

PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE GOIABEIRAS (*psidium guajava* L.) E POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Marcela Raphael da Costa Ferreira¹, Isadora da Silva Moreira¹, Tércio da Silva de Souza², Adésio Ferreira³

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo/Campus de Alegre, BR 482, Rodovia Cachoeiro/Alegre, Km 47, Distrito de Rive - 29520-000 - Alegre-ES, Brasil, marcelaraphael773@gmail.com , isadoracalegario@gmail.com

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo/Campus Vitória, Av. Vitória, n 1729, Jucutuquara/Vitória, 29040-780 Vitória-ES, Brasil, , tssouza@ifes.edu.br

³Universidade Federal do Espírito Santo/Campus de Alegre, Alto Universitário, s/n, Guararema, 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, adesioferreira@gmail.com.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fitotóxico do óleo essencial de goiabeira (OEGOI) em sementes de alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*). O OEGOI foi aplicado sobre as sementes, resultando em uma diminuição significativa na atividade das enzimas catalase, peroxidase, ascorbato peroxidase e polifenol oxidase, essenciais para a defesa antioxidante e desenvolvimento das plantas. Os resultados demonstram que o OEGOI interfere negativamente nas funções enzimáticas cruciais, sugerindo seu potencial como bio-herbicida e ressaltando a importância de estudos adicionais para explorar suas aplicações na agricultura.

Palavras-chave: Herbicida. Danos na membrana. Mecanismos bioquímicos. Fitotoxicidade. Citotoxicidade.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma. Agronomia.

Introdução

O uso descontrolado de agrotóxicos sintéticos, muitas vezes aplicado em doses elevadas, como no caso dos herbicidas, tem potencializado o desenvolvimento de resistência por parte das plantas daninhas expostas a esses produtos. A literatura relata que a resistência aos herbicidas é uma preocupação crescente na agricultura, destacando a importância de buscar estratégias de manejo sustentável para enfrentar esse desafio (Chauhan et al., 2019; López-González, 2020) e indicam que esses compostos sintéticos têm elevado potencial de causar contaminação de recursos hídricos, ar e solo, resultando em impactos significativos sobre espécies não alvo (Liu et al., 2021 e Perotti et al., 2020; Mancuso et al., 2011; De Oliveira et al., 2011).

Atualmente foram identificados cerca de 20 mecanismos de ação conhecidos para a ação biológica destes herbicidas, esse baixo arcabouço de mecanismos de ação acaba propiciando a geração de organismos resistentes. Isso ocorre devido a alterações no alvo molecular de atuação, em 2019 foram detectadas mais de 500 casos de ervas daninhas resistentes a herbicidas (Chauhan et al., 2019; López-González, 2020).

Uma alternativa, em estudo, que visa contornar esse problema é a utilização de compostos naturais, que consistem em um vasto e diversificado portfólio de designer de estruturas químicas. Dentre os compostos naturais encontram-se os óleos essenciais (OE), estes são misturas complexas de compostos químicos voláteis que constituem uma importante fonte de agentes antibacterianos, inseticidas, fungicidas, nematicidas, herbicidas, antioxidantes, anti-inflamatórios, entre outros (Croteau et al., 2000 e Raveau; Fontaine; Lounès-Hadj Sahraoui, 2020).

Estudos tem apontado o OE como fonte de potenciais bio-herbicidas, já que estes utilizam mecanismos biológicos para controlar ou eliminar plantas específicas. Estes diferentes mecanismos de ação estão associados a grande diversidade das estruturas moleculares presentes em sua composição. Sua origem natural faz com que sejam considerados ecologicamente corretos, já que muitos desses compostos são considerados biodegradáveis quando expostos a fatores ambientais, como luz, oxigênio, temperatura e/ou enzimas metabólicas biológicas, além da baixa toxicidade para

mamíferos e espécies não alvo, baixo custo, e ainda não apresentam efeitos residuais (Lengai et al., 2020; Feng et al., 2019).

Óleos essenciais são produzidos por folhas, flores, raízes e caules através do metabolismo vegetal, e sua composição varia conforme características genéticas e os fatores ambientais. A produção comercial desses óleos depende da biomassa, do rendimento e da composição química, sendo esta última frequentemente instável, o que dificulta a implantação de agroindústrias e apresenta desafios para o setor (Bakkali et al., 2008; Dudareva et al., 2006; Chemat et al., 2012; Adams, 2007; Miguel, 2007; Boutekedjiret et al., 2003).

Neste cenário, estudos têm apontado que o OE de goiabeiras (*Psidium guajava* L.) apresenta elevada estabilidade na composição em diferentes ambientes e elevada produção anual de biomassa, considerando o manejo agrônomo de produção via podas periódicas, o que compensa o baixo rendimento de produção. As substâncias, em sua quase totalidade, são terpenos e terpenoides (De Souza et al., 2018; Mendes et al., 2017). Estes compostos apresentam diversas propriedades biológicas relacionada ao óleo essencial (Chen et al., 2007; Mendes et al., 2017). Desta forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar o potencial fitotoxicidade do óleo essencial das folhas da goiabeira e avaliar os seus possíveis mecanismos bioquímicos de ação sob as plantas modelo alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*).

Metodologia

O óleo essencial das folhas de goiabeira foi adquirido de empresas nacionais especializadas, sendo armazenado a uma temperatura de 0°C, protegido da luz. A densidade do óleo essencial foi determinada por meio do método direto de medição, conforme proposto por De Jesus e Palma (2008), com adaptações. Para isso, foram pipetadas amostras de 0,50 mL de óleo essencial em dez repetições, e suas massas correspondentes foram medidas, assim como a massa de 0,50 mL de água destilada. A densidade foi calculada e expressa como média \pm desvio padrão (g cm⁻³) (De Jesus e Palma, 2008).

Para a caracterização da composição química do óleo essencial, as amostras foram analisadas por cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama (GC-FID) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). As análises foram realizadas com uma coluna capilar de sílica fundida e utilizaram N₂ como gás de arraste. A temperatura do forno foi programada, iniciando a 40°C e aumentando gradativamente até 220°C. A identificação dos componentes do óleo essencial foi realizada por comparação dos espectros de massa com bibliotecas espectrais, além do cálculo dos índices de retenção (De Souza et al., 2017). O percentual relativo de cada composto foi calculado com base na área integral dos picos, utilizando o método de Simulação de Fatores de Resposta Relativa, e foram considerados compostos majoritários aqueles com área relativa acima de 1% (Tissot et al., 2012).

As emulsões para os ensaios de fitotoxicidade foram preparadas conforme a metodologia de Hazrati et al. (2017), utilizando 98% de água, 1% de óleo essencial e 1% de Tween 80, com agitação ultrassônica. Nos ensaios de fitotoxicidade, sementes de alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*) foram expostas a diferentes concentrações de emulsões do óleo essencial, em condições controladas de temperatura e luminosidade. Após 72 horas, foi avaliada a porcentagem de germinação das sementes e calculadas as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) (Hazrati et al., 2017).

Nos ensaios de citotoxicidade, sementes tratadas foram avaliadas quanto ao vazamento relativo de eletrólitos (REL) e às atividades enzimáticas, incluindo catalase, peroxidase, ascorbato peroxidase e polifenoloxidase. Os resultados foram analisados estatisticamente, com significância estabelecida em $p < 0,05$, utilizando o software R para correlações e regressões entre as variáveis (Pouresmaeil et al., 2020).

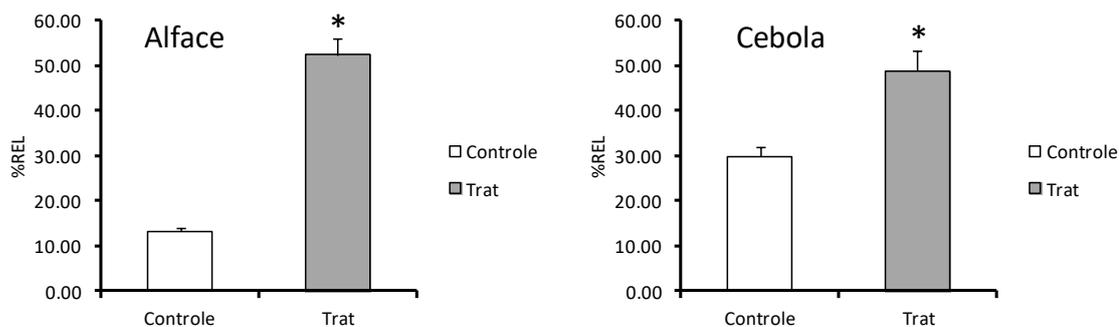
Resultados

Tabela 1. Concentração resposta da fitotoxicidade do OEGoi sobre sementes de alface e cebola.

Planta-Modelo	N	Inclinação	CL50 (IC95) mg L ⁻¹	CL90 (IC95) mg L ⁻¹	χ ²	GL	p-valor
Alface	420	1,24±0,08	2380,65	25822,63	4,46	12	0,03
Cebola	420	1,74 ± 0,12	2574,10	23119,03	5,77	12	0,04

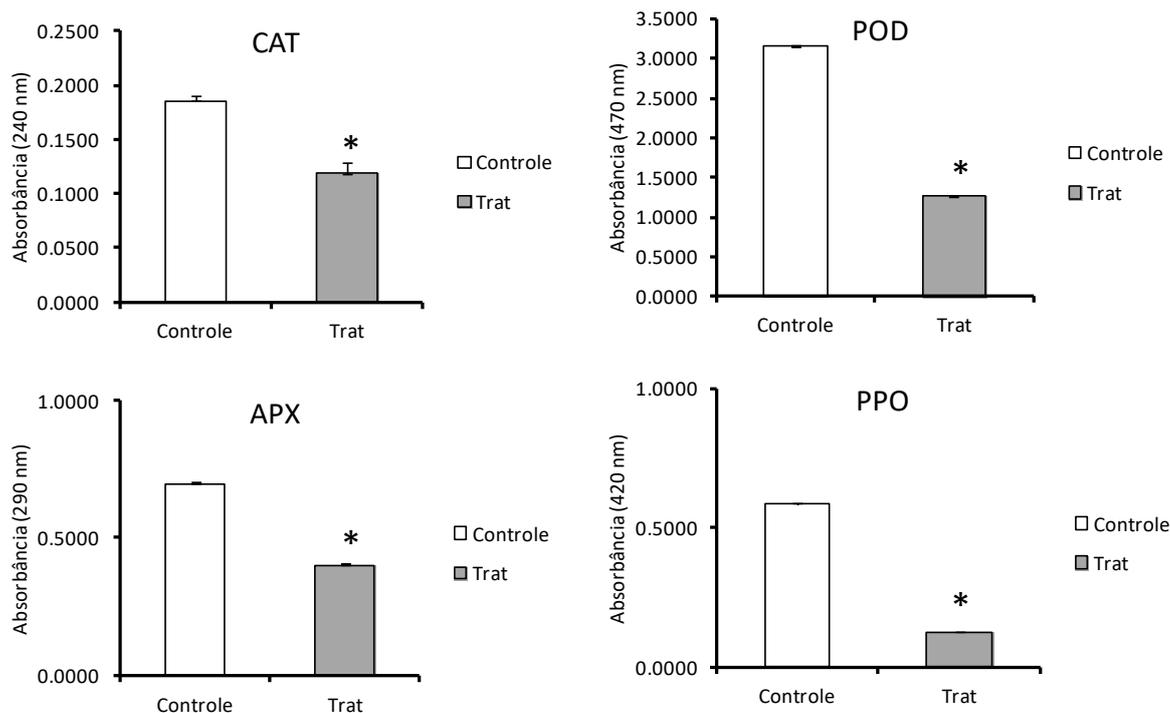
Fonte: Próprio autor, 2024.

Figura 1. Efeito do OEGoi sobre a estrutura de membrana em sementes de alface e cebola.



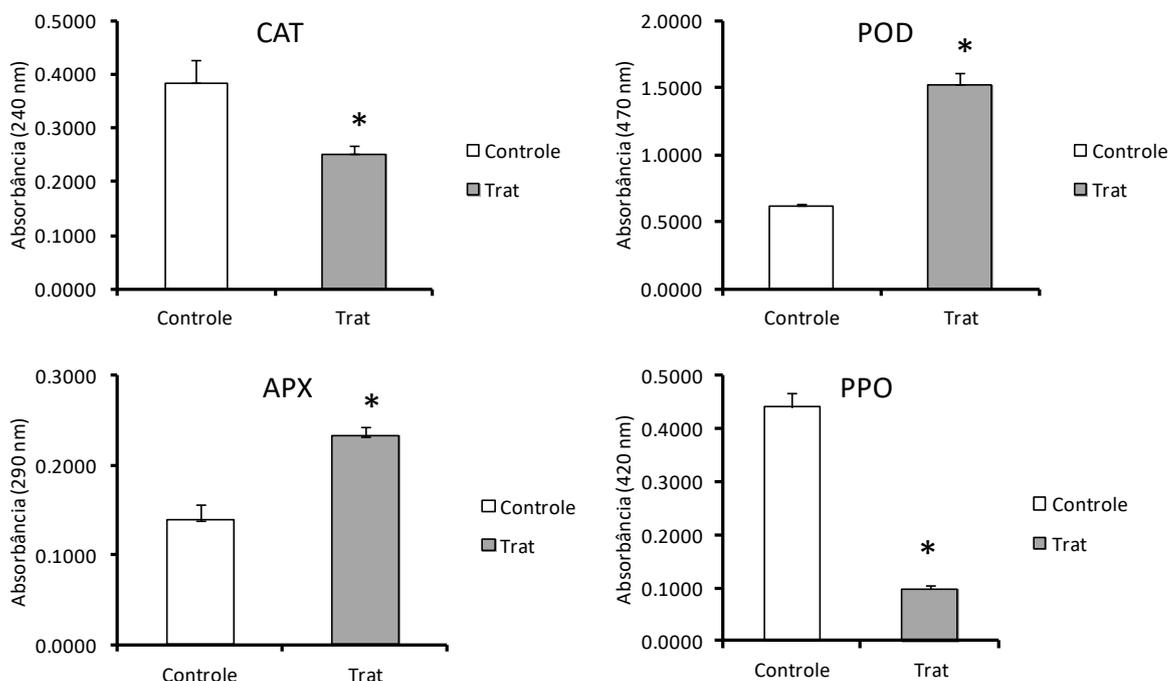
OEGoi– Óleo essencial das folhas de goiabeira C = 20 mg mL⁻¹; Teste t-Student para amostras independentes com variâncias iguais; *p < 0,05, indica diferenças entre médias na presença e ausência do OE-Goi.
Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 2. Alterações na atividade enzimática das sementes de alface (*Lactuca sativa*) na presença do OE-Goi.



OE-Goi– Óleo essencial das folhas de goiabeira C = 20 mg mL⁻¹; Sementes de Alface (*Lactuca sativa*); CAT: *catalases*; POD: *peroxidases*; APX: *ascorbato peroxidase*; PPO: *polifenol oxidase*. Teste t-Student para amostras independentes com variâncias iguais; *p < 0,05, indica diferenças entre médias na presença e ausência do OEGoi.
Fonte: Próprio Autor (2024).

Figura 3. Alterações na atividade enzimática das sementes de cebola (*Allium cepa*) na presença do OE-Goi.



OEGoi– Óleo essencial das folhas de goiabeira C = 20 mg mL⁻¹; Sementes de cebola (*Allium cepa*); CAT: catalases; POD: peroxidases; APX: ascorbato peroxidase; PPO: polifenol oxidase. Teste t-Student para amostras independentes com variâncias iguais; *p < 0,05, indica diferenças entre médias na presença e ausência do OEGoi. Fonte: Próprio autor (2024).

Discussão

A análise cromatográfica do OEGoi permitiu a identificação de 21 compostos, dentre os quais tem-se uma predominância de sesquiterpenos hidrocarbonetos - SH (74,07%) seguidos dos sesquiterpenos oxigenados - SO (20,07%) e monoterpenos oxigenados – MO (5,85%). O efeito fitotóxicos sobre o processo germinativo (Tabela 1) apontam que a presença de OEGoi (2,4 mg mL⁻¹ – Alface e 2,6 mg mL⁻¹) corresponde a CL₅₀ e (25,8 mg mL⁻¹ – Alface e 23,1 mg mL⁻¹) corresponde a CL₉₀, indicando que sua presença afetou significativamente o processo germinativo das sementes testadas, podendo este ser utilizado como herbicida pré-emergente. Provavelmente a ação fitotóxica se dá por alterações bioquímicas que interferem no desenvolvimento celular (Marchi et al., 2008).

Os resultados observados (Figura 1) apontam que a presença de OEGoi na concentração de 20 mg mL⁻¹ promove danos significativos na estrutura de membrana quando comparado com o controle, o que sugere o extravasamento de eletrólitos (%REL) através do rompimento da membrana em ambas as plantas testadas.

Na análise dos efeitos citotóxicos do óleo essencial de goiabeira (OEGoi) sobre sementes de alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*), observou-se uma redução significativa na atividade das principais enzimas antioxidantes e de defesa das plantas. As enzimas catalase (CAT), peroxidase (POD), ascorbato peroxidase (APX) e polifenoloxidase (PPO) desempenham papéis cruciais no controle do estresse oxidativo e na proteção contra danos celulares (Figuras 2 e 3).

A atividade da catalase foi reduzida em 36,3% nas sementes de alface e 34,7% nas sementes de cebola. A catalase é essencial para a decomposição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio, e sua inibição pode levar ao acúmulo de H₂O₂, aumentando o estresse oxidativo e potencialmente ativando mecanismos de resistência sistêmica adquirida (SAR) (Monteiro, 2017). A redução observada sugere uma capacidade comprometida das plantas em lidar com o estresse oxidativo, o que pode afetar negativamente o processo germinativo e a saúde das plântulas.

A atividade da peroxidase apresentou uma redução de 59,9% nas sementes de alface e 147% nas sementes de cebola. A peroxidase desempenha papéis importantes na lignificação, cicatrização de ferimentos e defesa contra patógenos (Campos, 2003). A inibição significativa dessa enzima indica um

impacto profundo nas funções vitais das plantas, prejudicando sua capacidade de se defender contra estresses e patógenos.

A ascorbato peroxidase (APX) teve sua atividade reduzida em 42,5% nas sementes de alface e 67,8% nas sementes de cebola. A APX é fundamental para a detoxificação de espécies reativas de oxigênio, convertendo H_2O_2 em água. A diminuição na atividade da APX compromete a capacidade antioxidante das plantas, aumentando a suscetibilidade a danos oxidativos e afetando negativamente o crescimento e a viabilidade das plântulas (Caverzan, 2008).

A polifenoloxidase (PPO) teve uma redução de 78,5% nas sementes de alface e 77,6% nas sementes de cebola. A PPO é responsável pela oxidação de compostos fenólicos e formação de melanina, que ajuda na defesa contra patógenos e na regulação da senescência (Campos, 2003). A inibição dessa enzima pode prejudicar a capacidade das plantas de responder adequadamente a estresses e patógenos, impactando negativamente seu crescimento e resistência.

Conclusão

A aplicação do óleo essencial de goiabeira (OEGOI) sobre sementes de alface e cebola revelou um impacto fitotóxico significativo, evidenciado pela redução acentuada na atividade de várias enzimas essenciais para a defesa e o desenvolvimento das plantas. A diminuição na atividade das enzimas catalase, peroxidase, ascorbato peroxidase e polifenol oxidase destaca o efeito negativo do OEGOI sobre os mecanismos de desintoxicação e defesa antioxidante das plantas.

Esses resultados indicam que o OEGOI possui um potencial substancial como agente fitotóxico, afetando negativamente funções enzimáticas cruciais e comprometendo a integridade das sementes e o desenvolvimento das plântulas. A evidência de que o OEGOI interfere de forma significativa na atividade de enzimas chave para a defesa e o crescimento das plantas sublinha a importância de realizar estudos adicionais para entender completamente seus mecanismos de ação e explorar suas possíveis aplicações e implicações práticas na agricultura.

Referências

Adams, R.P. 'Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy'. 4ª ed. Illinois, Allured Publishing Corporation, EUA, Carol Stream, 2007. ISBN: 978-1932633214.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, 46(2), 446-475, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. **Flavour and Fragrance Journal**, 18(6), 481-484, 2003. <https://doi.org/10.1002/ffj.1267>

Chauhan, B. S.; Ali, H. H.; Florentine, S. Seed germination ecology of *Bidens pilosa* and its implications for weed management. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52620-9>

Chemat, F., Abert Vian, M., & Cravotto, G. Green extraction of natural products: Concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, 13(7), 8615-8627, 2012. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>

Chen, H.C.; Sheu, M.J.; Lin, L.Y.; Wu, C.M. Chemical composition of the leaf essential oil of *Psidium guajava* L. from Taiwan. **Journal Essential Oil Reserch**. 2007, 19, 345-347. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699300>

Croteau, R. et al. Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry and molecular biology of plants**, v. 24, p. 1250-1319, 2000. Disponível em < <https://instruct.uwo.ca/biology/407b/restricted/pdf/Chpt24.pdf>>

De Oliveira, M.F. et al. **Comportamento dos herbicidas no ambiente**. Embrapa Milho e Sorgo. Cap. 11, (ALICE), p. 10-138, 2011. Disponível em <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/904895/1/Comportamentoherbicidas.pdf>.

De Souza, T.D.S. et al.. Essential oil of *Psidium guajava*: Influence of genotypes and environment. **Scientia horticultrae**, 216, 38-44, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.026>

De Souza, T.S. et al. Chemotype diversity of *Psidium guajava* L. **Phytochemistry**, v. 153, p. 129-137, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.06.006>

Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., & Orlova, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 25(5), 417-440, 2006. <https://doi.org/10.1016/10.1080/07352680600899973>

Feng, G. et al. Herbicidal activities of compounds isolated from the medicinal plant *Piper sarmentosum*. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 41-47, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.020>

HAZRATI, H. et al. Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 142, p. 423-430, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.041>.

Lengai, G. M.W; Muthomi, J. W.; Mbega, E.R. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. **Scientific African**, v. 7, p. e00239, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239>

Liu, J. et al. Physicochemical assessment of environmental behaviors of herbicide atrazine in soils associated with its degradation and bioavailability to weeds. **Chemosphere**, v. 262, p. 127830, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127830>

López-González, D. et al. Phytotoxic activity of the natural compound norharmane on crops, weeds and model plants. **Plants**, v. 9, n. 10, p. 1328, 2020.. <https://doi.org/10.3390/plants9101328>

Mancuso, M.A.C.; Negrisoli, E.; Perim, L. Efeito residual de herbicidas no solo ("Carryover"). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011. <https://doi.org/10.7824/rbh.v10i2.106>

Mendes, L.A., Martins, G.F., Valbon, W.R., DE Souza, T.D.S., Menini, L., Ferreira, A., & Da Silva Ferreira, M.F. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**, 108, 684-689. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.034>

Miguel, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, 15(12), 9252-9287, 2010. <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>

Perotti, V.E. et al. Herbicide resistant weeds: A call to integrate conventional agricultural practices, molecular biology knowledge and new technologies. **Plant Science**, v. 290, p. 110255, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110255>

Pouresmaeil, M. et al. Exploring the bio-control efficacy of *Artemisia fragrans* essential oil on the perennial weed *Convolvulus arvensis*: Inhibitory effects on the photosynthetic machinery and induction of oxidative stress. **Industrial Crops and Products**, v. 155, p. 112785, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112785>

Raveau, R.; Fontaine, J.; Lounès-Hadj s. A. Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. **Foods**, v. 9, n. 3, p. 365, 2020. <https://doi.org/10.3390/foods9030365>

TissoT, E., Rochat, S., Debonneville, C., & Chaintreau, A. Rapid GC-FID quantification technique without authentic samples using predicted response factors. **Flavour and fragrance journal**, 27(4), 290-296, 2012. <https://doi.org/10.1002/ffj.3098>

Agradecimentos

À FAPES pelo apoio financeiro.