

## Potencial alelopático de espécies de Pteridaceae (Pteridophyta)

Marize Terezinha Lopes Pereira Peres<sup>2,5</sup>, Luciana Barbosa Silva<sup>2</sup>, Odival Faccenda<sup>3</sup> e Sônia Corina Hess<sup>4</sup>

Recebido em 16/06/2003. Aceito em 24/03/2004

**RESUMO** – (Potencial alelopático de espécies de Pteridaceae (Pteridophyta)). As pteridófitas exibem forte mecanismo de dominância nas áreas onde crescem, formando associações quase que puras, onde apenas poucas espécies coexistem. Extratos etanólicos de cinco espécies de Pteridaceae, nas concentrações de 250, 500 e 1.000mg.L<sup>-1</sup>, foram avaliados por meio de bioensaios de germinação e crescimento em condições de laboratório, para verificar o potencial de atividade alelopática sobre *Lactuca sativa* (L.) cv. Grand rapids (alface) e *Allium cepa* (L.) cv. Baía periforme (cebola). *Adiantopsis radiata* (L.) Feé, *Adiantum serratodentatum* Willd. e *Pteris denticulata* Sw. var. *denticulata* foram coletadas na Fazenda Azulão, situada no município de Dourados, MS, Brasil e as espécies *Adiantum tetraphyllum* Willd. e *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link var. *calomelanos* foram coletadas na Fazenda Curupi, situada em Ponta Porã, MS, Brasil. Os bioensaios realizados revelaram que: 1) os cinco extratos vegetais não interferem significativamente na germinação de alface e cebola; 2) os extratos de *Adiantum serratodentatum*, *Adiantum tetraphyllum*, *Adiantopsis radiata* e *Pityrogramma calomelanos* inibem o crescimento da radícula das plântulas de alface; 3) *Adiantum serratodentatum*, *Adiantum tetraphyllum* e *Pteris denticulata* inibem o crescimento do hipocótilo de alface; 4) *Adiantopsis radiata*, *Adiantum serratodentatum* e *Pteris denticulata* inibem tanto o crescimento da radícula quanto do coleótilo das plântulas de cebola. Os resultados obtidos até o momento permitem inferir que os extratos etanólicos das espécies em estudo contêm substâncias que modificam o crescimento das plântulas de alface e cebola.

**Palavras-chave:** aleloquímicos, germinação, crescimento, pteridófitas, alface, cebola

**ABSTRACT** – (Allelopathic potential of species of Pteridaceae (Pteridophyta)). Ferns exhibit a strong pattern of dominance in the areas in which they grow, forming almost pure associations, where only a few species coexist. Ethanol extractions of five species of Pteridaceae, in concentrations of 250, 500 and 1,000mg.L<sup>-1</sup>, were evaluated using germination and growth bioassays under laboratory conditions, to verify the potential for allelopathic activity against *Lactuca sativa* (L.) strain Grand rapids (lettuce) and *Allium cepa* (L.) strain Baía periforme (onion). *Adiantopsis radiata* (L.) Feé, *Adiantum serratodentatum* Willd. and *Pteris denticulata* Sw. var. *denticulata* were collected at the Fazenda Azulão, situated in the municipality of Dourados, MS, Brazil, while the species *Adiantum tetraphyllum* Willd. and *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link var. *calomelanos* were collected at the Fazenda Curupi, situated in Ponta Porã, MS, Brazil. The bioassays carried out revealed the following: 1) the five vegetal extracts did not significantly interfere with the germination of the lettuce or onion; 2) the extracts of *Adiantum serratodentatum*, *Adiantum tetraphyllum*, *Adiantopsis radiata*, and *Pityrogramma calomelanos* inhibited the radicular growth of the lettuce seedlings; 3) *Adiantum serratodentatum*, *Adiantum tetraphyllum*, and *Pteris denticulata* inhibited the growth of the hypocotyls of lettuce; 4) *Adiantopsis radiata*, *Adiantum serratodentatum*, and *Pteris denticulata* inhibited both the growth of the radicles and the coleoptiles of the onion seedlings. The results obtained so far permit the conclusion that the ethanol extracts of the species studied contain substances that modify the growth of lettuce and onion seedlings.

**Key words:** allelochemicals, germination, growth, fern, lettuce, onion

### Introdução

O uso indiscriminado de herbicidas tem resultado em crescentes índices de resistência de plantas daninhas a algumas classes de herbicidas, como as triazinas e dinitroanilinas (Macias *et al.* 1998a). A pesquisa na busca por pesticidas altamente específicos,

preferencialmente sistêmicos, com aceitável taxa de risco/benefício, do ponto de vista ambiental, vem tornando-se cada vez mais difícil, principalmente em relação a substâncias obtidas por síntese química. Estão sendo desenvolvidas pesquisas na procura de soluções alternativas, e a própria natureza vem sendo intensivamente investigada como fonte de soluções em

<sup>1</sup> Auxílio PCOPG/CNPq e Propp UFMS

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus de Dourados, Unidade II, Rod. Dourados, Itahum, km 12, C. Postal 322, CEP 79804-970, Dourados, MS, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Ciências da Computação, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Câmpus de Dourados, Rod. Dourados, Itahum, km 12, CEP 79804-970, Dourados, MS, Brasil

<sup>4</sup> Departamento de Hidráulica e Transportes/CCET, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, C. Postal 549, CEP 79070-970, Campo Grande, MS, Brasil (schess@nin.ufms.br)

<sup>5</sup> Autor para correspondência: mperes@propp.ufms.br

potencial. Os ecossistemas mantêm um equilíbrio que pode ser considerado como consequência das interações de muitos sinais químicos, de vários componentes do sistema. Sendo parte desse sistema, as plantas vêm sendo consideradas como potenciais fontes de moléculas que podem ser utilizadas, de várias formas, para proteger e manter a produção agrícola (Saito & Luchini 1998).

Estudos sobre interações alelopáticas podem ser úteis na busca por fitotoxinas naturais, produzidas por plantas ou microrganismos, e de derivados sintéticos a serem empregados como herbicidas naturais, mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente (Macias *et al.* 1998a).

As pteridófitas exibem forte mecanismo de dominância nas áreas onde crescem, formando associações quase puras, nas quais apenas poucas espécies coexistem. Este mecanismo de dominância estende-se desde os trópicos até as margens de florestas boreais (Queiroz, comunicação pessoal). *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Saito *et al.* 1989), *Gleichenia pectinata* (Willd.) Pr. (Peres *et al.* 1998; Peres & Malheiros 2001) e *Gleichenia japonica* Spr. (Munesada *et al.* 1992) contêm fitotoxinas capazes de interferir na germinação e no crescimento de certas espécies vegetais.

*Adiantum lunulatum* Burm. e *Adiantum philippense* L. são pteridófitas empregadas na medicina popular indiana no tratamento de várias enfermidades, como desordens sangüíneas, epilepsia, erisipela, febre, desintéria, úlceras, atrofia, dores musculares e elefantíase (Reddy *et al.* 2001; Mukherjee *et al.* 2001). Estudos químicos realizados com esta espécie levaram ao isolamento de triterpenos hopânicos (Mukherjee *et al.* 2001; Brahmachari & Chatterjee 2002). De *Adiantum capillus-veneris* L., que vegeta na China e Egito, foram isolados dois novos triterpenos hopânicos, além de diversos outros triterpenóides (Nakane *et al.* 2002); de *Adiantum incisum* Pr. foram isolados diversos triterpenos (Hayat *et al.* 2002). Estudos com *Adiantum caudatum* L. levaram ao isolamento de três triterpenos fernânicos inéditos, além de treze outros triterpenos hopânicos conhecidos (Tsuzuki *et al.* 2001). Triterpenóides foram isolados de *Adiantum venustum* Don. (Chopra *et al.* 2001), de *Adiantum cuneatum* Langsd. & Fisch. (Shiojima *et al.* 1997) e de *Adiantum edgeworthii* Hk. (Shiojima & Ageta, 1994). Shiojima *et al.* (1993a; b) isolaram triterpenóides das folhas de *Adiantum monochlamys* Eat. e *Adiantum pedatum*. Forst. Xantonas

C-glicosiladas foram isoladas de *Adiantum nigrum* (Imperato 1991). Não foram encontrados, na literatura, relatos de estudos químicos ou biológicos realizados com *Adiantum tetraphyllum* e *Adiantum serratodontatum* que foram objetos de avaliações quanto a atividade alelopática, no presente estudo.

Estudos químicos realizados com pteridófitas do gênero *Pteris* levaram ao isolamento de diferentes classes de metabólitos secundários. De *P. vittata* Schkuhr. foi isolado um novo flavonóide derivado de apigenina (Imperato & Telesca 1999); canferol e quercetina 3-O-(X'', X''-di-protocatecol)-glucuronóides (Imperato 2000); o éter derivado do flavonóide, 6-C-beta-celobiosilisoescutelareína-8-metil eter (Imperato & Telesca 2000); e um novo flavonóide C-glicosilado (Imperato 2002).

Imperato (1994a) avaliou a composição química de *P. cretica* L. tendo isolado a partir desta pteridófitas, luteolin 8-C-rhamnoside-7-O-rhamnoside; uma nova flavona glicosilada (Imperato 1994b) e luteolin 7-O-sophoroside (Imperato & Nazzaro 1996).

A partir das frondes de *P. deflexa* Link., Sayago *et al.* (2001) obtiveram uma proteína inibidora de invertase e, a partir de *P. multifida* Poir., foram obtidos compostos com atividades antitumorais (Woerdenbag *et al.* 1996; Lu *et al.* 1999). Li *et al.* (1999) isolaram compostos com propriedades antitumorais a partir de *P. semipinnata* L. Não foram encontrados relatos na literatura tratando de estudos químicos ou biológicos com *P. denticulata*, que foi objeto de avaliação quanto à atividade alelopática, no presente estudo.

Foram encontrados relatos na literatura de *Pityrogramma calomelanos* tratando do isolamento de diversas classes de flavonóides (Asai *et al.* 1990; 1991; 1992a; 1992b; Donelle *et al.* 1987; Favrebonvin *et al.* 1980; Harborne & Williams 1995; Iinuma *et al.* 1993; Sukumaran & Kuttan 1991; Wollenweber & Schneider 2000), que, no presente estudo, foi objeto de avaliações quanto à atividade alelopática.

Tendo em vista a escassez de dados referentes à atividade biológica de Pteridófitas que vegetam no Brasil, em especial no sul de Mato Grosso do Sul, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial de atividade alelopática de cinco espécies de Pteridaceae, *Adiantopsis radiata* (L.) Feé, *Adiantum serratodontatum* Willd, *Adiantum tetraphyllum* Willd, *Pteris denticulata* Sw. var. *denticulata* e *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link var. *calomelanos*, por meio de bioensaios de germinação e crescimento de alface, *Lactuca sativa* (L.) cv. Grand rapids (Asteraceae, Magnoliopsida), e

cebola, *Allium cepa* (L.) cv. Baia periforme (Liliaceae, Liliopsida).

## Material e métodos

As frondes verdes (maioria férteis) das Pteridófitas foram coletadas em matas nativas da região sul-mato-grossense, tendo sido *Adiantopsis radiata*, *Adiantum serratodentatum* e *Pteris denticulata* coletadas na Fazenda Azulão, município de Dourados, MS, Rodovia MS 162 (Dourados - Maracaju), km 22, nas coordenadas geográficas 22°12'S e 54°54'W, a 430m de altitude. A área é um fragmento de mata nativa que faz parte da Floresta Estacional Semidecidual Submontana (Veloso 1992). As espécies *Pityrogramma calomelanos* e *Adiantum tetraphyllum* foram coletadas na Fazenda Curupi, localizada no Ponta Porã, MS, na rodovia estadual que liga o distrito de Itahum ao município Cabeceira do Apa, nas coordenadas geográficas 22°01'30,2"-22°01'41,1"S e 55°39'11,8"-55°39'26,2"W, a 62m de altitude. Esse fragmento protege as nascentes do córrego São José, que deságua no rio Dourados, em região de Cerrado. Uma exsicata de cada uma das espécies foi incorporada ao acervo do Herbário da UFMS, Campo Grande, MS, sob os seguintes números: *Adiantum serratodentatum* Willd., **BRASIL. MS:** Dourados, Faz. Azulão, *Clemente, L.P., Sciamarelli, A. & Carneiro, I.A. 06* (CGMS/BHCB), *Adiantopsis radiata* (L.) Feé, **MS:** Dourados, Faz. Azulão, *Clemente, L.P., Sciamarelli, A. & Carneiro, I.A. 05* (CGMS/BHCB), *Pteris denticulata* Sw. var. *denticulata*, **MS:** Dourados, Faz. Azulão, *Clemente, L.P., Sciamarelli, A. & Carneiro, I.A. 04* (CGMS/BHCB), *Adiantum tetraphyllum* Willd., **MS:** Ponta Porã, Faz. Curupi, *Clemente, L.P., Sciamarelli, A. & Carneiro, I.A. 72* (CGMS/BHCB) e *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link var. *calomelanos*, **MS:** Ponta Porã, Faz. Curupi *Clemente, L.P., Sciamarelli, A. & Carneiro, I.A. 67* (CGMS/BHCB).

A massa da matéria fresca (frondes verdes), logo após as coletas, foi registrada e acondicionada em freezer. Posteriormente foi reduzida a pequenos fragmentos e submetida à extração através de maceração com etanol (m/v, 1:2). O solvente foi evaporado sob vácuo em rotavapor, para obtenção dos extratos etanólicos brutos (EEB). O teor de água do extrato foi determinado a partir de uma alíquota do extrato, submetido à secagem (100°C) por 10 horas, até que a massa fosse constante por dois dias consecutivos, de modo a verificar a massa de água no

extrato. A massa dos extratos etanólicos das cinco espécies foi obtida em balança analítica marca Scientech Tecnal, modelo S.A 120, de precisão 0,1mg, levando-se em consideração o teor de água; as soluções estoque (1.000mg.L<sup>-1</sup>) foram preparadas em balão volumétrico de 5mL a partir da massa do extrato calculado para cada espécie sendo as concentrações de 500 e 250mg.L<sup>-1</sup> preparadas por diluição.

As placas de Petri foram esterilizadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,01%, durante três horas, lavadas com água destilada exaustivamente e secas em estufa. Os germinadores foram lavados e desinfetados com solução de formol à 37% (Lysoform adquirido comercialmente).

Os extratos das espécies vegetais foram ensaiados com alface, *Lactuca sativa* cv. Grand rapids (Asteraceae, Magnoliopsida), marca Isla Pak e cebola, *Allium cepa* cv. Baia periforme (Liliaceae, Liliopsida), marca Feltrin.

Os bioensaios de germinação e crescimento foram realizados nos Laboratórios de Sementes e de Química do Núcleo de Ciências Agrárias - UFMS. Para os bioensaios de germinação, aplicou-se a metodologia descrita por Nishimura & Nakamura (1984). As placas de Petri (6,0cm diâm.) receberam os discos de papel-filtro Whatman número 1 (5,5cm diâm.), umedecidos com 1mL de solução do extrato etanólico preparado nas concentrações de 250mg.L<sup>-1</sup>, 500mg.L<sup>-1</sup> e 1.000mg.L<sup>-1</sup>. Após a evaporação do solvente, foi adicionado 1,5mL de Tween 80 (100mg/mL) e o conjunto deixado em repouso por 12 horas. Em seguida, cada disco de papel recebeu 50 diásporos das espécies alvo (alface/cebola), distribuídas aleatoriamente, com quatro repetições para cada extrato, conforme Brasil (1992). Como controle, procedimento similar foi utilizado, porém na ausência do extrato vegetal. As placas de Petri contendo os diásporos foram levadas ao germinador, marca Eletrolab Modelo LA, com condições de luz (160W) e temperatura (25°C alface, 15°C cebola, ± 2°C) constantes, sendo os discos de papel filtro mantidos úmidos por meio de regas com água destilada, quando necessário. A contagem de germinação foi realizada diariamente, tendo como critério a protrusão radicular com 2mm compr. O experimento foi considerado concluído quando a germinação foi nula por três dias consecutivos. Para os bioensaios de crescimento foi utilizada a metodologia descrita por Barnes *et al.* (1987). As medidas da radícula e do hipocótilo/coleóptilo de 10 plântulas por placa foram feitas três dias após a germinação, utilizando-se papel milimetrado.

No presente trabalho foram desenvolvidos cinco ensaios, com extratos etanólicos de *Adiantum serratodentatum*, *A. tetraphyllum*, *Adiantopsis radiata*, *Pteris denticulata* e *Pityrogramma calomelanos*, com quatro tratamentos (0, 250, 500 e 1.000mg.L<sup>-1</sup>) em quatro repetições. Cada parcela constituiu-se de 50 diásporos para a germinação e 10 para o crescimento da radícula e do hipocótilo/coleóptilo. O tempo médio de germinação foi calculado de acordo com Labouriau (1983) e os dados de crescimento, foram submetidos a ANOVA (Análise de Variância) com nível de significância  $\alpha = 5\%$ . Nos ensaios com resultados significativos, utilizou-se o teste de Dunnett para verificar quais concentrações dos extratos aplicados apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao controle.

## Resultados e discussão

Bioensaios de germinação e crescimento de *Lactuca sativa* cv. Grand rapids (Alface) - De acordo com a Tabela 1 nenhum dos extratos brutos apresentou efeito significativo sobre a germinação de alface, porém em alguns casos observou-se tendência a inibir a germinabilidade dos aquênios de alface (*Adiantopsis radiata*, *Adiantum serratodentatum* e *Pteris denticulata*). Os resultados obtidos por Olmedo (dados não publicados) indicaram que o extrato etanólico de *Thelypteris scabra* (C. Presll.) Lellinger não alterou o comportamento germinativo de alface, semelhante a alguns trabalhos realizados com extratos aquosos de outros vegetais (Prates *et al.* 2000; Miró *et al.* 1998; Aquila 2000; Ferreira & Aquila 2000), em que a germinação foi menos sensível aos aleloquímicos, confirmando o que foi observado nos resultados aqui apresentados. Entretanto, Chung & Ahn (2000) observaram que o extrato aquoso de cultivares de

*Oryza sativa* L. inibiu a germinação de *Echinochloa crusgalli* var. *crusgalli* (L.) P. Beauv., enquanto Peres *et al.* (1998) e Peres & Malheiros (2001) verificaram que o extrato aquoso do rizoma, frondes verdes, frondes secas e frondes jovens de *Gleichenia pectinata* provocaram nítido retardo no tempo de germinação de *Clidemia hirta* D. Don; porém, observaram aumento significativo no número de sementes germinadas no final do experimento. Peres *et al.* (1998) e Malheiros & Peres (2001) também observaram que as frações de *Gleichenia pectinata* provocaram nítido retardo na germinação dos aquênios de *Lactuca sativa* em todas as concentrações ensaiadas. Nos experimentos realizados observaram também o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Macias *et al.* (1998a) observaram efeitos significativos para os sesquiterpenos isolados de *Helianthus annuus* L. que inibiram a germinação de *Lactuca sativa* em 50% nas concentrações ensaiadas.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados obtidos com os extratos das cinco espécies quanto à interferência sobre o crescimento de plântulas de alface. A maioria dos extratos apresentou tendência a inibir o crescimento; entretanto, somente *Adiantopsis radiata* e *Adiantum tetraphyllum* inibiram significativamente ( $p < 0,05$ ) o crescimento da radícula de alface em todas as concentrações ensaiadas. Nestes casos também observou-se que aumento da concentração acarretou em maior inibição, bem como anormalidades morfológicas, como oxidação do ápice da radícula e ausência de pêlos absorventes. Resultados semelhantes foram observados por Medeiros & Luchesi (1993), em que, para a concentração 25% de extrato de ervilha (*Vicia sativa* L.) ocorreu a protrusão radicular; porém com deformação no hipocótilo e não se desenvolveram pêlos absorventes na alface. Com o aumento da

Tabela 1. Efeito dos extratos etanólicos de pteridófitas sobre o tempo médio de germinação dos aquênios de alface.

Pteridófitas	<sup>1</sup> Germinabilidade (dias)			
	Controle	250mg.L <sup>-1</sup>	500mg.L <sup>-1</sup>	1.000mg.L <sup>-1</sup>
<i>Adiantopsis radiata</i>	0,89±0,46	0,71 <sup>ns</sup> ±0,25	0,80 <sup>ns</sup> ±0,33	0,75 <sup>ns</sup> ±0,35
<i>Adiantum serratodentatum</i>	0,89±0,46	0,79 <sup>ns</sup> ±0,41	0,71 <sup>ns</sup> ±0,24	0,82 <sup>ns</sup> ±0,32
<i>Adiantum tetraphyllum</i>	0,77±0,36	0,79 <sup>ns</sup> ±0,40	0,66 <sup>ns</sup> ±0,26	0,85 <sup>ns</sup> ±0,46
<i>Pteris denticulata</i>	0,89±0,46	0,81 <sup>ns</sup> ±0,38	0,83 <sup>ns</sup> ±0,39	0,72 <sup>ns</sup> ±0,33
<i>Ptyrogramma calomelanos</i>	0,77±0,36	0,65 <sup>ns</sup> ±0,29	0,66 <sup>ns</sup> ±0,28	0,63 <sup>ns</sup> ±0,21

<sup>ns</sup> A média geral do tratamento não difere significativamente da média geral do controle;  $p > 0,05$ . <sup>1</sup> Média geral ± Desvio padrão da média.

Tabela 2. Efeito dos extratos etanólicos de pteridófitas no crescimento de plântulas de alface.

Pteridófitas	<sup>1</sup> Comprimento da radícula (mm)			
	Controle	250mg.L <sup>-1</sup>	500mg.L <sup>-1</sup>	1.000mg.L <sup>-1</sup>
<i>Adiantopsis radiata</i>	37,03±2,77	31,53* ±1,94	27,78* ±2,21	27,13* ±4,06
<i>Adiantum serratodentatum</i>	37,03±2,77	23,25* ±1,29	30,90 <sup>ns</sup> ±2,22	26,38 <sup>ns</sup> ±6,08
<i>Adiantum tetraphyllum</i>	38,28±2,29	27,88* ±3,80	16,80* ±3,51	11,93* ±1,54
<i>Pteris denticulata</i>	37,03±2,77	34,35 <sup>ns</sup> ±2,19	35,63 <sup>ns</sup> ±3,83	31,58 <sup>ns</sup> ±4,96
<i>Pityrogramma calomelanos</i>	38,28±2,29	34,65 <sup>ns</sup> ±1,69	33,63* ±1,89	28,48* ±1,99
<sup>1</sup> Comprimento do hipocótilo (mm)				
<i>Adiantopsis radiata</i>	18,90±1,56	17,85 <sup>ns</sup> ±1,30	17,78 <sup>ns</sup> ±1,41	17,20 <sup>ns</sup> ±2,09
<i>Adiantum serratodentatum</i>	18,90±1,56	17,70 <sup>ns</sup> ±2,67	15,68 <sup>ns</sup> ±2,45	17,03 <sup>ns</sup> ±1,83
<i>Adiantum tetraphyllum</i>	19,15±0,34	6,73* ±0,98	14,15* ±1,46	12,93* ±0,64
<i>Pteris denticulata</i>	18,90±1,56	17,18 <sup>ns</sup> ±1,02	16,88 <sup>ns</sup> ±0,37	15,43* ±1,21
<i>Pityrogramma calomelanos</i>	19,15±0,34	18,38 <sup>ns</sup> ±2,09	18,73 <sup>ns</sup> ±1,37	17,40 <sup>ns</sup> ±1,56

\* A média do tratamento difere significativamente ( $p < 0,05$ ) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnett. <sup>ns</sup> A média do tratamento não difere significativamente da média do controle;  $p > 0,05$ . <sup>1</sup> Média ± Desvio padrão.

concentração, os danos observados foram mais severos como, por exemplo, inibição total da protrusão radicular.

*Adiantum serratodentatum* inibiu o crescimento da radícula das plântulas de alface significativamente na concentração de 250mg.L<sup>-1</sup>, enquanto a espécie *Pityrogramma calomelanos* ocasionou efeito nas concentrações mais elevadas. Somente o extrato de *Adiantum tetraphyllum* inibiu significativamente o crescimento do hipocótilo e da radícula de alface em todas as concentrações testadas. O extrato de *Pteris denticulata*, na concentração de 1.000mg.L<sup>-1</sup> (Tab. 2).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que os extratos das espécies bioensaiadas não interferiram significativamente na germinação; porém nos ensaios de crescimento (Tab. 2) interferiram tanto no desenvolvimento da radícula quanto do hipocótilo das plântulas de alface. Tais resultados diferem dos apresentados por Aquila (1999), em que o extrato de macela (*Achryrocline satureoides* Gardn.) apresentou efeito inibitório sobre a germinação, mas estimulante sobre o desenvolvimento do hipocótilo das plântulas de alface.

Com base nos dados referentes ao crescimento da radícula da alface (Tab. 2) observa-se que houve diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que os valores observados para os experimentos com o extrato de *Adiantum tetraphyllum* foram diferentes daqueles referentes ao extrato de *Adiantum serratodentatum*. Pode-se constatar, ainda, que nem sempre a maior concentração é a que apresenta o

maior efeito, sendo variável de acordo com a espécie. Por exemplo, o extrato de *Pteris denticulata* inibiu o crescimento do hipocótilo na maior concentração, enquanto *Adiantum serratodentatum* inibiu o crescimento da radícula na menor concentração, o que demonstra que a ação dos aleloquímicos é específica em relação à espécie e à concentração.

Bioensaios de germinação e crescimento de *Allium cepa* cv. *Baia periforme* (Cebola) - Por meio da análise dos dados apresentados na Tabela 3 constata-se que os extratos brutos das cinco espécies de pteridófitas em diferentes concentrações, não apresentaram diferenças significativas,  $p > 0,05$ , em relação ao tempo médio de germinação do grupo controle. Macias *et al.* (1998b) observaram que os triterpenos isolados de *Melilotus messanensis* (L.) All. possuíam especificidade para as espécies alvo, sendo a germinação de *Hordeum vulgare* (L.) inibida, em média, 50% em relação ao controle e *Allium cepa* estimulada em 30%, em concentrações moderadas dos triterpenos, por exemplo 10<sup>-5</sup> M.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4, constata-se que os extratos das espécies *Adiantum serratodentatum* e *Pteris denticulata* inibiram significativamente ( $p < 0,05$ ) o crescimento da radícula e coleótilo das plântulas de cebola, enquanto a espécie *Adiantum tetraphyllum* estimulou significativamente o crescimento do coleótilo das plântulas de cebola. Macias *et al.* (1998a) verificaram que os sesquiterpenos isolados de *Helianthus annuus* (L.) inibiram a germinação de

Tabela 3. Efeito dos extratos etanólicos de pteridófitas sobre o tempo médio de germinação de sementes de cebola.

Pteridófitas	<sup>1</sup> Germinabilidade (dias)			
	Controle	250mg.L <sup>-1</sup>	500mg.L <sup>-1</sup>	1.000mg.L <sup>-1</sup>
<i>Adiantopsis radiata</i>	7,43±1,10	6,63 <sup>ns</sup> ±1,32	6,29 <sup>ns</sup> ±1,37	6,59 <sup>ns</sup> ±1,42
<i>Adiantum serratodentatum</i>	6,94±1,46	5,87 <sup>ns</sup> ±0,25	5,67 <sup>ns</sup> ±0,25	5,37 <sup>ns</sup> ±0,36
<i>Adiantum tetraphyllum</i>	5,11±0,78	5,41 <sup>ns</sup> ±0,74	5,26 <sup>ns</sup> ±0,68	5,18 <sup>ns</sup> ±0,60
<i>Pteris denticulata</i>	7,43±1,10	6,24 <sup>ns</sup> ±1,44	6,02 <sup>ns</sup> ±1,32	6,19 <sup>ns</sup> ±1,27
<i>Ptyrogramma calomelanos</i>	5,11±0,78	4,72 <sup>ns</sup> ±0,60	4,65 <sup>ns</sup> ±0,62	5,33 <sup>ns</sup> ±0,86

<sup>ns</sup> A média geral do tratamento não difere significativamente da média geral do controle; p > 0,05. <sup>1</sup> Média geral ± Desvio padrão da média.

Tabela 4. Efeito dos extratos etanólicos de pteridófitas no crescimento de plântulas de cebola.

Pteridófitas	<sup>1</sup> Comprimento da radícula (mm)			
	Controle	250mg.L <sup>-1</sup>	500mg.L <sup>-1</sup>	1.000mg.L <sup>-1</sup>
<i>Adiantopsis radiata</i>	6,83±1,16	6,63 <sup>ns</sup> ±0,67	4,93 <sup>ns</sup> ±0,80	6,63 <sup>ns</sup> ±1,64
<i>Adiantum serratodentatum</i>	7,70±0,32	7,30 <sup>ns</sup> ±0,37	5,95*±0,42	5,60*±0,34
<i>Adiantum tetraphyllum</i>	5,58±0,85	6,38 <sup>ns</sup> ±1,00	6,58 <sup>ns</sup> ±0,80	6,68 <sup>ns</sup> ±0,75
<i>Pteris denticulata</i>	6,83±1,16	6,65 <sup>ns</sup> ±0,47	6,15 <sup>ns</sup> ±0,44	5,33*±0,30
<i>Ptyrogramma calomelanos</i>	5,58±0,85	5,90 <sup>ns</sup> ±0,93	5,95 <sup>ns</sup> ±0,48	6,3r <sup>ns</sup> ±0,70
<sup>1</sup> Comprimento médio do coleóptilo (mm)				
<i>Adiantopsis radiata</i>	8,50±1,14	8,13 <sup>ns</sup> ±0,93	6,88 <sup>ns</sup> ±0,68	7,58 <sup>ns</sup> ±1,38
<i>Adiantum serratodentatum</i>	8,95±0,31	8,40 <sup>ns</sup> ±0,39	7,05*±0,48	6,80*±0,41
<i>Adiantum tetraphyllum</i>	6,98±0,28	7,38 <sup>ns</sup> ±0,56	8,25*±0,37	8,40*±0,23
<i>Pteris denticulata</i>	8,50±1,14	7,68 <sup>ns</sup> ±0,53	6,75*±0,13	7,20*±0,41
<i>Ptyrogramma calomelanos</i>	6,98±0,28	7,58 <sup>ns</sup> ±0,58	7,60 <sup>ns</sup> ±0,29	7,93 <sup>ns</sup> ±0,71

\* A média do tratamento difere significativamente (p < 0,05) em comparação com a média do controle, pelo teste de Dunnett. <sup>ns</sup> A média do tratamento não difere significativamente da média do controle; p > 0,05. <sup>1</sup> Média ± Desvio Padrão.

*Allium cepa* em 38 a 47%, e estimularam o crescimento da radícula 63%.

Os resultados obtidos para a germinação e o crescimento de *Lactuca sativa* e *Allium cepa* indicam que o crescimento das plântulas das duas espécies-alvo foi mais sensível à ação dos aleloquímicos presentes nos extratos etanólicos das pteridófitas ensaiadas do que a germinação. Uma explicação possível é a de que a emergência da radícula é feita às custas de suas reservas sendo, por isso, menos sensível à presença de aleloquímicos do que o crescimento das plântulas. Este é um aspecto ecológico importante, uma vez que, com a inibição do desenvolvimento do sistema radicular, há redução na pressão competitiva da planta, o que favorece as espécies vizinhas, que podem assim estabelecer aspectos de dominância. Este fato é amplamente citado na literatura consultada, como em Medeiros & Luchesi (1993); Peres *et al.* (1998); Aquila (2000); Ferreira & Aquila (2000) e Prates *et al.* (2000).

As cinco espécies de pteridófitas, apesar de serem

da mesma família, apresentam comportamento diferente em relação aos efeitos sobre a germinação e o crescimento das espécies-alvo. O mesmo foi observado nos resultados dos testes com os extratos etanólicos das duas espécies do gênero *Adiantum* (*Adiantum serratodentatum* e *Adiantum tetraphyllum*), evidenciando que os produtos do metabolismo secundário são específicos para cada espécie. Além disso, também foram observados diferentes resultados nos testes com os mesmos extratos, quanto aos efeitos sobre a germinação e o crescimento da espécie-alvo dicotiledônea (alface) com relação à monocotiledônea (cebola).

### Agradecimentos

Ao PCOPG/CNPq e PROPP/UFMS, pelo apoio financeiro; aos professores Leila Paes Clemente e Alexandre Salino, pela identificação do material botânico; à Bióloga Ivete Azambuja Carneiro.

## Referências bibliográficas

- Aquila, M.E.A. 1999. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae** **502**: 383-388.
- Aquila, M.E.A. 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Iheringia** **53**: 51-66.
- Asai, F.; Iinuma, M. & Tanaka, T. 1990. Synthesis and structure confirmation of the complex flavonoids in *Pityrogramma calomelanos*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin** **38**(4): 1079-1081.
- Asai, F.; Iinuma, M. & Tanaka, T. 1991. 2 Complex flavonoids in the farinose exudate of *Pityrogramma calomelanos*. **Phytochemistry** **30**(9): 3091-3093.
- Asai, F.; Iinuma, M. & Tanaka, T. 1992a. 5 Complex flavonoids in the farinose exudate of *Pityrogramma calomelanos*. **Phytochemistry** **31**(7): 2487-2490.
- Asai, F.; Iinuma, M. & Tanaka, T. 1992b. 2 Complex flavonoids in the farinose exudate of *Pityrogramma calomelanos*. **Phytochemistry** **33**(1): 229-233.
- Barnes, J.P.; Putnan, A.R.; Burke, B.A. & Aasen, A.J. 1987. Isolation and characterization of allelochemicals in rye herbage. **Phytochemistry** **26**(5): 1385-1390.
- Brahmachari, G. & Chatterjee, D. 2002. Triterpenes from *Adiantum lunulatum*. **Fitoterapia** **73**(5): 363-368.
- Brasil. Ministério da agricultura e Reforma Agraria. 1992. **Regras para a análise de sementes**. SNDA/DNDU/CLU, Brasília.
- Chopra, N.; Alam, M.S.; Ali, M. & Niwa, M. 2001. Isolation and characterization of two novel triterpenes from *Adiantum venustum*. **Indian Journal of Chemistry Section B - Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry** **40**(4): 350-353.
- Chung, M. & Ahn, K.J. 2000. Allelopathic potencial of rice hulls on germination and seedling growth of barnyardgrass. **Agronomy Journal** **92**: 1162-1167.
- Donelle, D.M.X.; Fukuda, N. & Wollenweber, E. 1987. A dihydrocinnamoyl neoflavonoid from *Pityrogramma calomelanos*. **Phytochemistry** **26**(4): 1143-1145.
- Favrebonvin, J.; Jay, M. & Wollenweber, E. 1980. 2 Flavones extracted from exudate of fern *Pityrogramma calomelanos* var. *Aureoflava*. **Phytochemistry** **19**(9): 2043-2045.
- Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** **12** (Edição Especial): 175-204.
- Harborne, J.B. & Williams, C.A. 1995. Anthocyanins and other flavonoids. **Natural Product Reports** **12**(6): 639-657.
- Hayat, S.; Atta-ur-Rahman; Choudhary, M.I.; Khan, K.M.; Latif, H. & Bayer, E. 2002. Two new triterpenes from fern *Adiantum incisum*. **Zeitschrift fur Naturforschung Section B - A Journal of Chemical Sciences** **57**(2): 233-238.
- Iinuma, M.; Tanaka, T. & Asai, F. 1993. Spectral characters of a complex flavonoid isolated from the farinose exudate of *Pityrogramma calomelanos*. **Phytochemistry** **33**(5): 1247-1248.
- Imperato, F. 1991. Xanthone 2,4-di-C-glycosides from asplenium - *Adiantum nigrum*. **Phytochemistry** **30**(11): 3839-3840.
- Imperato, F. 1994a. Luteolin 8-C-rhamnoside-7-O-rhamnoside from *Pteris cretica*. **Phytochemistry** **37**(2): 589-590.
- Imperato, F. 1994b. A new flavone glycoside from the fern *Pteris cretica*. **Experientia** **50**(11-12): 1115-1116.
- Imperato, F. 2000. Kaempferol and quercetin 3-O-(X'', X''-di-protocatechuoyl)-glucuronides from *Pteris vittata*. **American Fern Journal** **90**(4): 141-143.
- Imperato, F. 2002. 3,8-Di-C-arabinosylluteolin, a new flavonoid from *Pteris vittata*. **American Fern Journal** **92**(3): 244-246.
- Imperato, F. & Nazzaro, R. 1996. Luteolin 7-O-sophoroside from *Pteris cretica*. **Phytochemistry** **41**(1): 337-338.
- Imperato, F. & Telesca, A. 1999. 3-C-(6'''-O-acetyl-beta-cellobiosyl) apigenin, a new flavonoid from *Pteris vittata*. **American Fern Journal** **89**(3): 217-220.
- Imperato, F. & Telesca, A. 2000. 6-C-beta-cellobiosylisoscutearein-8-methy ether, a new flavonoid from *Pteris vittata*. **American Fern Journal** **90**(1): 42-45.
- Labouriau, L.G. 1983. **A germinação das sementes**. OEA. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. Monografia 24.
- Li, J.H.; He, C.W.; Liang, N.C.; Mo, L.E. & Zhang, X. 1999. Effects of antitumor compounds isolated from *Pteris semipinnata* L. on DNA topoisomerases and cell cycle of HL-60 cells. **Acta Pharmacological Sinica** **20**(6): 541-545.
- Lu, H.; Hu, J. & Zhang, L.X. 1999. Bioactive constituents from *Pteris multifida*. **Planta Medica** **65**(6): 586-587.
- Macias, F.A.; Varela, R.M.; Torres, A.; Oliva, R.M. & Molinillo, J.M.G. 1998a. Bioactive norsesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potential allelopathic activity. **Phytochemistry** **48**(4): 631-636.
- Macias, F.A.; Simonet, A.M.; Galindo, J.C.G.; Pacheco, P.C. & Sánchez, J.A. 1998b. Bioactive polar triterpenoids from *Melilotus messanensis*. **Phytochemistry** **49**(3): 709-717.
- Medeiros, A.R.M. & Luchesi, A.A. 1993. Efeitos alelopáticos da ervilha (*Vicia sativa* L.) sobre a alface em testes de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **28**(1): 9-14.
- Miró, C.P.; Ferreira, A.G. & Aquila, M.E.A. 1998. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **33**(8): 1261-1270.
- Mukherjee, K.S.; Brahmachari, G.; Chatterjee, D. & Mukherjee, P. 2001. Triterpene from *Adiantum lunulatum*. **Journal of the Indian Chemical Society** **78**(5): 267-268.
- Munesada, K.; Siddiqui, H.L. & Suga, T. 1992. Biologically active labdane-type diterpene glycosides from the root-stalks of *Gleichenia japonica*. **Phytochemistry** **31**(5): 1533-36.

- Nakane, T.; Maeda, Y.; Ebihara, H.; Arai, Y.; Masuda, K.; Takano, A.; Ageta, H.; Shiojima, K.; Cai, S.Q. & Abdel-Halim, S.B. 2002. Fern constituents: Triterpenoids from *Adiantum capillus-veneris*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** **50**(9): 1273-1275.
- Nishimura, H. & Nakamura, T.M.J. 1984. Allelopathic effects of p-Menthane – 3,8 – Diols in *Eucalyptus citriodora*. **Phytochemistry** **23**(12): 2777-2779.
- Peres, M.T.L.P. & Malheiros, A. 2001. Alelopatia: Interações químicas entre espécies. In: R.A. Yunes & J.B. Calixto (eds.). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Editora Universitária Argus, Chapecó-SC.
- Peres, M.T.L.P.; Pizzolatti, M.G.; Queiroz, M.H. & Yunes, R.A. 1998. Potencial de atividade alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (Pr.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **33**: 131-137.
- Prates, H.T.; Paes, J.M.V.; Pires, N.M.; Pereira Filho, I.A. & Magalhães, P.C. 2000. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **35**(5): 909-914.
- Reddy, V.L.N.; Ravikanth, V.; Rao, T.P.; Diwan, P.V. & Venkateswarlu, Y. 2001. A new triterpenoid from the fern *Adiantum lunulatum* and evaluation of antibacterial activity. **Fitoterapia** **56**(2): 173-175.
- Saito, K.; Nagao, T.; Matoba, M.; Koyama, K.; Natori, S.; Murakami, T. & Saiki, Y. 1989. Chemical assay of ptaquiloside, the carcinogen of *Pteridium aquilinum*, and the distribution of related compounds in the Pteridaceae. **Phytochemistry** **28**(6): 1605-1611.
- Saito, M.L. & Luchini, F. 1998. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA.
- Sayago, J.E.; Vattuone, M.A. & Sampietro, A.R. 2001. An invertase inhibitory protein from *Pteris deflexa* link fronds. **Journal of Enzyme Inhibition** **16**(6): 517-525.
- Shiojima, K. & Ageta, H. 1994. Fern constituents – Triterpenoids isolated from leaves of *Adiantum edgeworthii* - Structures of 19-alfa-hidroxiadiantone and fern-9(11)-en-25-oic acid. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** **42**(1): 45-47.
- Shiojima, K.; Arai, Y.; Kasama, T. & Ageta, H. 1993a. Fern constituents Triterpenoids isolated from the leaves of *Adiantum monochlamys* - Filicenol A, filicenol B, isoadiantol B, hakonanediol and epihakonanediol. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** **41**(2): 262-267.
- Shiojima, K.; Arai, Y.; Nakane, T.; Ageta, H. & Cai, S.Q. 1997. Fern constituents: *Adiantum cuneatum*. 3. Four new triterpenoids, 4,23-bisnor-3,4-secofilic-5(24)-en-3-ol, 4,23-bisnor-3,3-dimethoxy-3,4-secofilic-5(24)-ene, 7 beta,25-epoxyfern-9(11)-en-8 alpha-ol and 7 alpha,8 alpha-epoxyfern-25-ol. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** **45**(10): 1608-1610.
- Shiojima, K.; Sasaki, Y. & Ageta, H. 1993 b. Fern constituents – Triterpenoids isolated from the leaves of *Adiantum pedatum*. 23-Hidroxyfernene, glaucanol-A and filicenoic acid. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** **41**(2): 268-271.
- Sukumaran, K. & Kuttan, R. 1991. Screening of 11 ferns for cytotoxic and antitumor potential with special reference to *Pityrogramma calomelanos*. **Journal of Ethnopharmacology** **34**(1): 93-96.
- Tsuzuki, K.; Ohashi, A.; Arai, Y.; Masuda, K.; Takano, A.; Shiojima, K.; Ageta, H. & Cai, S.Q. 2001. Triterpenoids from *Adiantum caudatum*. **Phytochemistry** **58**(2): 363-367.
- Veloso, H.P. 1992. **Manual técnico da vegetação brasileira Rio de Janeiro**: IBGE. 91p.
- Woerdenbag, H.J.; Lutke, L.R.; Bos, R.; Stevens, J.F.; Hulst, R.; Kruizinga, W.H.; Zhu, Y.P.; Elema, E.T.; Hendriks, H.; van Uden, W. & Pras, N. 1996. Isolation of two cytotoxic diterpenes from the fern *Pteris multifida*. **Zeitschrift fur Naturforschung** **51**(9-10): 635-638.
- Wollenweber, E. & Schneider, H. 2000. Lipophilic exudates of Pteridaceae - chemistry and chemotaxonomy. **Biochemical Systematics and Ecology** **28**(8): 751-777.