

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO EFEITO ALELOPÁTICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Artemisia absinthium* L. E *Citrus limettioides*.

Pedro Henrique R. Lopes¹, Ivone G. de Paiva²; Beatriz de A. Araújo³, Antonio de Assis L. Souza³, Jean Parcellini C. do Vale⁴, Paulo N. Bandeira⁴, Hélcio S. dos Santos⁴, Mário G. de Carvalho⁵, Francisco José C. Moreira⁶, Lucélia S. Parente⁶, Geovany A. Gomes⁷

1. Estudante de IC do Curso de Química da UVA
2. Estudante de IC do Curso Técnico em Fruticultura do IFCE
3. Estudante de IC do Curso de Tecnologia de Irrigação e Drenagem do IFCE
4. Pesquisador do Curso de Química da UVA
5. Pesquisador do Curso de Química da UFRRJ
6. Curso de Irrigação e Drenagem do IFCE / Orientador(a)
7. Curso de Química da UVA / Orientador

Resumo:

O objetivo deste trabalho foi determinar a composição dos óleos essenciais de *Artemisia absinthium* (OAA) e *Citrus limettioides* (OCL), bem como avaliar o efeito alelopático dos mesmos sobre alface.

As análises dos óleos em CG/EM e CG/DIC possibilitou identificar *d*-limoneno como constituinte mais abundante de OCL, e β -tuiona e acetato de *trans*-sabinila como majoritários em OAA.

Para avaliar germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), altura da planta (ALT) e comprimento da raiz (CR), os óleos foram testados em concentrações variando entre 0,0 a 2,0% (v/v). Com o aumento das concentrações, observou-se a eficácia de OCL na redução desses parâmetros, já OAA só afetou a redução de ALT e CR. Os componentes majoritários dos óleos podem ser responsáveis por esses efeitos fitotóxicos.

Palavras-chave: Aleloquímicos; vigor; plantas daninhas.

Introdução:

As plantas daninhas têm sido um grande problema para a agricultura mundial, pois todos os anos cerca de 10% das culturas do mundo são perdidas devido a danos causados por essas ervas, sendo o uso de herbicidas sintéticos a principal forma de controle dessa praga nos países desenvolvidos¹.

Entretanto, o emprego contínuo desses produtos causa danos ao meio ambiente, favorece o desenvolvimento de ervas daninhas resistentes e acarreta prejuízos a saúde humana². Assim, a preocupação com os efeitos danosos dos agrotóxicos têm aumentado a busca por novas estratégias para o controle de ervas daninhas, como o emprego de produtos naturais de origem vegetal que são conhecidos

pela baixa toxicidade para mamíferos e biodegradabilidade³.

Dentre os fitoquímicos que podem apresentar efeito inibidor contra ervas daninhas, estão os óleos essenciais, misturas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos principalmente por fenilpropanóides e terpenóides⁴.

Artemisia absinthium L. (Asteraceae), vulgarmente conhecida como "absinto", é uma planta usada tradicionalmente como anti-helmíntica, anti-séptica, antiespasmódica e para tratamento de câncer, disenteria bacilar e doenças neurodegenerativas⁵. Seu óleo essencial possui propriedades antimicrobiana, antiparasitária, inseticida⁶ e herbicida⁷ comprovadas.

Citrus limettioides (Rutaceae), conhecida popularmente como lima-da-pérsia, é empregada na medicina popular para tratamento de sinusite, e também como antitérmica e hipotensora⁸. A literatura registra para seu óleo propriedades antioxidante⁹, anticancer¹⁰ e antimicrobiana⁸.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição química dos óleos essenciais de *A. absinthium* (OAA) e *C. limettioides* (OCL), bem como avaliar o efeito alelopático dos mesmos sobre *Lactuca sativa* (alface) 'Elba'.

Metodologia:

OCL e OAA foram adquiridos comercialmente na loja virtual de uma empresa do ramo de Aromaterapia. OCL é de origem brasileira e é obtido a partir da prensagem a frio de cascas de seus frutos. Já o OAA é oriundo dos Estados Unidos, sendo o mesmo obtido a partir de suas folhas pelo método de destilação por arraste a vapor.

As análises dos óleos para determinação da composição foram realizadas no Departamento de Química da UFRRJ

(Seropédica-RJ).

Dessa forma, os óleos tiveram sua análise qualitativa efetuada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (CG/EM). Os diversos constituintes dos óleos foram identificados através da comparação visual de seus espectros de massas com aqueles existentes na literatura¹¹ e espectros fornecidos pelo banco de dados (NIST08) do equipamento e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles existentes na literatura¹¹. Uma solução padrão de n-alcenos (C8-C20) foi injetada nas mesmas condições cromatográficas da amostra, e utilizada para obter os índices de retenção conforme descrito por Van Den Dool e Kratz¹².

Para quantificação dos constituintes, os óleos foram analisados em cromatógrafo a gás equipado com um detector de ionização de chamas (CG/DIC). A percentagem dos constituintes foi calculada através da área de integral de seus respectivos picos, relacionadas com a área total de todos os constituintes da amostra.

O bioensaio de atividade alelopática foi efetuado no Laboratório de Fitossanidade e Sementes do IFCE (Sobral-CE).

As sementes usadas no ensaio foram as de alface 'Elba', da empresa Agristar®, lote 024034 com percentagem de germinação de 80%. Para a preparação das diferentes concentrações, cada óleo foi emulsionado com Tween 80® na concentração de 1,0% (v/v). A partir dessa solução foram obtidas soluções aquosas nas concentrações a serem testadas. De cada solução obtida, foram transferidos 3,0 mL para placas de Petri ($\Phi=9,0$ cm), contendo duas folhas de papel germiteste. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5 x 2, sendo cinco concentrações (0,0; 0,25; 0,50; 1,0; e 2,0%) x dois óleos com quatro repetições de 25 sementes cada placa.

As placas foram acondicionadas em incubadora vertical tipo BOD (25 °C) por sete dias, com acompanhamento do processo de germinação durante esse período.

As variáveis avaliadas no teste foram germinação (%G)¹³, índice de velocidade de germinação (IVG)¹⁴, tempo médio de germinação (TMG)¹⁵, altura da planta (ALT) e comprimento da raiz (CR).

Os dados obtidos no ensaio foram tabulados em planilhas no Excel®, em seguida foram submetidos à verificação da homogeneidade das variâncias e o teste F para a comparação das médias, usando o programa estatístico ASSISTAT® 7.7 Beta.

Resultados e Discussão:

Os componentes de OCL e OAA foram identificados e estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição, percentagens dos componentes identificados e das classes (%) nos óleos essenciais de *Citrus limettoides* (OCL) e *Artemisia absinthium* (OAA).

Componentes	OAA (%)	OCL (%)
Hidrocarboneto alifático	0,21	-
Z-salveno	0,21	-
Alcool alifático	0,28	-
n-hexanol	0,28	-
Hidrocarbonetos monoterpênicos	5,41	94,23
α -tuieno	0,04	0,07
α -pineno	0,60	0,65
α -fencheno	0,14	-
sabineno	2,39	0,35
β -pineno	0,36	1,59
mirceno	0,92	1,60
orto-cimeno	0,36	1,24
dL-limoneno	0,60	87,50
γ -terpineno	-	1,23
Monoterpenos oxigenados	58,85	1,41
1,8-cineol	0,25	-
trans-4-tuianol	0,22	-
linalol	2,47	0,53
α -tuiona	2,58	-
β -tuiona	47,92	-
epóxido de beta-ocimeno	2,18	-
trans-sabinol	2,36	-
citronelal	-	0,65
lavandulol	0,61	-
terpinen-4-ol	0,26	-
α -terpineol	-	0,23
Ésteres de monoterpenos	28,56	0,75
acetato de trans-sabinila	25,50	-
acetato de citronelila	-	0,21
acetato de nerila	0,22	0,39
acetato de geranila	-	0,15
isobutanoato de lavandulila	1,31	-
isobutanoato de nerila	1,17	-
isovalerato de lavandulila	0,36	-
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	0,76	2,75
α -ylangeno	0,05	-
β -bourboneno	0,11	-
β -elemeno	0,29	-
β -cariofileno	0,31	-
α -trans-bergamoteno	-	1,08
β -bisaboleno	-	1,67
Sesquiterpeno oxigenado	1,04	-
óxido de cariofileno	1,04	-
Total identificado	95,11	99,14

Em relação ao OCL, um total de 16 constituintes, representando 99,14% desse óleo, foram identificados, sendo a classe

química predominante a dos hidrocarbonetos monoterpênicos (94,23%) e tendo como componentes majoritários a mistura de isômeros *d*-limoneno (87,50 %).

Com respeito ao OAA, 29 compostos, correspondendo a 95,11% desse óleo, foram identificados, sendo a classe de substâncias mais abundante a dos monoterpenos oxigenados (58,85%) e tendo como majoritários os constituintes β -tuiona (47,92%) e acetato de *trans*-sabinila (25,50%).

Vários aleloquímicos, como fenilpropanóides e terpenóides exercem função defensiva e estão envolvidos na inibição e modificação dos padrões de crescimento ou desenvolvimento das plantas.

Nesse sentido, através da análise dos dados obtidos dos bioensaios de atividade alelopática dos dois óleos frente a sementes de alface (Tabela 2), constatou-se que OAA não afetou %G, IVG e TMG, enquanto o OCL mostrou-se eficaz na redução desses parâmetros à medida que a concentração aumentava. Contudo, ambos afetaram significativamente o desenvolvimento das plântulas, chegando a inibir completamente o crescimento radicular na concentração de 2,0%, mas somente OCL, nessa concentração, foi capaz de inibir totalmente a parte aérea.

A inibição do desenvolvimento do sistema radicular pode ser considerada um aspecto ecológico relevante, uma vez que pode levar a uma redução na pressão competitiva entre as espécies vegetais, o que redundaria em favorecimento das espécies desejáveis, que pode assim se estabelecer em maior quantidade¹⁶.

Vários trabalhos relatam o potencial fitotóxico de *Citrus ssp.* Nesse contexto, a literatura descreve que o extrato de cascas de frutos de *C. lemon* frente à alface foi capaz de afetar as variáveis %G, ALT e CR¹⁷ de forma similar aos resultados obtidos no presente trabalho.

Diferentemente do efeito alelopático de OAA apresentado neste trabalho, um estudo realizado com esse óleo frente à *Sinapis arvensis*, revelou que o mesmo na maior dose (2 μ L/mL), além de inibir totalmente o crescimento da parte aérea e de raiz, foi eficaz na inibição total da germinação⁷.

Em muitos casos, o constituinte majoritário é o responsável pela atividade biológica apresentada pelo óleo essencial⁴.

Portanto, a ação fitotóxica exibida pelos óleos no presente estudo pode ser atribuída ao *d*-limoneno, encontrado em OCL, e a β -tuiona e o acetato de *trans*-sabinila, componentes de OAA.

Tabela 2. Médias dos tratamentos das variáveis da germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), altura da planta (ALT) e comprimento da raiz (CR) de plantas de alface 'Elba' submetidas a cinco concentrações (0,0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0%) de óleos essenciais de *Citrus limettioides* (OCL) e *Artemisia absinthium* (OAA).

T (%v/v)	Médias dos tratamentos	
	OAA	OCL
	%G	
0,0%	95,00a	99,00a
0,25%	67,00a	57,00b
0,50%	55,00a	20,00c
1,0%	73,00a	13,00c
2,0%	93,00a	12,00c
DMS	56,81	14,31
	IVG	
0,0%	32,580a	59,235a
0,25%	18,867a	11,019b
0,50%	18,339a	3,647c
1,0%	28,357a	3,855c
2,0%	43,335a	1,411c
DMS	30,679	5,361
	TMG	
0,0%	42,742a	55,842a
0,25%	16,617a	9,126b
0,50%	16,517a	3,076c
1,0%	25,892a	3,534c
2,0%	40,013a	1,126c
DMS	27,613	5,058
	ALT (cm)	
0,0%	2,917a	3,855a
0,25%	2,074ab	2,310b
0,50%	0,517c	2,033b
1,0%	1,110bc	0,743c
2,0%	1,181bc	0,000c
DMS	1,161	0,77
	CR (mm)	
0,0%	2,333a	2,333a
0,25%	2,698a	2,698a
0,50%	2,492a	2,492a
1,0%	0,872b	0,872b
2,0%	0,000b	0,000b
DMS	1,003	1,003

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). DMS: Diferença Mínima Significativa.

Conclusões:

Os resultados obtidos sugerem atividade alelopática de OCL e OAA sobre sementes de *Lactuca sativa* (alface).

Assim, com o aumento das concentrações dos óleos essenciais, verificou-se a eficácia de OCL na redução de todos os parâmetros avaliados, já OAA somente afetou a redução de ALT e CR.

Os componentes majoritários desses óleos podem ser responsáveis pelos efeitos

alelopáticos observados.

Referências bibliográficas

1. BESSA, T; TERRONES, M. G. H.; SANTOS, D. Q. Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus*. **Horizonte Científico**, v. 1, p. 1-17, 2007.
2. LOTINA-HENNSEN, B.; KING-DÍAZ, B.; PEREDA-MIRANDA, R. Tricolorin A as a natural herbicide. **Molecules**, v. 18, p. 778-788, 2013.
3. CORREA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N.. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 13, p. 500-506, 2011.
4. OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **J. Biotec. Biodivers.**, v. 4, p. 162-175, 2013.
5. JOSHI, R. K. Volatile composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing in Western Ghats region of North West Karnataka, India. **Pharm. Biol.**, v. 51, p. 888-92, 2013.
6. BAILÉN, M. et al. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. **Ind. Crops Prod.**, v. 49, p. 102-107, 2013.
7. FOUAD, R. et al. Chemical Composition and Herbicidal Effects of Essential Oils of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, *Eucalyptus cladocalyx*, *Origanum vulgare* L and *Artemisia absinthium* L. cultivated in Morocco. **J. Essent. Oil Bear. Pl.**, v. 18, p. 112 –123, 2015.
8. LOPES, L. T. A. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettioides* Tanaka (Rutaceae). **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 34, p. 503-511, 2013.
9. JANOTI, D. P.; RANA, M.; RAWAT, A. K. Comparative antioxidant activity of essential oil of leaves of *Citrus limettioides* and *Citrus pseudolimon* of Nainital District. **J Pharmacogn Phytochem**, v. 2, p. 24-26, 2014.
10. JAYAPRAKASHA, G. K. et al. Chemical composition of volatile oil from *Citrus limettioides* and their inhibition of colon cancer cell proliferation. **Indust. Crops Prod.**, v. 45, p. 200–207, 2013.
11. ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, USA, 2007.
12. VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 11, p. 463-471, 1963.
13. LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **An Acad Bras Cienc**, v. 48, p. 174-186, 1976.
14. MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.
15. LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.
16. SILVA, M. A. P et al. Potencial alelopático de *Caryocar coriaceum* Wittm na germinação e crescimento inicial de plântulas de alface. **Cad. Cult. Cienc.**, v. 13, p.17-24, 2014.
17. NATH, S.; YUMNAM, P.; DEB, B. Allelopathic effect of lemon plant parts on the seedling germination and growth of lettuce and cabbage. **Int J Plant Biol Res**, v. 4, p. 1-5, 2016.