c	0,94 b	3,17 ab	0,32 bc	90,59
	50	0	0,00 c	0,00 b	0,00 d	0,00 c	100,00
<i>E. japonica</i> (Thunb.) Lindl	1	84	93,33 a	21,19 a	1,69 bc	0,60 a	1,17
	5	71	78,89 b	10,50 ab	2,66 bc	0,38 ab	16,46
	10	35	38,89 c	4,94 b	2,67 bc	0,38 c	58,82
	50	0	0,00 d	0,00 b	0,00 d	0,00 c	100,00

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) das sementes tratadas com *A. heterophyllum* Lam sofreu significativa redução nas concentrações de 5 e 10 mg/mL, demonstrando que, além de

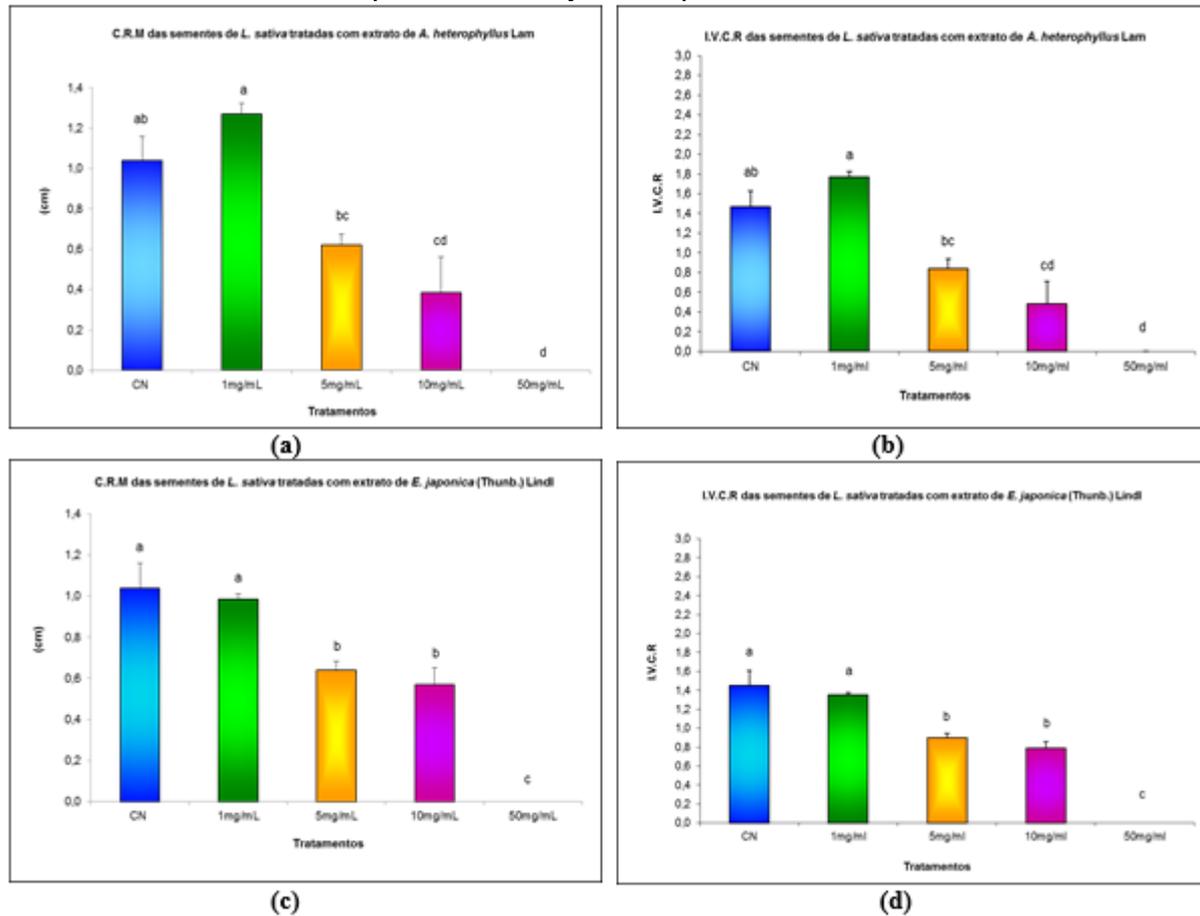
interferir na capacidade de germinação das sementes, o extrato também atuou retardando a velocidade de protrusão radicular. A concentração de 50 mg/mL não germinou, portanto, o IVG foi nulo.

Em se tratando do extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl, o IVG teve significativa redução em 10 mg/mL (uma vez que a concentração de 50 mg/mL não germinou); se compararmos o IG com o IVG, nota-se que, mesmo ocorrendo uma redução na porcentagem de germinação em 5 mg/mL, as sementes que conseguiram emitir radícula o fizeram com velocidade estatisticamente semelhante às do tratamento-testemunha.

O Tempo Médio de Germinação (TMG) não foi alterado significativamente, fato contrário ao apresentado para a Velocidade Média de Germinação (VMG), a qual sofreu redução significativa no tratamento com 10 mg/mL do extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl, demonstrando que, embora o IVG tenha sido afetado, as sementes que conseguiram germinar nesses tratamentos o fizeram em menos tempo do que o controle.

Ao analisar o crescimento das radículas submetidas ao tratamento com os dois extratos foliares (figura 2), observa-se que o extrato de *A. heterophyllus* Lam reduziu o tamanho das radículas apenas na concentração de 10 mg/mL, diferentemente do extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl, o qual afetou as radículas a partir de 5 mg/mL. Se compararmos este parâmetro com a porcentagem de germinação, nota-se que o extrato de *A. heterophyllus* Lam exerceu mais efeito negativo sobre o desenvolvimento das sementes, pois, mesmo aquelas que conseguiram suplantar os efeitos deletérios do extrato na primeira fase do desenvolvimento (germinação), acabaram atingidas na expansão radicular; estes dados reforçam a importância em se considerar outros parâmetros além da germinação na avaliação alelopática.

Figura 2 – Crescimento Radicular Médio (CRM) e Índice de Velocidade de Crescimento Radicular (IVCR) das sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao tratamento com o controle negativo (CN) e quatro concentrações (1, 5, 10 e 50 mg/mL) dos extratos de (a e b) - *A. heterophyllus* Lam; e (c e d) – *E. japonica* (Thunb.) Lindl. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



A presença de saponinas nos extratos de *E. japonica* (Thunb.) Lindl pode ter sido fator determinante na redução do comprimento radicular, uma vez que este composto é capaz de se ligar à complexos proteicos e aos fosfolipídios de membrana, alterando o metabolismo celular e a capacidade de permeabilidade das membranas celulares, afetando negativamente a proliferação celular e o crescimento (SIMÕES et al., 2017).

O índice de velocidade de crescimento das radículas (IVCR) foi reduzido significativamente nas concentrações de 10 mg/mL do extrato de *A. heterophyllus* Lam e 5 e 10 mg/mL do extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl. (figura 2). Esse comportamento corrobora o efeito danoso dos extratos (nas concentrações citadas) sobre o desenvolvimento das raízes, visto que estas não tiveram somente seu tamanho comprometido, mas o tempo necessário para sua elongação foi significativamente retardado.

Ao estudar os efeitos do extrato de partes aéreas de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, espécie exótica amplamente utilizada no Brasil para medicina natural, Melhorança-Filho e outros (2012)

reportaram a ocorrência de interferência negativa no desenvolvimento radicular e do hipocótilo de *L. sativa*, bem como no índice de germinação em um efeito concentração dependente.

Ensaio com *Allium cepa*

Os parâmetros de germinabilidade estão expostos na tabela 4. Em relação aos efeitos sobre as sementes de *Allium cepa*, o extrato de *A. heterophyllum* Lam afetou negativamente a germinação em todas as concentrações, levando à inibição completa deste parâmetro em 50 mg/mL; já o extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl afetou o IG apenas nas concentrações mais altas, ou seja, 10 e 50 mg/mL. Quanto ao IA, valores acima de 50% só foram atingidos na maior concentração dos extratos de *A. heterophyllum* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl.

Tabela 4. Índice de Germinação (IG), Índice de velocidade de Germinação (IVG), Tempo Médio de Germinação (TMG), Velocidade Média de Germinação (VMG) e Índice de Alelopatia (IA) para as sementes de *Allium cepa* submetidas ao tratamento com o controle negativo (CN) e com as concentrações de 1, 5, 10 e 50 mg/mL dos extratos foliares de *A. heterophyllum* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Extrato	Concentração (mg/mL)	Sementes germinadas	IG (%)	IVG	TMG	VMG	IA (%)
CN	-	68	75,55 a	11,00 a	2,60 a	0,39 a	-
<i>A. heterophyllum</i> Lam	1	42	46,66 b	8,06 a	2,32 a	0,44 a	38,23
	5	45	50,00 b	8,14 a	2,23 a	0,45 a	33,81
	10	38	42,22 b	7,44 a	2,03 a	0,5 a	44,11
	50	0	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b	100,00
<i>E. japonica</i> (Thunb.)	1	54	60,00 ab	10,36 a	2,13 a	0,48 a	20,58
	5	58	64,44 ab	9,17 ab	2,40 a	0,43 a	14,70
	10	46	51,11 b	6,50 b	2,65 a	0,38 a	32,34
	50	12	13,33 c	1,58 c	2,79 a	0,36 a	82,35

Quando se analisa os dados de porcentagem de germinação em conjunto com o Índice de velocidade de germinação, é possível observar que, embora tenha ocorrido redução da porcentagem de germinação em todos os tratamentos com *A. heterophyllum* Lam, não houve alteração no IVG em comparação ao controle; cabe ressaltar que houve inibição total da germinação na concentração de 50 mg/mL deste extrato, motivo pelo qual não foi possível avaliar os demais parâmetros para este tratamento.

Em detrimento dos resultados com o IG, valores acima de 50% para o IA foram atingidos apenas na maior concentração dos extratos vegetais testados, demonstrando mais uma vez que este parâmetro isolado não reflete corretamente os efeitos observados; cabe ressaltar que o IA é apenas uma medida do grau de alelopatia exercido pela substância testada e valores abaixo do considerado

como significativos por Balsalobre e outros (2006) em hipótese alguma podem ser interpretados como ausência de efeitos alelopáticos, devendo ser avaliado em conjunto com outros parâmetros.

O tratamento com *E. japonica* (Thunb.) Lindl. nas concentrações de 10 e 50 mg/mL afetou não só a capacidade germinativa das sementes de *A. cepa*, mas reduziu também o IVG. Rodrigues e Lopes (apud TAVEIRA; SILVA; LOIOLA, 2013) mencionaram que os aleloquímicos liberados no ambiente podem interferir positiva ou negativamente sobre a germinação e demais aspectos do desenvolvimento vegetal, fato observado no presente estudo.

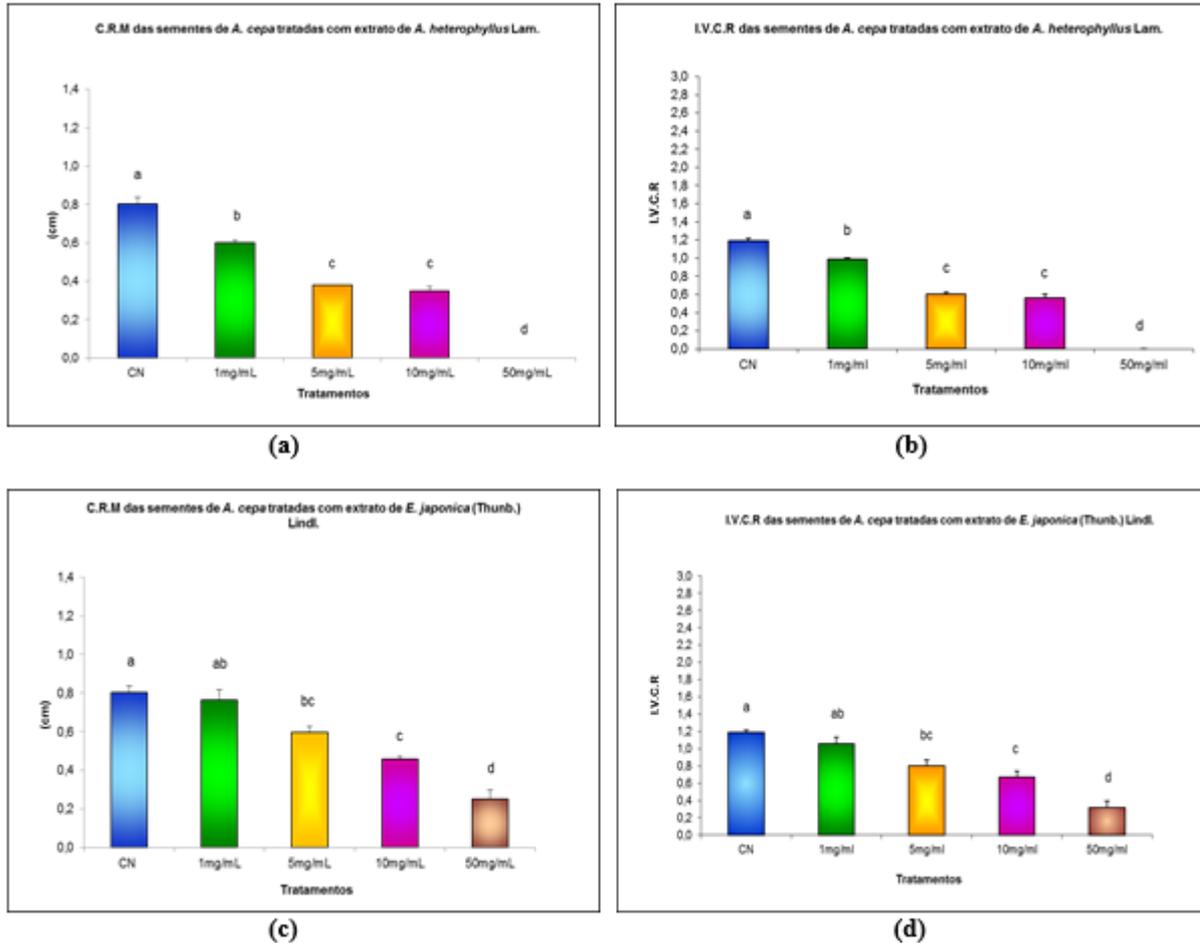
Taveira, Silva e Loiola (2013), em seus estudos com espécies do gênero *Erythroxylum*, verificaram que, enquanto algumas espécies alteravam significativamente o IVG de *A. cepa*, outras não produziam nenhuma modificação, indicando a importância da avaliação de diferentes espécies, mesmo sendo estas pertencentes ao mesmo táxon.

Apesar das alterações nos índices de germinação e de velocidade de germinação, nenhuma concentração do extrato de nenhuma planta testada interferiu no tempo médio de germinação nem na velocidade média deste processo, ou seja, apesar de algumas concentrações dos extratos conseguirem reduzir a quantidade de sementes germinadas e afetarem seu IVG, aquelas que conseguiram resistir apresentaram tempo e velocidade de germinação similares ao tratamento-testemunha.

Diferentemente dos resultados verificados no presente estudo, Grisi e outros (2013) identificaram redução no TMG das sementes de *A. cepa* quando tratadas com extrato foliar de *Sapindus saponaria* L.

Quanto ao crescimento das radículas de *A. cepa*, o extrato de *A. heterophyllum* Lam reduziu o comprimento das mesmas em todas as concentrações testadas, sendo que o tratamento com a concentração de 10 mg/mL resultou em inibição da elongação radicular já no terceiro dia; quanto à *E. japonica* (Thunb.) Lindl., somente a menor concentração (1mg/mL) não interferiu significativamente nesse parâmetro (figura 3).

Figura 3 – Crescimento Radicular Médio (CRM) e Índice de Velocidade de Crescimento Radicular (IVCR) das sementes de *Allium cepa* submetidas ao tratamento com o controle negativo (CN) e quatro concentrações (1, 5, 10 e 50 mg/mL) dos extratos de (a e b) - *A. heterophyllum* Lam; e (c e d) – *E. japonica* (Thunb.) Lindl. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



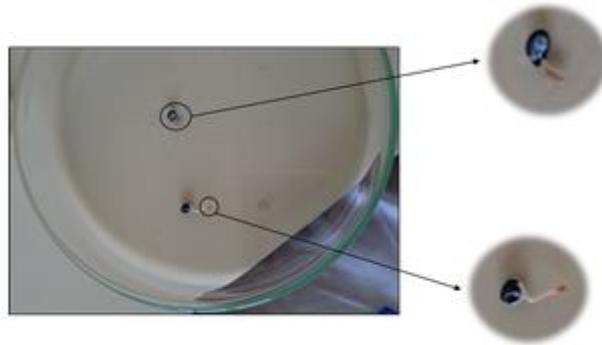
O efeito redutor no comprimento radicular de *A. cepa* em uma relação concentração-dependente também foi observado por Timothy e outros (2014) ao analisar os efeitos citotóxicos e genotóxicos do extrato foliar de *Icacina trichantha* Oliv. Efeitos alelopáticos sobre radículas e hipocótilos de *Allium cepa* também foram verificados por Fonseca e outros (2015) em seu trabalho utilizando diferentes frações de extratos de *Smilax* sp., sendo as frações diclorometânica e hexânica as responsáveis pelos resultados encontrados.

Diversos autores afirmam que a interferência no crescimento radicular pode ser resultado de alterações na permeabilidade celular e no processo de replicação e tradução do material genético, interferência nos receptores de membrana, modificação na respiração ou outros aspectos do metabolismo (RANAL, 2016 e FERREIRA, 2004 apud TAVEIRA; SILVA; LOIOLA, 2013). As espécies testadas no presente estudo apresentam metabólitos capazes de exercerem os efeitos supracitados, como saponinas em *E. japonica* (Thunb.) Lindl., capaz de se ligar aos fosfolípídeos, alterando a permeabilidade da membrana plasmática, taninos em *A. heterophyllum* Lam, cuja ligação

à complexos proteicos podem causar redução na proliferação celular e – consequentemente – no crescimento do organismo, além de alcaloides em *E. japonica* (Thunb.) Lindl., que podem afetar vários aspectos do metabolismo por interferirem na comunicação entre as células.

De fato, as raízes expostas ao extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl., nas duas maiores concentrações, apresentaram escurecimento das pontas das radículas, não chegando, porém, a evoluir para uma condição necrótica (figura 4), o que pode ser devido à presença de alcaloides, haja vista a capacidade destes compostos em interagir com diferentes alvos moleculares, influenciando negativamente a comunicação intercelular e comprometendo – assim – o metabolismo (SIMÕES et al., 2017); além disso, alteração na permeabilidade celular devido às saponinas, também pode ter auxiliado na mudança de coloração das radículas.

Figura 4 – Radículas de *Allium cepa* com pontas escurecidas, resultante dos tratamentos com as concentrações de 10 e 50 mg/mL do extrato de *E. japonica* (Thunb.) Lindl.



O IVCR, apresentado na figura 3, sofreu queda em todas as concentrações de *A. heterophyllum* Lam e a partir de 5 mg/mL de *E. japonica* (Thunb.) Lindl., sendo este um efeito concentração-dependente. Nota-se que a maior concentração testada e, portanto, a que contém maior acúmulo de aleloquímicos, foi responsável por provocar redução mais acentuada nesse parâmetro.

Analisando a germinação e o desenvolvimento inicial das radículas, fica evidente que, mesmo aquelas sementes que conseguiram suplantam a barreira da germinação, tiveram suas radículas afetadas em seu desenvolvimento inicial; provavelmente, as modificações observadas comprometeriam a funcionalidade das raízes caso o tratamento tivesse se estendido, o que reduziria a viabilidade das plântulas. Isso corrobora a tese de autores como Ferreira e Borghetti (2004) e Maraschin-Silva e Áquila (2006) de que a germinação é a fase menos sensível aos efeitos dos metabólitos secundários e reforça a importância em se analisar aspectos que ultrapassem a germinação a fim de se aferir mais corretamente sobre a alelopatia.

As anomalias registradas nas radículas de *A. cepa*, como escurecimento, fragilidade e redução na espessura, resultam, conforme Yamagushi, Gusman e Vestena (2011), da ação de

substâncias tóxicas presentes nos extratos sobre o meristema radicular, podendo induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e levar à morte tecidual.

A alelopatia, mecanismo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal afetam a germinação e o desenvolvimento de outras plantas (SOARES, apud SARTOR et al., 2009), é característica de muitos vegetais; todavia, dados para espécies invasoras ainda são escassos ou superficiais, o que prejudica o entendimento dos mecanismos lançados por elas para obterem sucesso na invasão.

O estudo de Lorenzo e outros (2011) é uma das poucas exceções ao fato, ao reportarem o envolvimento de mecanismos alelopáticos de *Acacia dealbata* Link sobre eficiência fotossintética e taxa respiratória de quatro espécies nativas no nordeste da Espanha. Ademais, o trabalho também demonstra a susceptibilidade variável das espécies aos aleloquímicos, uma vez que algumas plantas testadas foram mais afetadas do que outras; tal fato corrobora os diferentes resultados encontrados no presente trabalho ao se testar os extratos de *A. heterophyllus* Lam e *E. japonica* (Thunb.) Lindl em dois organismos distintos e evidencia a relevância de testes em diferentes espécies e grupos vegetais a fim de se obterem resultados mais confiáveis.

Sartor e colaboradores (2009) testaram os efeitos de diferentes estágios de maturação das acículas de *Pinus taeda*, outra invasora comum no território brasileiro, sobre a germinação e o desenvolvimento das sementes de aveia preta, identificando uma relação direta entre a inibição de sua germinação e do crescimento do epicótilo e o uso do extrato de acículas verdes; todavia, tal efeito não foi evidenciado quando da utilização de acículas em decomposição.

Um aspecto da alelopatia que raramente é explorado refere-se aos eventos celulares que ocorrem nas espécies afetadas. Em uma investigação acerca dos efeitos mutagênicos do extrato etanólico das folhas de *A. heterophyllus* Lam, é possível aferir a correlação entre ambos, visto que as sementes tratadas com tal extrato tiveram redução na capacidade de germinação e no comprimento radicular, principalmente em 10 mg/mL, consistente com a queda no índice mitótico (COSTALONGA; DUTRA; BATITUCCI, 2017); em suma, a alteração no ciclo celular, restringindo o processo à sua fase primária, prejudicou o desenvolvimento das sementes ao ponto de chegar à total inibição da germinação em 50 mg/mL. Ocorrência similar ocorreu também com o tratamento com 10 e 50 mg/mL de *E. japonica* (Thunb.) Lindl, corroborando a afirmação de autores como Sisino e Oliveira-Filho (2013) de que a toxicidade de um composto pode se refletir em níveis moleculares, fisiológicos, celulares e bioquímicos, sendo importante investigar mais de um aspecto.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies exóticas invasoras investigadas demonstraram potencial para afetar alelopaticamente a capacidade germinativa e o desenvolvimento inicial de outras espécies vegetais, comprovando ser esta uma das diversas estratégias que lhes conferem vantagens adaptativas para domínio na ocupação de novos ambientes.

Os resultados aqui expostos demonstram indubitavelmente a importância de se estudar profundamente essas espécies, uma vez que as informações referentes aos seus mecanismos de invasão contribuem para o desenvolvimento de ações efetivas ao seu controle e erradicação. Nota-se que os organismos-teste aqui empregados apresentaram variações quanto à susceptibilidade aos extratos; tal fato sinaliza a importância em se avaliar os efeitos de uma substância sobre diferentes espécies, uma vez que a evolução conferiu variabilidade genética aos diferentes grupos de organismos, fazendo com que reajam de forma fisiologicamente distinta às diversas substâncias lançadas no meio.

REFERÊNCIAS

- AJAYI, I.A; AJIBADE, O; ODERINDE, R.A. Preliminary Phytochemical Analysis of some Plant Seeds. *Res.J.chem.sci.*, v. 1, n. 3, p. 58-62, 2011.
- BALIGA et al. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): A review. *Food Research International*, v. 44, n. 8, p. 1800–1811, 2011.
- BALSALOBRE, L. C. et al. Ação alelopática do arilo das sementes de *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Dryand. In: 19^a RAIB, v.68, suplemento 2, 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/biologico/v68_supl_raib/283.PDF>. Acesso em: 01 dez. 2006.
- BARNES, M.A. Invasion biology: a very brief history. 2014. Disponível em: <www.pierisproject.org/cool-stuff/invasion-biology-a-very-brief-history>. Acesso em 08 dez. 2015.
- BRASIL Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009.
- CHENG, F; CHENG, Z. Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. *Frontiers in Plant Science*, v. 6, p. 1-16, 2015.
- COSTA, A.F. Farmacognosia. 2^a ed Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.
- COSTALONGA, S.; DUTRA, J.C.V; BATITUCCI, M.C.P. Mutagenic effect of three invasive species through *Allium cepa* bioassay. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.5, p. 261-269, 2017.
- DIAS, J. et al. Invasive Alien Plants in Brazil: A Nonrestrictive Revision of Academic Works. *Natureza & Conservação* v.11, n. 1, p. 1-5, 2013.
- ESPÍRITO SANTO. Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Ortofotomosaico 2014. Vitória, 2014.
- FABBRO, C.D; PRATI, D. The relative importance of immediate allelopathy and allelopathic legacy in invasive plant species. *Basic and Applied Ecology*, v. 16, p. 28–35, 2015.
- FERREIRA, A.G; BORGHETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- FONSECA, J.C. et al. Efeito alelopático do extrato etanólico e das frações obtidas das folhas de *Smilax* sp. sobre *Allium cepa* (cebola). *Blucher Biochemistry Proceedings*, v.1, n.1, p. 49-50, 2015. Disponível em: <<http://pdf.blucher.com.br/s3-sa-east-1.amazonaws.com/biochemistryproceedings/v-jaibqi/0029.pdf>>. Acesso em: 08 abr. 2016.
- FOXCROFT, L.C. et al. Plant Invasions in Protected Areas: Patterns, Problems and Challenges. *Invading Nature – Springer Series in Invasion Ecology* 7. Netherlands: Springer, 2013.

GRISI, P.U. et al. Phytotoxic activity of crude aqueous extracts and fractions of young leaves of *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). *Acta Bot. Bras.*, v. 27, n. 1, p. 62-70, 2013.

GOULAS, V. et al. Phytochemical content, antioxidants and cell wall metabolism of two loquat (*Eriobotrya japonica*) cultivars under different storage regimes. *Food Chemistry*, v. 155, p. 227–234, 2014.

GUPTA, D. et al. Phytochemical, nutritional and antioxidant activity evaluation of seeds of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Int J Pharm. Bio. Sci.*, v. 2, n. 4, p. 336-345, 2011.

INDERJIT, et al. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 26, n. 12, p. 655-662, 2011.

LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima Editora, 2006.

LORENZO, P. et al. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* Link on the physiological parameters of native understory species. *Plant Ecol*, v. 212, p. 403-412, 2011.

LORENZO, P; GONZÁLES, L. Alelopatía: una característica ecofisiológica que favorece la capacidad invasora de las especies vegetales. *Ecosistemas*, v. 19, n. 1, p. 79-91, 2010.

LOWE S. et al. 100 de las Especies Exóticas Invasoras más dañinas del mundo. Una selección del Global Invasive Species Database. Hollands Printing Ltd:New Zeland, 2004. Disponível em: <www.issg.org/bookletS.pdf>. Acesso em: 20 mai 2015.

MARASCHIN-SILVA, F.; ÁQUILA, M. E. A. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. *Revista Árvore*, Viçosa, v.30, n.4, jul./ago. 2006.

MELHORANÇA FILHO, A.L. et al. Avaliação do potencial alelopático de capim-santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) sobre o desenvolvimento inicial de alface (*Lactuca sativa* L.). *Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 16, n. 2, p. 21-30, 2012.

PERDOMO, M; MAGALHÃES, L.M.S. Ação alelopática da jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*) em laboratório. *Floresta e Ambiente*, v.14, n.1, p. 52-55, 2007.

RANAL, M.A et al. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Revista Brasil. Bot.*, v.32, n.4, p.849-855, 2009.

RASHER, D.B ; HAY, M.E. Competition induces allelopathy but suppresses growth and anti-herbivore defence in a chemically rich seaweed. *Proc. R. Soc. B*, n. 281, p. 1-9, 2014. Disponível em : <<http://rspb.royalsocietypublishing.org>>. Acesso em 07 jan. 2016.

REZENDE, G.A.A; TERRONES, M.G.H; REZENDE, D.M.L.C. Estudo do potencial alelopático do extrato metanólico de raiz e caule de *Caryocar brasiliense* Camb. (Pequi). *Biosci. J.*, v. 27, n. 3, p. 460-472, 2011.

RIZVI, S. J. *Allelopathy: basic and applied aspects*. Springer Science & Business Media, 2012.

SANTANA, D.G ; RANAL, M.A. Análise da germinação – um enfoque estatístico. Brasília :Editora UNB, 2004.

SARTOR, L.R. et al. Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. *Cienc. Rural*, v.39, n.6, p. 1653-1659, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009000600004>>. Acesso em: 07 mar. 2016.

SAX, D.F; STACHOWICZ, J.J; GAINES, S.D. *Species invasions: Insights into ecology, evolution and biogeography*. Sinauer Associates Inc. 2005.

SILVEIRA, P.F; MAIA, S.S.S; COELHO, M.F.B. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. na germinação de *Lactuca sativa* L. *Bioscience Journal*, v. 28, n. 3, p. 472-477, 2012.

SIMÕES, C.M.O et al. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SISINNO, C.L.S; OLIVEIRA-FILHO, E.C. *Princípios de toxicologia ambiental: conceitos e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.

TAVEIRA, L.K.P.D; SILVA, M.A.P; LOIOLA, M.I.B. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. *Acta Sci. Agron.*, v. 35, n. 3, p. 325-331, 2013.

THE NATURE CONSERVANCY. *Contextualização sobre espécies exóticas invasoras: Dossiê Pernambuco*. Recife: Capan, 2009, 65p.

TIMOTHY, O. et al. Cytotoxic and genotoxic properties of leaf extract of *Icacina trichantha* Oliv. *South African Journal of Botany*, v. 91, p. 71–74, 2014.

YAMAGUSHI, Q.M.; GUSMAN, S.G.; VESTENA, S. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* Labill., e de *Casearia sylvestris* Sw. sobre espécies cultivadas. *Ciências Agrárias*, v. 4, p. 1361-1374, 2011.

ZENNI, R.D; ZILLER, S.R. Na overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasil. Bot.*, 2011, v.34, n.3, p.431-446.