
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE *Ruta graveolens* L. (Rutaceae)
NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* cv.
Babá.**

**ASSESSMENT OF THE ALLELOPATHIC ACTIVITY OF THE *Ruta graveolens* L.
(Rutaceae) IN THE GERMINATION AND GROWTH OF SEEDS FROM *Lactuca*
sativa cv. Babá.**

SANTOS, Luciana M.¹; SENS, Rafeale C.V.¹; DIAS, Josiane F.G.², BALESTRIM,
Luciana¹; KALEGARI, Milena², MIGUEL, Obdulio G. ², MIGUEL, Marilis D.^{1*}

¹ Laboratório de Farmacotécnica, Departamento de Farmácia, UFPR.

² Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Farmácia, UFPR.

*e-mail: dallarmi@ufpr.br

REC:03/09 AC:04/09

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar propriedades alelopáticas do extrato metanólico e das frações hexano e diclorometano das partes aéreas de *Ruta graveolens* sobre germinação e crescimento de sementes de *Lactuca sativa*. Para controle utilizaram-se água destilada, metanol, hexano e diclorometano. O extrato metanólico e respectivas frações apresentaram resultados significativos.

Palavras-chave: Alelopatia, *Ruta*, *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

This study had as objective to assess allelopathics properties of the methanolic extract and of the hexane and dichloromethane fractions of the aerial parts from *Ruta graveolens* in the germination and growth of seeds of *Lactuca sativa*. Distilled water, methanol, hexane and dichloromethane were used as control. The methanolic extract and fractions have presented significant results.

Key words: Allelopathy, *Ruta*, *Lactuca sativa*.

1. INTRODUÇÃO

A família Rutaceae apresenta cerca de 150 gêneros com plantas subarbustivas ou arbóreas com folhas compostas, geralmente alternadas, sem estípulas, com glândulas oleíferas. Podem apresentar espinhos, suas flores são perfumadas, hermafroditas com pétalas livres ou fimbriadas de cor verde-amarelada (JOLY, 1998). Apresenta alcalóides, lactonas, flavonóides, cumarinas e óleo essencial (VON HELLEMONT, 1988). O óleo essencial contém vários compostos como cetonas, álcoois, ésteres e terpenos (SCHAUENBERG & PARIS, 1990).

A propriedade antioxidante e capacidade de redução dos níveis de triacilgliceróis da rutina, um flavonóide isolado de *Ruta graveolens*, foram citadas por BERNARDO *et*

al., 2002. A rotina também apresenta atividade antibacteriana e alelopática (BASILE *et al.*, 2000).

Trabalhos conduzidos anteriormente verificaram algumas propriedades da *Ruta graveolens*, entre eles, efeito citotóxico do extrato de éter de petróleo (TROVATO *et al.*, 1996), atividade alelopática do óleo essencial (DE FEO *et al.*, 2002) e atividade antifúngica do extrato de acetato de etila das folhas (OLIVA *et al.*, 2003).

O termo alelopatia deriva das palavras gregas *allelon*=mútuo e *pathos*=prejuízo sendo citado pela primeira vez em 1937 pelo alemão Hans Molish. Vários autores definiram a alelopatia, mas a IAS (*International Allelopathy Society*) definiu como processos que envolvem a produção de metabólitos secundários por plantas e microrganismos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos com efeitos positivos e negativos (MALHEIROS & PERES, 2001; PINTO *et al.*, 2002).

A alelopatia enquanto atividade biológica propõe uma área de pesquisa de grande importância, permitindo a busca de substâncias de origem vegetal com atividade herbicida, propiciando alternativa ecologicamente benigna no cultivo de drogas enquanto insumo farmacêutico para indústria de fitoterápicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas (300g) de *Ruta graveolens* foram submetidas à maceração a frio com metanol durante sete dias obtendo-se o extrato metanólico, o qual foi submetido à partição líquido-líquido com n-hexano e diclorometano.

O extrato metanólico e as frações hexano e diclorometano foram diluídos em sete concentrações decrescentes (0,6mg, 0,4mg, 0,3mg, 0,2mg, 0,1mg, 0,05mg e 0,025mg) em 2mL do referido solvente. Os papéis de filtro (*Whatman* n.º. 6) recortados do tamanho das caixas Gerbox foram embebidos com as concentrações das amostras e colocados em estufa a 60 °C por 24 horas (DIAS *et al.*, 2005).

Após total evaporação do solvente, em fluxo laminar, os papéis de filtro foram acomodados nas caixas Gerbox e umedecidos com 3 mL de água destilada sendo depositada em cada caixa Gerbox, 20 sementes de *Lactuca sativa* cultivar Babá (com 99% de germinação detectada por meio de teste padrão de germinação) em quatro repetições. As caixas Gerbox foram envoltas com papel alumínio e colocadas em germinador à temperatura de 20°C. Preparou-se para cada concentração, duas repetições, a primeira para verificação da germinação e outra para estudo do crescimento.

Para tratamento controle da germinação e do crescimento utilizou-se água destilada sob as mesmas condições. Para verificação da germinação, procedeu-se leitura diária durante sete dias com retirada das sementes germinadas. As sementes foram consideradas germinadas conforme descrito por DE FEO *et. al.* (2002) e ADEGAS *et. al.* (2003), ou seja, quando se tornou visível a protrusão da radícula através do tegumento. A abertura diária das caixas Gerbox foi realizada em fluxo laminar. Calculou-se o índice da velocidade de germinação segundo MAGUIRE (1962) e os dados obtidos foram submetidos ao Teste de Scott Knott (5 % de probabilidade) (FERREIRA, 2000).

Para verificação do crescimento realizou-se ao final do sétimo dia, leitura do crescimento do hipocótilo e da radícula em papel milimetrado com auxílio de pinça. Os dados obtidos com as leituras de hipocótilo e radícula foram submetidos ao Teste de Scott-Knott (5% de probabilidade) (FERREIRA, 2000). O tratamento foi considerado efetivo quando todas as repetições estiveram no mesmo grupo de médias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

QUADRO 1- ANÁLISE ESTATÍSTICA DA GERMINAÇÃO DO ENSAIO ALELOPÁTICO DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO E DAS FRAÇÕES HEXANO E

GERMINAÇÃO – IVG (Teste de Scott Knott $P < 0,05$)											
Amostra	0,6mg	0,4mg	0,3mg	0,2mg	0,1mg	0,05mg	0,025mg	CA	CM	CH	CDCM
EM	9,0500 a	9,0000 a	9,2500 a	9,0000 a	9,3750 a	9,7500 a	9,2575 a	9,8750 a	8,7500 a	-	-
FH	9,3750 a	8,8000 a	9,1250 a	8,9250 a	8,8750 a	9,3750 a	9,7500 a	9,8750 a	-	9,7500 a	-
FDCM	8,9575 b	9,6250 a	9,6250 a	9,6250 a	9,0500 b	9,6250 a	9,7500 a	9,8750 a	-	-	9,5000 a

LEGENDA: CA = controle água; CM = controle metanol; CH = controle hexano; CDCM = controle diclorometano; EM = extrato bruto metanólico; FH = fração hexano e FDCM = fração diclorometano.

QUADRO 2- ANÁLISE ESTATÍSTICA DO CRESCIMENTO DO ENSAIO ALELOPÁTICO DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO DE *Ruta graveolens*

CRESCIMENTO – EM (Teste de Scott Knott $P < 0,05$)								
Tratamento - repetição	Radícula				Hipocótilo			
	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	
0,025mg - 1	37,70 b	0.3mg - 3	24,10 a	0,025mg - 1	20,70 b	0.3mg - 3	14,80 a	
0,025mg - 2	38,00 b	0.3mg - 4	29,50 a	0,025mg - 2	24,00 b	0.3mg - 4	21,60 b	
0,025mg - 3	40,40 b	0.4mg - 1	41,00 b	0,025mg - 3	23,90 b	0.4mg - 1	18,30 a	
0,025mg - 4	31,90 b	0.4mg - 2	39,10 b	0,025mg - 4	20,50 b	0.4mg - 2	15,90 a	
0,05mg - 1	37,10 b	0.4mg - 3	34,70 b	0,05mg - 1	23,10 b	0.4mg - 3	18,40 a	
0,05mg - 2	37,90 b	0.4mg - 4	31,90 b	0,05mg - 2	24,90 b	0.4mg - 4	13,50 a	
0,05mg - 3	33,40 b	0.6mg - 1	32,20 b	0,05mg - 3	21,70 b	0.6mg - 1	19,00 a	
0,05mg - 4	35,60 b	0.6mg - 2	28,30 a	0,05mg - 4	21,30 b	0.6mg - 2	23,40 b	
0,1mg - 1	37,50 b	0.6mg - 3	24,50 a	0.1mg - 1	15,50 a	0.6mg - 3	26,70 b	
0,1mg - 2	38,30 b	0.6mg - 4	25,70 a	0.1mg - 2	16,70 a	0.6mg - 4	25,90 b	
0,1mg - 3	29,10 b	CM - 1	32,10 b	0.1mg - 3	15,90 a	CM - 1	23,90 b	
0,1mg - 4	32,20 b	CM - 2	36,20 b	0.1mg - 4	13,20 a	CM - 2	24,80 b	
0,2mg - 1	35,60 b	CM - 3	37,50 b	0,2mg - 1	23,90 b	CM - 3	24,00 b	
0,2mg - 2	34,50 b	CM - 4	35,60 b	0,2mg - 2	25,30 b	CM - 4	23,10 b	
0,2mg - 3	33,60 b	CA - 1	34,80 b	0,2mg - 3	24,80 b	CA - 1	20,30 b	
0,2mg - 4	34,70 b	CA - 2	35,70 b	0,2mg - 4	24,20 b	CA - 2	20,70 b	
0,3mg - 1	36,20 b	CA - 3	34,50 b	0,3mg - 1	22,80 b	CA - 3	26,70 b	
0,3mg - 2	39,90 b	CA - 4	34,70 b	0,3mg - 2	24,80 b	CA - 4	24,80 b	

LEGENDA: CA = controle água; CM = controle metanol e EM = extrato bruto metanólico.

QUADRO 3- ANÁLISE ESTATÍSTICA DO CRESCIMENTO DO ENSAIO ALELOPÁTICO DAS FRAÇÕES HEXANO E DICLOROMETANO DE *Ruta graveolens*

CRESCIMENTO – FH (Teste de Scott Knott $P < 0,05$)							
Radícula				Hipocótilo			
Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)
0,025mg – 1	28,50 a	0.3mg – 3	26,50 a	0,025mg – 1	23,70 b	0.3mg – 3	21,10 b
0,025mg – 2	29,40 a	0.3mg – 4	27,80 a	0,025mg – 2	22,00 b	0.3mg – 4	20,10 b
0,025mg – 3	26,90 a	0.4mg – 1	26,70 b	0,025mg – 3	21,80 b	0.4mg – 1	18,90 b
0,025mg – 4	22,10 a	0.4mg – 2	32,00 b	0,025mg – 4	18,40 b	0.4mg – 2	19,70 b
0.05mg – 1	24,60 b	0.4mg – 3	32,90 b	0.05mg – 1	20,60 b	0.4mg – 3	19,50 b
0.05mg – 2	33,90 b	0.4mg – 4	26,10 b	0.05mg – 2	21,00 b	0.4mg – 4	18,60 b
0.05mg – 3	20,80 a	0.6mg – 1	31,70 b	0.05mg – 3	19,60 b	0.6mg – 1	16,40 a
0.05mg – 4	28,50 a	0.6mg – 2	29,00 b	0.05mg – 4	20,20 b	0.6mg – 2	16,30 a
0.1mg – 1	35,00 b	0.6mg – 3	27,10 b	0.1mg – 1	23,30 b	0.6mg – 3	19,10 b
0.1mg – 2	31,40 b	0.6mg – 4	28,80 b	0.1mg – 2	22,50 b	0.6mg – 4	18,10 b
0.1mg – 3	33,10 b	CH – 1	33,90 b	0.1mg – 3	23,40 b	CH – 1	24,10 b
0.1mg – 4	26,50 a	CH – 2	33,10 b	0.1mg – 4	20,10 b	CH – 2	20,10 b
0.2mg – 1	26,90 a	CH – 3	32,90 b	0.2mg – 1	14,60 a	CH – 3	19,60 b
0.2mg – 2	25,50 a	CH – 4	31,70 b	0.2mg – 2	18,50 b	CH – 4	21,80 b
0.2mg – 3	25,80 a	CA – 1	34,80 b	0.2mg – 3	18,20 b	CA – 1	20,30 b
0.2mg – 4	21,60 a	CA – 2	35,70 b	0.2mg – 4	14,20 a	CA – 2	20,70 b
0.3mg – 1	22,60 a	CA – 3	35,00 b	0.3mg – 1	13,10 a	CA – 3	19,20 b
0.3mg – 2	28,40 a	CA – 4	33,90 b	0.3mg – 2	24,10 b	CA – 4	18,90 b

CRESCIMENTO – FDCM (Teste de Scott Knott $P < 0,05$)							
Radícula				Hipocótilo			
Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)	Tratamento - repetição	Médias (mm)
0,025mg – 1	29,10 b	0.3mg – 3	33,40 b	0,025mg – 1	20,10 b	0.3mg – 3	14,50 a
0,025mg – 2	33,20 b	0.3mg – 4	29,10 b	0,025mg – 2	18,60 b	0.3mg – 4	16,70 a
0,025mg – 3	31,10 b	0.4mg – 1	34,10 b	0,025mg – 3	17,80 b	0.4mg – 1	20,80 b
0,025mg – 4	34,10 b	0.4mg – 2	34,10 b	0,025mg – 4	20,80 b	0.4mg – 2	19,30 b
0.05mg – 1	30,40 b	0.4mg – 3	21,90 a	0.05mg – 1	17,00 a	0.4mg – 3	14,20 a
0.05mg – 2	33,30 b	0.4mg – 4	31,90 b	0.05mg – 2	21,60 b	0.4mg – 4	19,90 b
0.05mg – 3	33,10 b	0.6mg – 1	28,90 b	0.05mg – 3	21,20 b	0.6mg – 1	13,40 a
0.05mg – 4	30,70 b	0.6mg – 2	22,70 a	0.05mg – 4	20,10 b	0.6mg – 2	11,60 a
0.1mg – 1	24,80 b	0.6mg – 3	27,60 a	0.1mg – 1	23,00 b	0.6mg – 3	11,80 a
0.1mg – 2	31,70 b	0.6mg – 4	22,00 a	0.1mg – 2	16,50 a	0.6mg – 4	12,80 a
0.1mg – 3	36,50 b	CDCM – 1	28,90 b	0.1mg – 3	17,00 a	CDCM – 1	23,00 b
0.1mg – 4	30,50 b	CDCM – 2	31,80 b	0.1mg – 4	16,60 a	CDCM – 2	19,30 b
0.2mg – 1	22,60 a	CDCM – 3	33,40 b	0.2mg – 1	15,40 a	CDCM – 3	19,90 b
0.2mg – 2	26,20 a	CDCM – 4	31,70 b	0.2mg – 2	18,70 b	CDCM – 4	17,80 b
0.2mg – 3	22,80 a	CA – 1	24,80 b	0.2mg – 3	18,90 b	CA – 1	20,30 b
0.2mg – 4	26,60 a	CA – 2	35,70 b	0.2mg – 4	22,10 b	CA – 2	20,70 b
0.3mg – 1	31,80 b	CA – 3	30,50 b	0.3mg – 1	15,70 a	CA – 3	19,20 b
0.3mg – 2	33,10 b	CA – 4	31,70 b	0.3mg – 2	16,10 a	CA – 4	18,90 b

LEGENDA: CA = controle água; CH = controle hexano; CDCM = controle diclorometano; FH = fração hexano e FDCM = fração diclorometano.

Verifica-se no quadro 1 a influência inibitória da fração diclorometano na germinação de *L. sativa* nas concentrações de 0,1 mg e 0,6 mg. As concentrações de 0,1 mg e 0,4 mg de extrato metanólico (Quadro 2) e 0,3 mg e 0,6 mg de fração diclorometano (Quadro 3) inibiram o crescimento do hipocótilo de *L. sativa*. O crescimento da radícula foi inibido por 0,025 mg, 0,2 mg e 0,3 mg de fração hexano e 0,2 mg de fração diclorometano (Quadro 3).

A não influência dos solventes utilizados nas soluções foi verificada nos resultados estatisticamente semelhantes entre os controles água destilada, metanol, hexano e

diclorometano.

A germinação não é somente o fenômeno que em condições adequadas o eixo embrionário prossegue em seu desenvolvimento. Deve-se ter em mente as fases que ocorrem antes da retomada do desenvolvimento, que se iniciam com a colocação da semente em substrato adequado e absorção de umidade. A primeira fase é caracterizada pelo aumento da intensidade respiratória, início da degradação de substâncias de reserva e desdobramento destas em substâncias de menor tamanho para facilitar o transporte. Na segunda fase ocorre o transporte das substâncias desdobradas, diminuição da absorção de água e crescimento lento da intensidade respiratória. A partir de um teor de umidade, a semente retorna à intensa absorção de água e respiração, iniciando-se crescimento visível do eixo embrionário e a terceira fase. Substâncias desdobradas na primeira fase e transportadas na segunda fase são reorganizadas em substâncias complexas que, na terceira fase permitem o crescimento do eixo embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 1988). O hipocótilo e a radícula são originados a partir do eixo embrionário, parte vital da semente com tecido meristemático em duas extremidades, com condições de crescimento para dois sentidos, o das raízes (radícula) e o do caule (hipocótilo), originando plântula com condições de fixação ao solo e de fotossintetizar substâncias necessárias (CARVALHO; NAKAGAWA, 1983). Assim, alterações ocorridas no crescimento de radícula ou de hipocótilo das sementes de *Lactuca sativa* podem ter origem na germinação ou nos processos envolvidos na fase de crescimento desse eixo embrionário (MALHEIROS; PERES, 2001).

4. CONCLUSÕES

As frações em estudo das partes aéreas de *Ruta graveolens* apresentaram atividade alelopática inibitória sobre a germinação, o crescimento do hipocótilo e da radícula de *Lactuca sativa* em diversas concentrações. Estes resultados demonstram que a influência alelopática ocorre em determinadas concentrações e sobre alguma das fases de desenvolvimento da planta, refletindo um potencial para atividade herbicida da *Ruta graveolens*.

REFERÊNCIAS

BERNARDO, L.C.; DE OLIVEIRA, M.B.; DA SILVA, C.R.; DANTAS, F.J.; DE MATROS J.C.; CALDEIRA DE ARAÚJO, A.; MOURA, R.S.; BERNARDO FILHO, M. Biological effects of rutin on the survival of *Escherichia coli* AB1157 and on the electrophoretic mobility of plasmid PUC9.1 DNA. **Cell. Mol. Biol**, n.48, n.5, p.517-520, 2002.

BRAULE, R. **Estatística Aplicada com Excel**. Rio de Janeiro: Editora Campus Ltda, 2001. 250p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1983.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1988.

DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; SENATORE, F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v.61, n.5, p.573-578, 2002.

DIAS, J.F.G.; CÍRIO, G.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.220-223, 2005.

FONT QUER, P. **Plantas Medicinales**. Barcelona: Labor, 1980. p.1033

JOLY, A. B. **BOTÂNICA Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998. p.407.

MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p. 503-523.

OLIVA, A.; MEEPAGALA, K.M.; WEDGE, D.E.; HARRIES D.; HALE, A.L.; ALIOTT, G.; DUKE S.O. Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone. **J. Agric. Food. Chem.**, v.51, n.4, p.890-896, 2003.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, n.1, 2002. Disponível em :www.scielo.br . Acesso em: 22 abr. 2004.

SCHAUENBERG, P.; PARIS, F. **Guide to medicinal plants**. Hong Kong: Colorcraft Ltda, 1990. p.120-121.

TROVATO, A.; MONFORTE, M.T.; ROSSITTO A.; FORESTIERI, A.M. In vitro cytotoxic effect of some medicinal plants containing flavonoids. **Boll. Chim. Farm.**, v.135, n.4, p.263-266, 1996.

VON HALLEMONT, J. **Compendrum de phytotherapie**. Bruxelles: A.P.B., 1986. p. 492.