

EFEITO ALELOPÁTICO DO EXTRATO AQUOSO DE SEMENTES DE CUMARU
(Amburana cearensis S.) **SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES,**
DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE ALFACE,
PICÃO-PRETO E CARRAPICHO.

ANA RAQUEL DE OLIVEIRA MANO

FORTALEZA-CEARÁ

2006

**EFEITO ALELOPÁTICO DO EXTRATO AQUOSO DE SEMENTES DE CUMARU
(*Amburana cearensis* S.) SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES,
DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE ALFACE,
PICÃO-PRETO E CARRAPICHO.**

ANA RAQUEL DE OLIVEIRA MANO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Orientador: Prof. Dr. Sebastião Medeiros Filho**

FORTALEZA-CEARÁ

2006

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção de Grau em Mestre em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca de Ciências e Tecnologia da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da área científica.

Ana Raquel de Oliveira Mano

Aprovada em ____/____/____

Prof. Sebastião Medeiros Filho, D. Sc.
Orientador - UFC

Pesq. Alek Sandro Dutra, D. Sc.
Conselheiro

Professora Maria Izabel Gallão, D. Sc.
Conselheira

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade e privilégio de ter me permitido chegar até aqui, e se for da vontade Dele ir mais longe.

Ao Prof. D. Sc. Sebastião Medeiros Filho, pela acolhida como sua orientanda, pela confiança, ensinamentos, paciência, amizade e incentivos.

Ao Prof. D. Sc. Edilberto R. Silveira, e ao seu estudante de doutorado Kirley Canuto, pela ajuda e orientação no decorrer do trabalho.

A Profa. D. Sc. Maria Izabel Gallão, por sua dedicação durante o período de execução do trabalho no Laboratório de Citogenética do Departamento de Biologia da UFC.

A pesquisadora D. Sc. Elizita Maria Teófilo, pela pronta e amigável disposição sempre que precisei.

Ao pesquisador D. Sc. Alek Sandro Dutra, pela participação na banca e boa vontade em me atender nos momentos de necessidade.

Ao Prof. D. Sc. Marcos Esmeraldo pelos ensinamentos valiosos de estatística.

À coordenação do Curso de Pós-graduação em Agronomia área de concentração Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, e o CNPq que tornou possível a realização deste trabalho por meio da concessão da bolsa de estudos.

Com um carinho todo especial ao meu marido, Sebastião de Assis Mano Júnior, aos meus pais (Raimundo Lauristo de Oliveira e Raimunda Inês de Oliveira), irmãos (Velma, Júnior e César) e familiares, pelo constante incentivo e ajuda.

As minhas amigas, Roselayne Ferro Furtado e Maria da Conceição Sampaio Alves, de hoje e sempre, pelos momentos de alegria, companheirismo, tristezas e amizade que passamos juntas.

Aos amigos do Laboratório de Análises de Sementes, Fred Denílson, Fábio Diniz, Tiago, Franzé, Rodrigo, Batista, Lucrécio, Dona Rosa, Elane, Andréa, Salete e Adriana, pela ajuda profissional constante e pelos inesquecíveis momentos de descontração.

À minha família,

Sebastião júnior, pais e irmãos,

Dedico com carinho

SUMARIO

LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
Alelopatia: histórico e conceito	3
Biossíntese e natureza química dos aleloquímicos	5
Métodos de liberação de aleloquímicos	6
Função e mecanismos de ação	7
Determinação das potencialidades alelopáticas	8
Utilização de extratos aquosos na alelopatia	9
Plantas medicinais x Alelopatia	12
Descrição das espécies	14
3. CAPÍTULO 1	18
Efeito alelopático do extrato aquoso de semente de cumaru (<i>Amburana cearensis</i> S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface.	
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	19
Local e data dos experimentos	19
Materiais biológicos	19
Preparo de soluções	20
Extração das substâncias químicas	20
Tratamentos	20
Variáveis analisadas	21
Análise estatística	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
CONCLUSÕES	42
4. CAPÍTULO 2	43
Efeito alelopático do extrato aquoso de semente de cumaru (<i>Amburana cearensis</i> S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de picão-preto.	

INTRODUÇÃO	43
MATERIAL E MÉTODOS	44
Local e data dos experimentos	44
Materiais biológicos	45
Preparo das sementes.....	45
Preparo de soluções	45
Extração de cumarina	46
Tratamentos	46
Variáveis analisadas	47
Análise estatística	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
CONCLUSÕES	56
5. CAPÍTULO 3	57
Efeito alelopático do extrato aquoso de semente de cumaru (<i>Amburana cearensis</i> S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de carrapicho.	
INTRODUÇÃO	57
MATERIAL E MÉTODOS	58
Local e data dos experimentos	58
Materiais biológicos	59
Preparo das sementes	59
Preparo de soluções	59
Tratamentos	60
Variáveis analisadas	61
Análise estatística	61
RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
CONCLUSÕES	69
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
7. ANEXOS	83

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- TABELA 1** – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR), comprimento da parte aérea (CPA) e peso seco (PS), obtidos de sementes e plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.23
- TABELA 2** - Médias do percentual de germinação (G) obtidas de sementes de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.24
- TABELA 3** - Médias (mm) do comprimento da radícula (CR) de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.25
- TABELA 4** - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....26
- TABELA 5** - Médias (mg) do peso da matéria seca (PMS) de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....27
- TABELA 6** – Análise de variância dos dados comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de plântulas de alface, submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....29

TABELA 7 - Médias (mm) do comprimento da radícula (CR), obtidas de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.	29
TABELA 8 - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA) obtidos de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....	30
TABELA 9 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....	32
TABELA 10 - Médias do percentual de germinação (G) obtidas de sementes de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....	33
TABELA 11 - Médias (mm) do comprimento da radícula (CR) de plântulas de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....	34
TABELA 12 - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA) obtidos de plântulas de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.....	35
TABELA 13 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de alface submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.....	39
TABELA 14 – Médias do percentual de (G), obtidas de sementes de alface submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.....	40

TABELA 15 – Médias (mm) do comprimento da radícula (CR), obtidas de plântulas de alface, submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.....40

TABELA 17 – Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA), obtidas de plântulas de alface submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.....41

CAPÍTULO 2

TABELA 1 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.49

TABELA 2 – Médias dos dados de percentual de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.....49

TABELA 3 – Análise de variância dos dados comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.....50

TABELA 4 – Médias (mm) dos comprimentos da parte aérea (CPA) e da radícula (CR) e taxa de redução, obtidas de plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.51

TABELA 5 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.....54

TABELA 6 – Médias dos dados, porcentagem de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.....55

CAPÍTULO 3

TABELA 1 – Análise de variância dos dados de porcentagem de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.....62

TABELA 2 – Médias da porcentagem de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.....63

TABELA 3 - Análise de variância dos dados comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de plântulas de carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.....64

TABELA 4 - Médias (mm) dos comprimentos da parte aérea (CPA) e da radícula (CR), obtidos de plântulas carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.....65

TABELA 5 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes de carrapicho submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.....67

TABELA 6 – Médias da porcentagem de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de carrapicho submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.....68

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar métodos (maceração, decocção e infusão) e tempos (30, 60 e 120 min.) de extração, além das substâncias: frações clorofórmio e acetato, e cumarina pura, em diferentes concentrações, do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação, o desenvolvimento e o crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.). Para picão-preto (*Bidens pilosa* L.) e carrapicho (*Cenchrus equinatus* L.) avaliou-se o efeito da concentração do extrato e da cumarina pura sobre sementes e plântulas. Os experimentos foram realizados no laboratório de Análises de Sementes, Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-Ce. O extrato aquoso bruto foi preparado a partir da farinha de sementes de cumaru, sendo utilizado nas seguintes concentrações: 0,19; 0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/mL, e água destilada como controle, totalizando dez tratamentos. As sementes das espécies testadas foram distribuídas em placas de Petri sobre três discos de papel de filtro, previamente umedecidos com o extrato na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato. Posteriormente as placas foram acondicionadas em câmara de germinação regulada à temperatura de 25° C e fotoperíodo de 8h luz/16h escuro, por sete dias. Foram analisadas as variáveis: germinação, comprimento da radícula e da parte aérea das plântulas, em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições (50 sementes/repetição para alface e 25 para picão e carrapicho). O método mais eficiente foi maceração. O tempo de extração com melhores resultados foi o de 30 min. A substância mais potente foi a cumarina pura. Verificou-se ainda que a partir de 6,25 mg/mL do extrato ocorreu uma inibição em 100% da germinação das sementes de alface. A partir da concentração 3,13 mg/mL a germinação de carrapicho foi totalmente inibida. Para picão-preto as concentrações 1,56; 3,13 e 6,25 mg/mL foram as mais danosas. A cumarina pura foi bastante fitotóxica para picão e carrapicho, pois inibiu a germinação de suas sementes nas concentrações testadas. Todas as concentrações do extrato testadas apresentaram efeitos tóxicos às plântulas das espécies testadas, em maior ou menor intensidade.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate methods (maceration, decoction and infusion) and times (30, 60 and 120 min.) of extraction, besides the substances: fractions chloroform and acetate, and pure coumarin, in different concentrations, of the aqueous extract of cumaru seeds (*Amburana cearensis* S.) on the germination, the development and the growth of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.). For “picão-preto” (*Bidens pilosa* L.) and “carrapicho” (*Cenchrus equinatus* L.) the effect of the concentration of the extract was evaluated and of the pure coumarin on seeds and seedlings. The experiments were accomplished at the laboratory of Analyses of Seeds, Department of Fitotecnia of the Federal University of Ceará, in Fortaleza-Ce. The aqueous crude extract was prepared starting from the flour of cumaru seeds, being used in the following concentrations: 0.19, 0.39, 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25 and 50 mg/mL, and water distilled as control. The seeds, of the tested species, they were distributed in plates of Petri on three disks of filter paper, previously humidified with the extract in the proportion of 2,5 times the weight of the substratum. Later the plates were conditioned in germination camera regulated to the temperature of 25° C and of 8h luz /16h dark, for seven days. The variables were analyzed: germination, length of the root and of the aerial part of the seedlings, in a casual interlay delineation, with four repetitions (50 seeds/repetition for lettuce and 25 for “picão-preto” and “carrapicho”). The most efficient method was the maceration. The time of extraction with better results was it of 30 min. The most potent substance was the pure coumarin. It was verified although starting from 6.25 mg/mL of the extract it happened an inhibition in 100% of the germination of the lettuce seeds. Starting from the concentration 3.13 mg/mL the bun of hair germination was totally inhibited. For “picão-preto” the concentrations 1.56, 3.13 and 6.25 mg/mL were the most harmful. The pure coumarin was plenty phytotoxicans for “picão-preto” and “carrapicho”, because it inhibited the germination of your seeds in the tested concentrations. All the concentrations of the extract presented toxicant effects to the seedlings of the tested species, in adult or smaller intensity.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, tem-se comprovado que as plantas produzem substâncias químicas com propriedades que afetam benéficas ou maleficamente, algumas espécies de plantas. A esse fenômeno deu-se o nome de alelopatia e às substâncias responsáveis por essas propriedades, de aleloquímicos. Esses compostos são encontrados distribuídos em concentrações variadas nas diferentes partes da planta, e durante o seu ciclo de vida. Os aleloquímicos quando liberados em quantidades suficientes causam efeitos alelopáticos que podem ser observados na germinação, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas e, ainda, no desenvolvimento de microorganismos (CARVALHO, 1993).

Os efeitos alelopáticos são mediados por compostos secundários pertencentes a diversas classes de compostos químicos entre eles, fenóis, terpenos, alcalóides, taninos, cumarinas, esteróides, flavonóides, poliacetilenos, ácidos graxos, peptídeos, dentre outros (PUTNAM & DUKE, 1978).

A liberação destes compostos num agrossistema pode ocorrer por volatilização na parte aérea, lixiviação na parte aérea ou subterrânea, decomposição de tecidos vegetais, ou ainda, por exudação do sistema radicular. Pesquisas recentes têm sugerido a exploração da alelopatia como uma alternativa no manejo de plantas infestantes.

Existe um grande interesse em reduzir invasões de plantas ditas infestantes, pois estas representam um dos principais problemas da produção agrícola. Um manejo inadequado dessas plantas pode provocar a perda da qualidade das lavouras e a diminuição da produtividade, em decorrência da competição por água, luz e nutrientes. Podendo ainda hospedar ou transmitir pragas e doenças, além de dificultar a aplicação de tratamentos culturais e fitossanitários.

O controle destas espécies deve ser efetuado não com o intuito de erradicá-las completamente, pois algumas espécies trazem benefícios para a lavoura, como a proteção do solo contra erosão, a reciclagem e disponibilidade de nutrientes, o fornecimento de matéria orgânica, a diminuição da temperatura do solo com maior retenção de umidade e a conseqüente melhoria na estruturação do solo (SANTOS, *et al.*; 2002).

A utilização de herbicidas tem se apresentado como única ferramenta no controle de algumas espécies de plantas infestantes. E o uso indiscriminado destes produtos tem despertado uma grande preocupação por parte de diversos países devido a consequências ambientais e a contaminação dos alimentos (CARVALHO, *et al.*; 2002).

Atualmente têm se investigado bastante a potencialidade alelopática de plantas medicinais. Uma vez determinada esta característica em uma espécie, através de testes de laboratório e de campo, os resultados poderão servir como uma opção a mais a ser utilizada no controle de plantas infestantes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do extrato aquoso de sementes de cumaru na germinação de sementes, no desenvolvimento e no crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.), de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) e de carrapicho (*Cenchrus echinatus* L.), em condições de laboratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alelopatia: histórico e conceito

A concepção de que as plantas têm a capacidade de interferir no desenvolvimento de outras plantas através de substâncias que liberam na atmosfera ou no solo, remonta a antiguidade. Já no século V a.C., Demócrito se referia à ação inibitória da vegetação provocada por algumas plantas, o que foi novamente abordado por Theophrastus no século III a.C. (ALMEIDA, 1985).

Mais tarde, em 1882, De Candolle expôs a primeira teoria sobre essa interferência. A teoria dizia que as raízes das plantas teriam além da função de absorção, a de excreção, e seus excrementos seriam venenosos para plantas da mesma espécie, gênero ou família. Antes do final do século XIX a teoria de De Candolle foi contestada e abandonada. A existência de toxinas em solos antes cultivados e deixados em pousio foi comprovada pela primeira vez em trabalhos produzidos por Shorey em 1909 (ALMEIDA, 1990).

O termo alelopatia foi criado pelo pesquisador alemão Hans Molisch em 1937 e segundo ele, “alelopatia é a capacidade das plantas superiores ou inferiores produzirem substâncias químicas que liberadas no ambiente de outras, influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento”.

Rice (1984) definiu alelopatia como, “qualquer efeito direto ou indireto danoso ou benéfico que uma planta (incluindo microrganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente”.

A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário sendo atribuída a estas a função de defesa e/ou proteção, pois durante o processo de evolução destas plantas estas substâncias representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento das plantas (WALLER, 1999).

Existem dúvidas se as substâncias alelopáticas representam o produto final do metabolismo celular ou se são sintetizados pelas plantas com funções específicas. Alguns autores defendem a primeira hipótese, pois estas substâncias existem em maior quantidade

nos vacúolos das células, onde seriam depositados a fim de evitarem a sua própria autotoxicidade. Outros consideram que a produção desses compostos é regida pelas leis da genética e que estão constantemente sendo sintetizados e degradados pelas plantas (ALMEIDA, 1985).

Os compostos alelopáticos liberados por uma planta poderão afetar o crescimento, prejudicar o desenvolvimento normal e até mesmo inibir a germinação das sementes de outras espécies vegetais (SILVA, 1978). Segundo Grankhov & Didyk (1996), alelopatia é a interação fisiológica e bioquímica entre indivíduos, os quais se constata no espaço (interação alelopática) ou no tempo (ação pós-alelopática).

Whittaker & Feeny (1971) afirmam que os efeitos alelopáticos de uma planta são aceitos desde que sejam comprovados, que um inibidor químico efetivo esteja sendo produzido e ocorra numa concentração potencialmente efetiva no solo e a inibição não seja por luz, água e nutrientes nem por uma atividade animal.

Isolar os efeitos dos vários processos pelos quais as plantas afetam umas as outras é difícil, principalmente os efeitos da competição e da alelopatia (VELINI, 1991). A competição entre plantas reduz ou remove do ambiente um fator de crescimento necessário a ambos, enquanto alelopatia ocorre à adição de um fator ao meio (ALVES, 1992).

Dessa forma a alelopatia distingue-se da competição que envolve a redução ou retirada de algum fator do ambiente necessária à outra planta no mesmo ecossistema tal com água, luz e nutrientes (RICE, 1984).

A alelopatia é um dos mecanismos por meio dos quais determinadas plantas interferem no desenvolvimento de outras, alterando-lhes o padrão e a densidade, sendo um fenômeno que ocorre largamente em comunidades de plantas (SMITH, 1989). Os problemas com plantas daninhas têm sido tratados somente sob o ponto de vista da competição, e em nenhuma abordagem têm sido investidas as perdas econômicas em campos infestados de acordo com as interferências alelopáticas e a competição (EINHELIG & LEATHER, 1988).

2.2 Biossíntese e natureza dos aleloquímicos

Todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar compostos alelopáticos, embora as cultivadas e suas variedades comerciais tenham perdido muito essa capacidade. Essa característica era mais comum nos precursores silvestres das atuais plantas cultivadas, que se adaptaram para competir com outras plantas, garantindo não só a formação de estandes puros, como também a defesa contra insetos (BANSAL & BHAN, 1993).

Existem mais de 300 compostos secundários vegetais e microbiológicos pertencentes a várias classes de produtos químicos entre os aleloquímicos (RICE, 1984). A origem de um aleloquímico frequentemente é obscura e sua atividade biológica pode ser reduzida ou aumentada pela ação microbiológica, oxidação e outras transformações. Numerosos microrganismos, certas invasoras, uma cultura anterior ou mesmo a cultura atual são possíveis fontes de aleloquímicos no ambiente das plantas. Similarmente, as espécies afetadas podem ser os microrganismos, as invasoras ou a cultura (EINHELLIG, 1996).

Vários tipos de compostos orgânicos foram identificados como aleloquímicos produzidos por plantas superiores ou microrganismos, sendo eles: terpenos, esteróides, ácidos orgânicos solúveis em água, aldeídos alifáticos, cetonas, ácidos graxos de cadeia longa, poliacetilenos, naftoquinonas, antraquinonas, quinonas complexas, provêm da rota metabólica do acetato mevalonato. Já os fenóis simples, ácidos benzóicos e derivados, ácidos cinâmicos e derivados, cumarinas, aminoácidos, e polipeptídeos sulfetos e glicosídeos, alcalóides, cianidrina, flavonóides, purinas e nucleosídeos, derivados de quinonas e taninos hidrolizáveis e condensados provêm da rota metabólica do ácido chiquímico (REZENDE *et al.*, 2003).

A produção de aleloquímicos pode variar em qualidade e quantidade de espécie para espécie, na quantidade do metabólito de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles têm suas sínteses desencadeadas por eventuais vicissitudes a que as plantas estão expostas (FERREIRA & ÁQUILA, 2000). De acordo com Einhellig e Leather (1988), a natureza e a quantidade de substâncias alelopáticas diferem com a espécie, a idade do órgão da planta, a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de nutrientes, a

atividade microbiana da rizosfera e com a composição dos solos em que se encontram as raízes.

Vários autores mostram através de experimentos que todas as partes das plantas podem conter compostos alelopáticos. Através de bioensaios estes compostos foram encontrados nas folhas, caules aéreos, rizomas, raízes, flores, frutos, sementes de diversas espécies, mas as folhas e as raízes são as fontes mais importantes de aleloquímicos (WESTON, 1996).

2.3 Métodos de liberação de aleloquímicos

Os aleloquímicos podem ser liberados das plantas por lixiviação a partir dos tecidos, volatilização, exsudação pelas raízes e decomposição de resíduos da planta do seguinte modo: • Lixiviação: as toxinas solúveis em água são lixiviadas da parte aérea e das raízes ou, ainda, dos resíduos vegetais em decomposição. Pode-se citar, principalmente, a lixiviação dos ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos, substâncias pécticas, terpenóides, alcalóides, compostos fenólicos e giberelina; • Volatilização: compostos aromáticos são volatilizados das folhas, flores, caules e raízes e podem ser absorvidos por outras plantas. Nesse grupo, encontram-se compostos como o gás carbônico (CO₂), a amônia (NH₃), o etileno e os terpenóides. Esses últimos atuam sobre as plantas vizinhas por meio dos próprios vapores ou condensadas no orvalho ou, ainda, alcançam o solo e são absorvidos pelas raízes; • Exsudação pelas raízes: um grande número de compostos alelopáticos é liberado na rizosfera circundante e podem atuar direta ou indiretamente nas interações planta/planta e na ação de microrganismos. Entre esses compostos, podem ser citados o ácido oxálico, a amidalina, a cumarina e o ácido transcinâmico; • Decomposição de resíduos: toxinas são liberadas pela decomposição das partes aéreas ou subterrâneas, direta ou indiretamente, pela ação de microrganismos (INDERJIT & DAKSHINI 1992; 1994).

Uma vez introduzidos no ambiente é necessário que se acumulem em quantidades suficientes para afetarem outras plantas, se mantenham por algum tempo, ou seja, liberadas continuamente para que os efeitos sejam persistentes (ALMEIDA, 1988).

2.4 Mecanismos de ação e funções dos aleloquímicos

Os mecanismos de ação dos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos na planta. No entanto, os efeitos desses compostos ainda não estão completamente esclarecidos. As informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas ainda são poucas. Uma das grandes dificuldades que se apresenta é que essas substâncias afetam mais de uma função e provocam efeitos secundários difíceis de distinguir dos principais. O efeito visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização retardada de mudanças anteriores que ocorreram a nível molecular e celular.

A grande diversidade dos compostos que causam alelopatia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais de um rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (EINHELLIG, 1995).

O modo de ação dos aleloquímicos pode ser dividido em ação direta e indireta. A ação direta ocorre quando o composto se liga às membranas da planta receptora ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo. Na ação indireta podem-se incluir alterações nas propriedades do solo, de suas condições nutricionais e das alterações de populações e/ou atividade dos microrganismos (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

A ação desses compostos não é muito específica podendo uma mesma substância desempenhar várias funções ou só atuarem quando em presença de outros, em combinações e proporções específicas (ALMEIDA, 1990).

Os compostos alelopáticos podem afetar processos, tais como a germinação das sementes e o crescimento das plântulas, a assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteína, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular (DURIGAN & ALMEIDA, 1993).

Rice (1984) menciona que os efeitos podem ocorrer sobre: a regulação do crescimento (divisão celular, síntese orgânica, interação com hormônios, efeito sobre enzimas, metabolismo respiratório); a abertura estomatal e fotossíntese; a absorção de nutrientes; a inibição da síntese de proteínas; as mudanças no metabolismo lipídico.

De acordo com Rizvi & Rizvi (1992) os aleloquímicos podem afetar estruturas citológicas e ultra-estruturas; hormônios, alterando balanço e concentração; membranas e

sua permeabilidade; absorção de minerais; movimento dos estômatos, síntese de pigmentos e fotossíntese; respiração; síntese de proteínas; atividade enzimática; relações hídricas e condução; materiais genéticos, induzindo alterações no DNA e RNA.

Várias pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de se estudar os mecanismos de ação dos aleloquímicos. Alguns compostos em plantas apresentam o mecanismo de ação bastante similar à dos herbicidas. O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) possui um potente aleloquímico, a quinona sorgoleone, que inibe a germinação e o crescimento de várias plantas, agindo como inibidor do fotossistema I (GONZALEZ *et al.*, 1998). De acordo com Sampietro (2001) a sorgoleone em concentrações similares a do herbicida atrazina é capaz de desacoplar o transporte de elétrons no fotossistema II.

O entendimento dos efeitos alelopáticos e dos mecanismos de ação de várias substâncias são importantes para se entender às interações entre plantas, tanto nos ecossistemas naturais, como nos agrícolas (RODRIGUES *et al.*, 1993). A alelopatia envolve interação entre estresses abióticos e bióticos, estes através de múltiplos compostos que podem ter relações sinérgicas que potencializam suas ações (EINHELLIG, 1999).

2.5 Determinação das potencialidades alelopáticas

Há inúmeros fatores que influem para se estabelecer o fenômeno da alelopatia. Os bioensaios que comprovem, ou pelo menos tentem comprovar, tais efeitos são bastante variáveis diante destas dificuldades.

Uma das principais variáveis analisadas nos testes alelopáticos é a germinação. A germinação é menos sensível aos aleloquímicos que o crescimento da plântula, porém a sua quantificação é muito mais simples, pois para cada semente o fenômeno é discreto germina ou não germina. Os testes de germinação são simples de serem realizados, no entanto há uma série de cuidados que devem ser tomados para que se possa ter respostas reproduzíveis. A temperatura, o substrato e a umidade influem bastante sobre a germinação e por isso devem ser controlados. As sementes teste devem ser de espécies cultivadas de

boa qualidade, como tomate e alface, pois são facilmente encontradas e bastante sensíveis a vários aleloquímicos.

As substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Portanto, o crescimento das plântulas é muito mais sensível a esses compostos e a sua utilização para determinação do potencial alelopático dos aleloquímicos é muito importante.

A emergência da plântula e seu crescimento são as fases mais sensíveis no desenvolvimento do indivíduo. Muitos parâmetros são usados para avaliar o crescimento, sendo o comprimento e a massa seca de raiz e da parte aérea os mais utilizados (PRASLEY *et al.*,1999).

O controle do pH e a concentração osmótica dos extratos brutos são fundamentais, pois pode haver neles açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que influem no pH e são osmoticamente ativos.

Um aspecto importante que deve ser ressaltado é o fato de que os resultados dos trabalhos desenvolvidos ao nível de laboratório não devem ser extrapolados para o campo. A metodologia utilizada no laboratório e na casa de vegetação deve ser tratada com muita cautela, pois, no campo pode ser que um grande número de compostos seja perdido para o meio ambiente. No caso dos extratos, grande quantidade de compostos orgânicos pode ser lixiviadas no solo ou decomposta pela ação de microrganismos (RODRIGUES *et al.*, 1992).

2.6 Utilização de extratos aquosos na alelopatia

O estudo dos mecanismos relacionados ao controle de plantas invasoras através do uso de extratos aquosos de plantas assume maior importância na medida em que as limitações econômicas e ecológicas ao uso de herbicidas aumentam.

Uma das principais formas pelas quais os extratos aquosos de plantas com propriedades alelopáticas afetam outras plantas é a inibição da germinação, visto que as sementes são excelentes organismos para bioensaios, pois, quando são reidratadas elas

entram em processo de germinação, onde sofrem rápidas mudanças fisiológicas e tornam-se altamente sensíveis ao estresse ambiental. Sendo este efeito avaliado através de experimentos de laboratório, que consistem na aplicação de extratos aquosos das plantas avaliadas sobre as sementes das plantas invasoras provenientes da área estudo. Algumas leguminosas utilizadas como coberturas apresentam efeito inibitório através de substâncias químicas liberadas no solo pela sua decomposição reduzindo a germinação de certas plantas invasoras (SOUSA FILHO *et al.*, 1997).

Os efeitos alelopáticos do calopogônio em função de sua idade e da densidade de sementes da planta receptora foram avaliados sobre a germinação das sementes das plantas daninhas: *Mimosa pudica* (malícia), *Urena lobata* (malva), *Senna obtusifolia* (mata-pasto) e *Senna occidentalis* (fedegoso) (SOUZA FILHO *et al.*, 2003). O que revelou a intensidade de efeitos alelopáticos crescentes, e a possibilidade de manejo da leguminosa forrageira calopogônio, visando maximizar a sua atividade potencialmente alelopática.

O extrato dos alcalóides glicosilados totais e da solasonina dos frutos verdes de *Solanum crinitum* nas concentrações (0, 100, 200, 400 e 800 ppm) permitiram verificar elevada atividade do extrato sobre a germinação e o desenvolvimento das plântulas de alface (*Lactuca sativa*), sendo a solasonina mais ativa (ALVES *et al.*, 2003).

O efeito de extratos aquosos das folhas de *Caesalpinia pluviosa* DC. (Caesalpinaceae), *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Caesalpinaceae), *Mimosa artemisiana* Heringer & Paula (Mimosaceae), *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Macbr. (Mimosaceae), *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard (Fabaceae) e *Erythrina speciosa* Andrews (Fabaceae) foi avaliado sobre a germinação e sobre o desenvolvimento radicial de alface (*Lactuca sativa* cv. “Grand Rapids”). A maioria das espécies testadas inibiu o desenvolvimento radicial de alface, mas apenas *Mimosa artemisiana* afetou sua germinação (SOARES, *et al.*, 2002).

A presença de atividade alelopática em cinco espécies de Gleicheniaceae (*Dicranopteris flexuosa* (Schrader) Underw., *Gleicheniella pectinata* (Willd.) Ching, *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching, *Sticherus penniger* (Mart.) Copel., *Sticherus nigropaleaceus* (Sturm.) J. Prado & Lellinger) foi investigada através da ação de extratos aquosos de frondes verdes e senescentes sobre a germinação e desenvolvimento radicular de alface (*Lactuca sativa* L., cv. “Grand Rapids”). Observou-se redução significativa da

germinação e do crescimento radicular na maioria dos tratamentos. De maneira geral, os extratos aquosos de frondes verdes mostraram-se mais ativos (SOARES & VIEIRA, 2000).

Foram desenvolvidos bioensaios, na Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS), para avaliar o efeito de extratos aquosos, a frio e a quente, da parte aérea de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.), sobre a germinação e o desenvolvimento das plantas de milho (*Zea mays* L.). O extrato obtido com água fria (EF) e aplicado ao solo não causou nenhum efeito fitotóxico sobre a germinação e o desenvolvimento das plantas de milho. O extrato obtido com água quente (EQ), quando aplicado em papel-germiteste ou papel-filtro, causou redução no comprimento da raiz seminal, mas não interferiu na germinação das sementes de milho. O comprimento da raiz seminal foi um indicador mais sensível aos efeitos do EQ do que a germinação (PRATES *et al.*, 2000).

O extrato aquoso da *Acacia pubescens* inibiu a germinação de sementes de *Lactuca sativa* (KITOU, 1997).

Algumas leguminosas, por serem utilizadas como adubos verdes, tem sido objeto de estudo no que diz respeito ao controle alelopático de plantas daninhas. Fontanétti & Carvalho (2002), avaliando o potencial alelopático de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes*) e de mucuna-preta (*Stilozobium aterrimum*), verificaram que esses adubos verdes apresentaram efeitos alelopáticos significativos na germinação de sementes de alface.

O potencial alelopático de *Brachiaria decumbens* e de *B. brizantha* sobre a germinação e o vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan*) foi avaliado por Fagioli *et al.*, (1997). Foram utilizados extratos aquosos das braquiárias, nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% v/v, em laboratório. Verificou-se que os extratos de ambas as braquiárias apresentaram efeito inibitório no comprimento e produções de matéria seca da radícula e da parte aérea.

Chung & Miller (1995) avaliaram o efeito alelopático dos extratos aquosos das gramíneas forrageiras *Festuca arundinacea*, *Bromus inermis*, *Dactylis glomerata*, *Phleum pratense*, *Agrostis gigantea*, *A. alba*, *Phalaris arundinacea*, *Sorghum bicolor* e *Lolium perenne* sobre as sementes de alfafa, e observaram que todos os extratos reduziram a germinação de suas sementes, exceto os extratos de *A. gigantea* e *P. arundinacea*. Os

extratos de *F. arundinacea* e de *B. inermis* causaram maior redução na porcentagem de germinação das sementes.

Velu & Ali (1994) estudaram o efeito alelopático dos extratos aquosos de raízes de *Cynodon dactylon* e *Cyperus rotundus* na soja. Houve redução da produção de matéria seca total, da área foliar e do teor de clorofila, que resultou em menor produção de grãos. O efeito dos extratos aquosos das raízes de *Cynodon dactylon* foi mais severo que os de *Cyperus rotundus*.

O efeito osmótico dos extratos aquosos das gramíneas forrageiras *Dactylis glomerata*, *Phalaris tuberosa*, *Festuca arundinacea* e *Holcus lanatus* foi estudado por Wardle *et al.*, (1992), sendo verificado que a inibição alelopática da germinação foi menor que a inibição da velocidade de germinação ou alongamento da radícula das mesmas plantas.

Frutos e folhas de maricá (*Mimosa bimucronata*) e extratos aquosos destas folhas foram testados quanto aos possíveis efeitos alelopáticos na germinação das sementes e crescimento das radículas de alface, arroz, cenoura, chicória, couve, pepino, repolho e tomate. Os frutos verdes e maduros não inibem a germinação, porém os verdes inibem o crescimento da radícula. Os extratos das folhas secas inibem a germinação de alface, cenoura, chicória e tomate. O crescimento das radículas é inibido nas oito espécies testadas (JACOBI & FERREIRA, 1991).

Estudos sobre os efeitos alelopáticos de algumas gramíneas e leguminosas foram realizados por Medeiros *et al.*, (1990), por meio dos quais se verifica que a aveia (*Avena sativa*) e o azevém (*Lolium multiflorum*) podem ser utilizados como culturas de cobertura com propriedades alelopáticas que além da redução de plantas daninhas fornecem matéria orgânica para incorporação.

2.7 Plantas medicinais x Alelopatia

As espécies vegetais para uso medicinal têm recebido atenção especial, pelos diferentes significados que as plantas medicinais assumem em nossa sociedade como um recurso biológico e cultural, destacando-se seu potencial genético para o desenvolvimento

de novas drogas, possível fonte de recursos financeiros, através de sua comercialização, para o resgate e fortalecimento da identidade cultural e como acesso primário à saúde para muitas comunidades.

Em geral, o conhecimento popular é desenvolvido por grupamentos culturais que ainda convivem intimamente com a natureza, observando-a de perto no seu dia-a-dia, e explorando suas potencialidades, mantendo vivo e crescente esse patrimônio pela experimentação sistemática e constante.

Muitas substâncias químicas presentes nas plantas medicinais podem levar ao surgimento de um efeito alelopático, o qual se refere à capacidade que as plantas têm de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento de outras, por meio de substâncias que estas liberam na atmosfera, ou quase sempre no solo.

Esses compostos químicos muitas vezes considerados como alelopáticas são também utilizados na medicina popular para a cura de doenças, onde sua preparação e seu uso apropriado trazem muitos benefícios, porém seus efeitos genotóxicos e mutagênicos necessitam de maiores investigações (NUNES & ARAUJO, 2003).

Os compostos alelopáticos constituem ainda uma forma de comunicação, pois permite às plantas distinção entre os organismos que lhe são prejudiciais ou benéficos (RODRIGUES & LOPES, 2001).

No entanto, a maioria das pesquisas em alelopatia refere-se ao efeito aleloquímico sobre a germinação e o crescimento da planta-teste, não considerando os efeitos celulares relacionados às mudanças fisiológicas do sistema da planta-teste (PRATES *et al.*, 2001).

A inibição alelopática resulta da ação conjunta de um grupo de aleloquímicos que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos e dependem da extensão dos estresses bióticos e abióticos associados. A alelopatia está estreitamente ligada a outros estresses ambientais, incluindo temperaturas extremas, deficiências de nutrientes e de umidade, radiação, insetos, doenças e herbicidas. Essas condições de estresse freqüentemente aumentam a produção de aleloquímicos, aumentando o potencial de interferência alelopática (EINHELLIG, 1996).

Efeitos alelopáticos de extratos voláteis de óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn.), alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), capim-citronela (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.), alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) e jaborandi

(*Pilocarpus microphyllus* Stapf. ex.Wardleworth) foram avaliados na germinação e no comprimento da raiz de plântulas de alface. Os extratos voláteis de óleos essenciais de canela, alecrim-pimenta, capim-citronela e alfavaca-cravo evidenciaram potencialidades alelopáticas na germinação e comprimento das raízes de plântulas de alface, efeitos que variaram de acordo com a concentração do óleo. O extrato volátil de óleo de jaborandi estimula o crescimento da radícula e não provoca inibição da germinação de sementes de alface, caracterizando-se como de efeito alelopático benéfico (ALVES, 2004).

O potencial alelopático do sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth - mimosoidae-Leg.), foi avaliado sobre sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia alba* (Cham.) Sandw (Bignoniaceae) através dos extratos aquosos de folhas verdes e secas em diferentes concentrações (1:8, 1:16 e 1:32). Constatou-se inibição da germinação nas concentrações 1:16 e 1:32, para folha verde. O maior efeito inibitório foi obtido com a concentração 1:16. Verificou-se toxidez ou possível efeito alelopático das folhas verdes independente da dose (PIÑA-RODRIGUES & LOPES, 2001).

Abreu (1997), estudando extratos de angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speng) observou que em extratos de folhas de mudas ocorreu uma diminuição no índice mitótico de alface à medida que as concentrações aumentaram, enquanto que em canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), essa proporcionalidade ocorreu para o extrato de folhas adultas.

2.8 Descrição das espécies

Cumaru (*Amburana cearensis* a.C. Smith)

Família: Faboideae (Papilionoideae)

A família das leguminosas, por ser muito difundida em todo o mundo e bastante característica no Ceará, sempre foi motivo de estudo, seja por suas propriedades medicinais, como *Bauhinia forficata* Link – mororó, *Amburana cearensis* A . C. Smith – cumaru (MATOS, 2000), mas também por outras propriedades tais como: toxicidade: *Mimosa hostilis* – jurema (FONTENELLE, 1998), *Phaseollus vulgares* e *Canavalia*

ensiformes (SALES *et al.*, 1996), *Vigna unguiculata* (SALES *et al.*, 2001), *Stryphnodendrum coriaceum* – barbatimão (TOKARNIA, *et al.*, 2000); atividade antimicrobiana: *Vigna unguiculata* (GOMES, 1997); atividade alelopática: *Vicia sativa* - ervilha (MEDEIROS & LUCKESI, 1993), *Acácia melanoxylon* (GONZÁLES, *et al.*, 1995), *Mimosa bimucronata* – marica (FERREIRA *et al.*, 1991), dentre outras. Essas propriedades são importantes e/ou integrantes do arsenal de defesa das leguminosas em seus habitats naturais.

Com uma ampla distribuição geográfica, a família Leguminosae, esta concentrada especialmente nas regiões tropicais e subtropicais. Esta família compreende 650 gêneros e mais de 18.000 espécies, distribuídos em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinioideae e Faboideae (Papilionoideae). A subfamília Faboideae é considerada a mais evoluída das leguminosas. As espécies das subfamílias Caesalpinioideae e Mimosoideae são encontradas principalmente nas regiões tropicais, enquanto que os representantes das Faboideae estão em regiões temperadas, preferencialmente. As plantas desta família são de hábitos variados, podendo viver em diferentes latitudes e altitudes, se apresentando desde grandes árvores, como nas matas tropicais, a arbustos, subarbustos e ervas anuais ou perenes além de trepadeiras (BARROSO, 1991).

A subfamília Faboideae possui 482 gêneros e 12.000 espécies sendo, portanto, a maior das subfamílias. Os gêneros de plantas herbáceas estão presentes principalmente nas regiões temperadas, ao passo que as plantas lenhosas são mais representadas nas regiões tropicais. Pertence a esta subfamília todos os nossos legumes, a maioria constituída de plantas cultivadas como *Phaseollus*, *Pisum*, *Lens*, *Vicia*, *Glycine*, etc. Todos são ricos sejam em proteínas sejam em óleos, além de hidratos de carbono. Os gêneros nativos mais freqüentes no Nordeste são: *Phaseollus*, *Crotalaria*, *Erythrina*, *Andira*, *Amburana*, *Saphora*, *Dalbergia*, *Indigofera*, *Desmodium*, *Clitoria* e *Mucuna* (JOLY, 1979).

Com destaque dentro do gênero *Amburana* (*Amburana cearensis* a.C. Smith) mais conhecida como cumaru, é uma árvore silvestre, própria da caatinga nordestina também referida como amburana e amburana-de-cheiro. Sua vagem alada e quase preta, quando madura, contém uma semente achatada manchada de marrom e branca, oleaginosa, de cheiro forte cumarínico e agradável (LEAL, 1995).

As cascas e sementes são utilizadas com frequência na medicina popular como antiespasmódicas, emanagogas, e nas afecções do aparelho respiratório, indicadas no tratamento de bronquites, asma, gripes e resfriados. Dos seus constituintes ativos, a cumarina está em maior proporção. O banho com o cozimento das cascas é usado para tratar dores reumáticas (MATOS *et al.*, 2004)..

As sementes fornecem cerca de 23% de um óleo fixo constituído principalmente dos glicerídios dos ácidos: palmítico (18,6%), linoléico (7,1%), oléico (53,1%), esteárico (8,0%) (MATOS *et al.*, 1992). Contêm ainda uma proteína inibidora que é capaz de inativar a tripsina e o fator de coagulação XII (TANAKA *et al.*, 1989). A referida proteína constitui-se, por isso, numa ferramenta útil para o estudo da fase de contato da coagulação sanguínea (SAMPAIO *et al.*, 1992). Nas sementes são encontrados também cumarina e 6-hidroxicumarina (LEAL, 1995).

A utilização de ensaios biológicos vegetais para o monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas tem sido frequentemente incorporados à identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas. Inúmeros compostos químicos como ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides, alcalóides, glicídios, taninos e quinonas, são encontrados na composição química dos vegetais, esses podem desencadear efeitos benéficos ou maléficos sobre outros vegetais ou demais organismos (NOLDIN *et al.*, 2003).

Alface (*Lactuca sativa* L.)

Família: Chicoriáceas

Planta herbácea, muito delicada, com caule diminuto não ramificado. As folhas são muito grandes, lisas ou crespas, fechando-se ou não na forma de “cabeça”, estando presas ao caule (FIGUEIRA, 1982). Considerada planta-teste sendo a mais comum para examinar alelopatia devido a sua sensibilidade aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos, bem como ao pequeno período requerido para a sua germinação (24 a 48 horas) e para o seu crescimento (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Picão-preto (*Bidens pilosa* L.)

Família: Compositae

Espécie considerada uma planta infestante, largamente distribuída em todo o mundo, sendo cosmopolita tropical. Tem ciclo anual curto, com várias gerações durante o ano. Sua inflorescência é integralmente amarela e seus frutos, quando maduros, apresentam coloração enegrecida e seus papus transformados em certas rijas que facilmente aderem ao pêlo dos animais e as roupas do homem que as disseminam (ARANHA *et al.*, 1988). Dicotiledônea de difícil controle apresentando propriedades antibacterianas, antidesintéricas, antiinflamatórias, hepatoprotetoras, antimicrobianas, diurética e emoliente (CRUZ *et al.*, 2000).

Carrapicho (*Cenchrus echinatus* L.)

Família: Poaceae

Planta anual herbácea originária da América tropical, muito comum nas áreas agrícolas do Estado de São Paulo e estados limítrofes, bem como na região nordeste. Sua reprodução é exclusivamente por sementes, cujo pericarpo é liso de coloração castanho-alaranjado e com o embrião dorso-basal quase preto. Cada invólucro pode conter 1-6 cariopses, das quais apenas a maior é mais vigorosa. Possui alta capacidade de infestação devido ao seu tipo de infrutescência que facilmente aderem-se ao pêlo de animais e diversos tipos de superfície sendo bastante disseminado (ARANHA *et al.*, 1988). No Brasil, se destaca por ser uma cultura altamente competitiva em muitas culturas anuais, com seus espinhos dificultando bastante à colheita (KISSMAN, 1991).

3. CAPÍTULO 1

Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface.

3.1 INTRODUÇÃO

A Sociedade Internacional de Alelopatia tem definido a atividade alelopática como um processo envolvendo metabólitos especiais (aleloquímicos) produzidos por plantas, microorganismos, vírus e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos (TORRES *et al.*, 1996).

Os aleloquímicos de plantas são liberados no ambiente através das raízes, tronco e folhas ou na decomposição do material vegetal. Atualmente tem-se aumentado o interesse na exploração da alelopatia como uma alternativa estratégica, principalmente para o controle de ervas daninhas, de insetos e de doenças.

Diversas classes de substâncias naturais como, taninos, glicosídeos cianogênicos, alcalóides, sesquiterpenos, flavonóides e ácidos fenólicos possuem atividade alelopática (KING & AMBIKA, 2002).

Alguns autores afirmam que a ação das substâncias aleloquímicas não é muito específica, podendo uma mesma substância desempenhar várias funções, dependendo de sua concentração e composição química (RICHARDSON & WILLIAMSON, 1988).

A incorporação de substâncias com atividade alelopática na agricultura pode reduzir o uso de herbicidas sintéticos e fungicidas acarretando menos danos ao meio ambiente. O uso excessivo de agroquímicos causa danos ambientais, atuando no balanço de

microorganismos do solo, deficiência de nutrientes e mudanças nas propriedades físico-químicas do solo, resultando na diminuição da produtividade da colheita (CHOU, 1999).

Baseando-se na resistência ou tolerância de certas espécies aos metabólitos secundários com função de aleloquímicos, foi que se padronizaram algumas espécies como plantas indicadoras ou plantas-teste, como é o caso da alface (*Lactuca sativa* L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* M.), entre outras. Estas espécies são bastante sensíveis aos aleloquímicos, possuindo ainda a germinação rápida e uniforme, e um grau de sensibilidade com o qual se permitem expressar resultados a baixas concentrações (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Este trabalho teve como objetivo avaliar métodos e tempos de extração, e substâncias químicas, em diferentes concentrações, a fim de evidenciar o efeito alelopático do extrato aquoso de semente de cumaru sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local e data dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE, no mês de janeiro de 2005.

3.2.2 Materiais biológicos

Para a condução dos experimentos foram utilizadas sementes de cumaru coletadas e adquiridas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE, safra 2004. As sementes de alface, variedade “Grads Rapids” da marca TopSeed, foram adquiridas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE.

3.2.3 Preparo de soluções

As sementes de cumaru foram moídas em moinho elétrico para a preparação da farinha até obtenção de uma granulação fina, em torno de 40 mesh, e armazenada em recipiente de plástico no refrigerador a temperatura de 16° C, para posterior utilização.

A extração da farinha foi realizada utilizando-se três modos: maceração - a solução de farinha com água destilada na proporção de 1:20 (p/v) ficou sob agitação constante por 30 min, a temperatura ambiente sendo submetida logo após a filtração em filtro de papel, a imediata utilização nos ensaios; decocção - a mistura de farinha com água destilada na proporção de 1:20 (p/v), foi exposta a um cozimento, a temperatura de 100°C por 5 minutos, resfriada e filtrada em papel para utilização imediata; infusão - neste procedimento a solução foi feita com a farinha sendo misturada à água quente (100°C), na proporção de 1:20 (p/v), resfriada e, posteriormente, filtrada em papel para utilização imediata. O método de extração da maceração foi realizado variando o tempo de extração, ou seja, a solução de farinha com água destilada na proporção de 1:20 (p/v) ficou sob agitação constante a temperatura ambiente por 30, 60 e 120 min., filtrada em papel e utilizada nos ensaios.

A partir da solução (50 mg/ml), de cada tratamento, foram realizadas as diluições: 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19 mg/ml, totalizando 10 tratamentos, além do controle (zero mg/ml, água destilada).

3.2.4 Extração das substâncias químicas

Cinco gramas de sementes moídas de cumaru foram submetidas à extração por maceração com água destilada. Após 24 h, o solvente foi removido através de liofilização, gerando um extrato aquoso marrom denominado ACS-Q (2,1 g). Partição do extrato ACS-Q - O extrato ACS-Q foi dissolvido em 80 mL de água e particionado com clorofórmio (3 x 50 mL), produzindo uma fase aquosa e outra clorofórmica. Depois de tratada com sulfato de sódio anidro e filtrada, a fase orgânica foi concentrada e intitulada ACS-Q/C (fração clorofórmio). Enquanto que a fase aquosa foi submetida à partição com acetato de etila (3 x 50 mL) e posteriormente liofilizada, sendo denominada ACS-Q₂ (fração acetato). Todas as frações obtidas foram analisadas por RMN ¹H. Isolamento e identificação da cumarina - 1,5 Kg de sementes moídas de cumaru foram extraídas com hexano (1,8 L) a temperatura ambiente (25-30°C) durante 24 h (3x). Após evaporação do solvente, gerou-se um extrato líquido amarelo denominado ACS-H (56,4 g) contendo um precipitado, o qual foi separado da fase oleosa por filtração simples, resultando na obtenção de 23,4 g de um sólido amorfo branco. Uma alíquota de 1g deste sólido foi purificada através de recristalização em água fervente (50 mL), obtendo-se 240,5 mg de ACS-1 (cristais incolores, pf. 67,8-68,7 °C). ACS- 1 teve sua estrutura elucidada por diferentes métodos espectroscópicos (RMN ¹H e ¹³C, IV, EM), sendo caracterizada como a cumarina (1). Estes compostos foram testados nas concentrações 0,12; 0,23; 0,46 e 0,92 mg/ml, escolhidas com base no rendimento real da solução da qual foram extraídas.

3.2.5 Tratamentos

O experimento constou de três ensaios, dispostos num delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições de 50 sementes, em esquema fatorial 3 x 10. Ensaio 1- métodos de extração (maceração, decocção e infusão) x concentrações (50; 25; 12,5; 6,25;

3,13; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e 0 mg/mL), ensaio 2 - tempos de extração (30, 60 e 120 min.) x concentrações (50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e 0 mg/mL) e ensaio 3 - substâncias químicas (frações clorofórmio e acetato, cumarina pura) x concentrações (0; 0,12; 0,23 e 0,46 mg/mL).

Para a avaliação da inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento das plântulas de alface, três discos de papel de filtro foram postos em placas de Petri 9 cm de diâmetro, sendo em seguida, embebidos, com 4,5 mL de solução dos extratos e da água destilada (2,5 o peso do papel: 1 da solução ou água). Logo após, 50 sementes selecionadas de alface foram distribuídas nas placas, as quais foram acondicionadas em câmara de germinação com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, por sete dias. Este procedimento foi utilizado nos três ensaios.

Para a avaliação da inibição do crescimento das plântulas, as sementes de alface foram postas para germinar em placas de Petri sob três discos de papel de filtro, embebidos, com 4,5 mL de água destilada acondicionadas em câmara de germinação com temperatura regulada a 25°C e fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, por 48 horas. Logo após este período, 60 plântulas (quatro repetições de 15) de radícula medindo aproximadamente 10 mm, foram transferidas para placas de Petri com as soluções referentes aos tratamentos, retornando-as de imediato para a câmara, por quatro dias de incubação. Este procedimento foi utilizado no experimento métodos de extração (maceração, decocção e infusão) x concentrações (50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e zero mg/ml).

3.2.6 Variáveis analisadas

No ensaio 1 foram avaliados: porcentagem de germinação, comprimento da radícula e da parte aérea e peso da matéria seca. Nos ensaios 2 e 3 foram avaliados: porcentagem de germinação, comprimento da radícula e da parte aérea.

3.2.7 Análise estatística

As variáveis foram submetidas à análise de variância utilizando software de Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados SISVAR (FERREIRA, 1999). As médias dos dados foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados de germinação, comprimento da radícula e da parte aérea e peso seco, visando à inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento de plântulas de alface ensaio 1 - métodos de extração x concentrações, encontram-se na Tabela 1. Observa-se que houve diferença significativa para todas as variáveis analisadas dentro dos fatores isolados e da interação.

TABELA 1 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR), comprimento da parte aérea (CPA) e peso seco (PS), obtidos de sementes e plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Causas de variação	GL	Quadrado médio			
		G	CR	CPA	PMS
Métodos (M)	2	1168,30**	60,66**	48,05**	0,000276**
Concentrações (C)	9	22704,76**	1561,51**	609,04**	0,002144**
M x C	18	277,78**	30,66**	18,50**	0,000090**
Resíduo	90	76,72	4,05	3,16	0,000003
CV (%)		17,26	23,92	30,19	12,45

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F.

O método maceração inibiu totalmente a germinação das sementes de alface, a partir da concentração de 6,25 mg/mL, bem como o desenvolvimento das plântulas que se mostrou afetado, em maior ou menor intensidade, em todas as concentrações. Fato este que pode ser confirmando pelas baixas médias obtidas para o comprimento da radícula (Tabela 3) e da parte aérea (Tabela 4) diferindo acentuadamente do controle. Para o peso seco (Tabela 5) houve diferença a partir de 1,56 mg/mL. Os dados revelam que o desenvolvimento da plântula foi mais sensível ao extrato, do que a própria germinação.

Para o método decocção, a germinação foi totalmente inibida a partir da concentração de 12,5 mg/mL, só apresentando diferença do controle a partir da concentração 3,13 mg/ mL.

TABELA 2 - Médias do percentual de germinação (G) obtidas de sementes de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Métodos de extração		
	Maceração	Decocção	Infusão
0	94 a A	93 a A	95 a A
0,19	95 a A	89 a A	96 a A
0,39	85 a A	95 a A	95 a A
0,78	89 a A	90 a A	96 a A
1,56	64 b B	90 a A	81 a AB
3,13	25 c B	53 b A	65 b A
6,25	0 d B	5 c B	30 c A
12,5	0 d A	0 c A	0 d A
25	0 d A	0 c A	0 d A
50	0 d A	0 c A	0 d A

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

O desenvolvimento das plântulas foi afetado a partir da concentração 0,19 mg/ mL, sendo verificado através da redução do alongamento da parte aérea e da radícula em relação

ao controle, para decocção (Tabelas 3 e 4). O peso da matéria seca apresentou diferença significativa, em relação ao controle, a partir da concentração 3,13 mg/mL, (Tabela 5).

O método infusão inibiu totalmente a germinação a partir da concentração de 12,5 mg/mL, porém apresentou diferença ao controle nas concentrações acima de 3,13 mg/mL. Para a concentração 6,25 mg/mL, houve germinação, ou seja, protusão da radícula, mas sem o desenvolvimento das plântulas. O desenvolvimento da radícula foi mais afetado do que a parte aérea, pois apresentou redução logo na concentração 0,19 mg/mL, em relação ao controle (Tabelas 3 e 4). Em todos os tratamentos, exceto o controle, radículas e hipocótilos (parte aérea) se apresentaram com seus tecidos escurecidos e amolecidos, provavelmente oxidados pelo extrato. O peso da matéria seca apresentou uma redução linear em relação as crescentes concentrações, mostrando diferença do controle a partir de 1,56 mg/mL (Tabela 5).

TABELA 3 - Médias (mm) do comprimento da radícula (CR) de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Métodos de extração		
	Maceração	Decocção	Infusão
0	34 a B	33 a B	40 a A
0,19	13 b B	20 b A	19 b A
0,39	9 bc B	21 b A	11 c B
0,78	6 cd B	13 c A	6 cd B
1,56	7 cd A	6 d A	4 de A
3,13	3 de A	4 de A	4 de A
6,25	0 e A	0 e A	0 e A
12,5	0 e A	0 e A	0 e A
25	0 e A	0 e A	0 e A
50	0 e A	0 e A	0 e A

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

As sementes de alface expostas às concentrações de 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/mL, para todos os métodos de extração testados morreram, apesar da protusão da radícula (decocção e infusão para 6,25).

Comparando os três métodos para germinação, estes têm comportamento diferenciado a partir de 1,56 mg/mL, sendo que maceração apresenta a menor média que é de 64 %. Para 3,13 mg/mL decocção e infusão têm o mesmo comportamento e maceração com a menor média. Na concentração 6,25 mg/mL o método maceração inibe totalmente a germinação, sendo que decocção apresenta 5 % e infusão 30 %. Para 12,5; 25 e 50 mg/mL os três métodos inibiram em 100 % a germinação das sementes de alface.

Em relação ao comprimento da radícula, nas concentrações 0,39 e 0,78 mg/mL maceração e infusão foram iguais, e decocção apresenta a maior média. Para 0,19 mg/mL maceração tem a menor média e infusão e decocção tem o mesmo comportamento. A partir de 1,56 mg/mL os três métodos não diferem entre si.

TABELA 4 - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Métodos de extração		
	Maceração	Decocção	Infusão
0	25 a A	21a A	16 a B
0,19	15 b A	16 b A	12 a A
0,39	10 cd AB	13 bc A	8 ab B
0,78	7 d A	10 cd A	6 b A
1,56	0 e A	7 de A	4 bc A
3,13	0 e A	4 ef A	4 bc A
6,25	0 e A	0 f A	0 c A
12,5	0 e A	0 f A	0 c A
25	0 e A	0 f A	0 c A
50	0 e A	0 f A	0 c A

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

Para a parte aérea a concentração de 0,39 mg/mL foi à única que apresentou comportamento diferenciado dentro dos três métodos, na qual maceração e decocção não diferem entre si, e infusão tem a menor média.

As concentrações 1,56 e 3,13 mg/mL foram as que apresentaram comportamento diferenciado dentro dos três métodos para o peso da matéria seca, Tabela 5, nas quais maceração obteve as menores médias.

O que se pode perceber a partir desses resultados é que maceração foi o melhor método de extração, pois, obteve na maioria das avaliações os menores valores para as variáveis analisadas. E que as concentrações mais fitotóxicas são 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/mL.

TABELA 5 - Médias (mg) do peso da matéria seca (PMS) de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Métodos de extração		
	Maceração	Decocção	Infusão
0	0,0279 a A	0,0298 a A	0,0297 a A
0,19	0,0276 a A	0,0283 a A	0,0293 a A
0,39	0,0267 a A	0,0280 a A	0,0281 ab A
0,78	0,0256 a A	0,0279 a A	0,0274 ab A
1,56	0,0081 b B	0,0270 a A	0,0248 b A
3,13	0 c C	0,0174 b B	0,0244 b A
6,25	0 c A	0 c A	0 c A
12,5	0 c A	0 c A	0 c A
25	0 c A	0 c A	0 c A
50	0 c A	0 c A	0 c A

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

A forma de preparo, o método de aplicação e a concentração dos produtos oriundos de plantas medicinais são fatores decisivos na obtenção de resultados promissores, pois princípios ativos são instáveis e não se distribuem de forma homogênea na planta.

Conclusão obtida por Cruz *et al.*, (2000), quando avaliou o efeito alelopático de plantas medicinais sob diferentes métodos de extração e contra diferentes espécies vegetais, verificando a influência dos métodos de preparo nos resultados. Em concordância com os resultados do presente trabalho, em que os métodos de extração apresentaram comportamentos diferentes dentro das concentrações para as variáveis analisadas.

Resultado semelhante obtido por Prates *et al.*, (2000), quando testou extratos aquosos a frio e a quente, sobre a germinação e o desenvolvimento de milho. Assim como Santos, *et al.*, (2004) na avaliação de extratos orgânicos associados ao surfactante Tween 80, na germinação e crescimento de plântulas de alface.

O fator concentração como diferencial é reportado por Almeida (1991), durante avaliação do efeito alelopático de folha e fruto de eucalipto (*Eucalyptus saligna*) e de farelo de mamona (*Ricinus communis*) sobre a germinação e o desenvolvimento de plantas infestantes, sendo que as concentrações 10% e 15% do extrato de folhas de eucalipto inibiram a germinação do caruru gigante, e a concentração mais alta, reduziu a emergência de capim-carrapicho.

Piña-Rodrigues & Lopes (2001), avaliando o potencial alelopático do sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth -Mimosoidae-Leg.) contra sementes de ipê-amarelo *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw (Bignoniaceae) verificou que houve efeito da diluição e do tipo de folha empregado. Constatando-se inibição da germinação nas concentrações 1:16 e 1:32, para folha verde. Sendo o maior efeito inibitório obtido com a concentração 1:16, ou seja, a maior concentração utilizada. Evidenciando a influência da concentração no efeito alelopático.

A análise de variância dos dados de comprimento da radícula e da parte aérea, para a inibição do crescimento das plântulas de alface no ensaio 1 é exposta na Tabela 6.

Observa-se que houve diferença significativa para o comprimento da radícula dentro dos fatores isolados, mas não para a interação. E para o comprimento da parte aérea houve significância para os dois fatores, bem como para a interação.

O que se observa para a inibição do crescimento de plântulas de alface para o comprimento da radícula (Tabela 7), é que as concentrações diferiram apenas do controle, todas tendo o mesmo comportamento. E para os métodos de extração, maceração e decocção não diferem entre si, bem como decocção e infusão, sendo maceração e infusão

diferentes. Contudo maceração se mostrou mais eficiente tendo apresentado as menores médias para a variável.

TABELA 6 - Análise de variância dos dados comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de plântulas de alface, submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio	
		CR	CPA
Métodos (M)	2	167,97**	96,63**
Concentração (C)	9	522,02**	262,83**
M x C	18	4,82 ^{ns}	35,84**
Resíduo	90	10,67	3,16
CV (%)		16,94	20,53

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

TABELA 7 - Médias (mm) do comprimento da radícula (CR), obtidas de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Métodos de extração			Médias
	Maceração	Decocção	Infusão	
0	39	41	39	40 a
0,19	19	24	19	21 b
0,39	16	19	20	18 b
0,78	16	15	19	17 b
1,56	16	15	19	16 b
3,13	15	15	19	16 b
6,25	15	15	19	16 b
12,5	15	15	18	16 b
25	15	15	18	16 b
50	15	15	18	16 b
Médias	18 B	19 AB	21 A	19

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Para o método maceração o crescimento da parte aérea, (Tabela 8), foi afetado pelo extrato a partir da concentração 0,39 mg/mL, até a sua inibição total nas concentrações de 12,5; 25 e 50 mg/mL, pois foram repicadas para o teste com o tamanho de dois mm. Somente a concentração 0,19 mg/mL não diferiu do controle para a variável analisada.

Para a decocção as concentrações de 0,19 a 3,13 mg/mL não diferiram entre si, enquanto as demais apresentaram uma redução das médias, mas também não diferiram entre si. Todas as médias diferiram do controle.

A infusão apresentou uma crescente redução do alongamento do hipocótilo, em todas as concentrações, sendo que a partir de 1,56 mg/mL as médias não diferem entre si. Mas, todas diferem do controle, o que mostra que o extrato afetou, em maior ou menor intensidade o crescimento das plântulas.

TABELA 8 - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA) obtidos de plântulas de alface submetidas a diferentes métodos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Métodos de extração		
	Maceração	Decocção	Infusão
0	16 a B	16 a B	26 a A
0,19	15 a A	10 b B	17 b A
0,39	6 b B	10 b A	13 bc A
0,78	7 b B	13 b A	10 cd AB
1,56	7 b A	11 bc A	7 de A
3,13	5 bc B	10 bc A	6 de AB
6,25	5 bc A	8 c A	5 e A
12,5	3 bc A	7 c A	3 e A
25	2 c B	7 c A	3 e AB
50	2 c B	7 c A	3 e AB

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

Dentro dos métodos maceração e infusão só diferem para a concentração 0,39 mg/mL, apresentando as menores médias. Nas concentrações 1,56; 6,25 e 12,5 mg/mL os três métodos foram iguais.

Partindo das observações acerca da inibição do crescimento das plântulas de alface pode-se perceber que os métodos maceração e infusão têm o mesmo comportamento dentro das diferentes concentrações e apresentam os menores valores, exceto para 0,19 mg/mL, para a variável parte aérea. Sendo que todas as concentrações expressaram determinado efeito fitotóxico, que pode ser comprovado através da verificação do amolecimento e escurecimento dos tecidos.

Comparando no ensaio 1, a inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento das plântulas com a inibição do crescimento das plântulas, constata-se que o desenvolvimento das plântulas de alface, após a germinação das sementes expostas ao extrato, foi mais sensível do que o crescimento das plântulas.

Ferreira e Aquila (2000) apontam que a germinação é menos sensível aos aleloquímicos do que o crescimento da plântula, pois as substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Alterações no padrão de germinação podem resultar de efeitos sobre: a permeabilidade de membranas, a transcrição e tradução do DNA, o funcionamento dos mensageiros secundários, a respiração por seqüestro de fenóis, a conformação de enzimas e de receptores, ou ainda, pela combinação destes fatores.

A emergência da plântula e seu crescimento são as fases mais sensíveis na ontogênese do indivíduo (BLUM, 1999). O comprimento das plântulas ou radículas, são os parâmetros mais usados para avaliar o efeito alelopático sobre o desenvolvimento e/ou crescimento (INDERJIT & DASHINI, 1995).

Os efeitos alelopáticos podem ser observados tanto sobre a germinação quanto sobre o desenvolvimento e/ou crescimento da plântula. O efeito é mais drástico sobre o desenvolvimento e o crescimento do que sobre a germinação. Resultados similares foram encontrados anteriormente (LUCKESI & MEDEIROS, 1993; SOUZA FILHO & ALVES, 2000; SOUZA FILHO, *et al.*, 1997).

Para o ensaio 2 (tempos de extração x concentração) a análise de variância dos dados: percentual de sementes germinadas, comprimento da radícula e parte aérea,

referente à inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento de plântulas de alface, encontra-se na Tabela 9. Observa-se que houve diferença significativa para os dois fatores e para a interação em todas as variáveis analisadas.

No que diz respeito à germinação, Tabela 10, dentro do tempo 30 min. as concentrações 0,19; 0,39 e 0,78 mg/mL não diferiram do controle. A partir de 6,25 mg/mL a germinação foi totalmente inibida, sendo que as concentrações 1,56 e 3,13 mg/ml apresentaram médias mais baixas diferindo das demais e do controle. O tempo de extração 60 min obteve o mesmo comportamento que o tempo 30 min. Para o tempo de 120 min as concentrações 0,19; 0,39; 0,78 e 1,56 mg/mL não diferiram do controle. 3,13 e 6,25 mg/mL revelaram as médias mais baixas diferindo das demais e do controle. 12,5; 25 e 50 mg/mL inibiram a germinação em 100%.

TABELA 9 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio		
		G	CR	CPA
Tempos (T)	2	1184,40**	73,36**	262,22**
Concentração (C)	9	21873,55**	1308,47**	1735,89**
T x C	18	287,86**	55,48**	110,09**
Resíduo	90	89,81	7,05	16,66
CV (%)	21,08	21,08	36,72	41,98

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

Comparando os três tempos de extração, observa-se que não houve até a concentração de 0,78 mg/mL diferença entre eles. Na concentração de 1,56 mg/mL o tempo 30 e 120 min não diferem entre si, mas diferem do tempo 60 min que apresentou a menor média, se mostrando mais eficiente nesta concentração. Para as demais concentrações o que se observa é que os três tempos de extração se comportam da mesma forma para a variável germinação.

O comprimento da radícula (Tabela 11) dentro do tempo 30 min sofreu uma drástica redução das médias que diferiram entre si, a partir de 0,19 até 0,78 mg/mL, e uma total inibição do seu desenvolvimento nas demais concentrações.

Para os tempos 60 min e 120 min, a redução das médias que diferiram entre si, se deu a partir de 0,19 até 3,13 mg/ml, e a total inibição do desenvolvimento no restante das concentrações. Comparando se os três tempos para o comprimento da radícula, verifica-se que os mesmos não diferem entre si.

Avaliando-se o comprimento da parte aérea, Tabela 12, dentro do tempo 30 min de 0,19 até 3,13 mg/ml observa-se uma redução na quais as médias diferem entre si e do controle. A partir de 6,25 mg/ml o desenvolvimento do hipocótilo é inibido por completo. Para o tempo 60 min as concentrações 0,39; 0,78 e 1,56 mg/ml apresentaram médias diferentes do controle, e as demais concentrações inibiram o desenvolvimento da parte aérea totalmente. No tempo de 120 min o mesmo raciocínio do tempo 60 min foi observado (Tabela 12).

TABELA 10 - Médias do percentual de germinação (G) obtidas de sementes de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Tempos de extração		
	30 min	60 min	120 min
0	94 a A	90 a A	93 a A
0,19	95 a A	96 a A	95 a A
0,39	85 a A	93 a A	91 a A
0,78	89 a A	87 a A	92 a A
1,56	64 b A	23 b B	77 a A
3,13	25 c A	18 bc A	31 b A
6,25	0 d A	0 c A	14 bc A
12,5	0 d A	0 c A	0 c A
25	0 d A	0 c A	0 c A
50	0 d A	0 c A	0 c A

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

Na comparação dos três tempos para o comprimento da parte aérea verifica-se que o melhor tempo para as concentrações 0,19 e 0,39 mg/mL foi o de 30 min de extração com o menor valor obtido. Já para 0,78 mg/mL 30 e 120 min não diferiram, sendo que para as demais concentrações, os três métodos de extração apresentaram comportamento semelhante.

Como já visto o modo de preparo, o método de aplicação e a concentração dos compostos vegetais são fatores decisivos na obtenção de resultados promissores, pois princípios ativos são instáveis e se distribuem de forma heterogênea na planta, foi o que mostrou os resultados do ensaio 2, nos quais o tempo de extração e a concentração tiveram comportamentos diferentes em relação as variáveis avaliadas, bem como reporta Oliveira, *et al.*, (2002) em seu trabalho que mostra a presença de inibidores de germinação de alface em extratos de jatobá do cerrado, em grau que variou com o solvente e com a parte da planta utilizada.

TABELA 11 - Médias (mm) do comprimento da radícula (CR) de plântulas de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Tempos de extração		
	30 min	60 min	120 min
0	25 a B	39 a A	37 a A
0,19	15 b A	19 b A	19 b A
0,39	10 bc A	11 c A	12 c A
0,78	7 c A	6 cd A	6 cd A
1,56	0 d A	4 d A	4 d A
3,13	0 d A	2 d A	5 d A
6,25	0 d A	0 d A	1 d A
12,5	0 d A	0 d A	0 d A
25	0 d A	0 d A	0 d A
50	0 d A	0 d A	0 d A

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

Os resultados do ensaio 2 revelaram uma diferença de atuação dos extratos que pode ser devido a uma maior precisão da plântula em detectar os efeitos do aleloquímico, pois estes foram sempre maiores sobre a fase pós-germinação e principalmente sobre o seu desenvolvimento.

Jacobi e Ferreira (1991) e Correa (1996) também observaram em seus experimentos que a parte aérea e as raízes apresentaram respostas diferentes ao aleloquímicos, demonstrando que os mesmos afetam mais o desenvolvimento e/ou crescimento do que a germinação.

TABELA 12 - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA) obtidos de plântulas de alface submetidas a diferentes tempos de extração e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Tempos de extração		
	30 min	60 min	120 min
0	34 a A	34 a A	34 a A
0,19	13 b C	38 a A	26 ab B
0,39	9 cb B	26 b A	20 b A
0,78	6 cb B	22 b A	10 c B
1,56	7 cb A	10 cd A	2 cd A
3,13	3 c A	0 d A	0 d A
6,25	0 c A	0 d A	0 d A
12,5	0 c A	0 d A	0 d A
25	0 c A	0 d A	0 d A
50	0 c A	0 d A	0 d A

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

O efeito alelopático de caules e folhas de *Andira humilis* na germinação de sementes e no crescimento de plântulas de rabanete e alface foi avaliado, e para os experimentos foram preparados extratos aquosos de caules e folhas de *A. humilis* nas concentrações de 0, 4, 8, 12 e 16% (p/v), chegando-se à conclusão de que as alterações na germinação e no crescimento de alface e rabanete são ocasionadas pelo potencial alelopático de *Andira humilis* (PERIOTTO *et al.*, 2004).

Os extratos voláteis de óleos essenciais de canela, alecrim-pimenta, capim-citronela e alfavaca-cravo evidenciaram potencialidades alelopáticas na germinação e comprimento das raízes de plântulas de alface, efeitos que variaram de acordo com a concentração do óleo. O extrato volátil de óleo de jaborandi estimula o crescimento da radícula e não provoca inibição da germinação de sementes de alface, caracterizando-se como de efeito alelopático benéfico (ALVES, *et al.*, 2004).

Kitou (1999), estudando espécies do gênero *Acácia* testou *Acacia pubescens* para potencialidades alelopáticas e concluiu que esta inibiu a germinação de sementes de *Lactuca sativa*.

Costa e Piña-Rodrigues (1997) também constataram o potencial inibitório das folhas de sabiá sobre a germinação das sementes de *Lactuca sativa* L. Também outras espécies pioneiras como *Miconia albicans* Triana e *Leucaena leucocephala* L., empregadas na recuperação de áreas degradadas, apresentaram potencial alelopático de inibição da germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de espécies agrícolas.

Embora seja assumido, com frequência, que a resposta de sementes e plântulas a extratos vegetais deva ser alelopática, é importante destacar que nos extratos aquosos há a possibilidade de os resultados inibitórios refletirem apenas, ou em parte, efeitos puramente osmóticos já tendo sido enfatizado que se deve medir ou considerar o potencial osmótico do extrato, pois pode haver neles substâncias como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que influem no pH e são osmoticamente ativos e essa atividade pode mascarar o efeito alelopático (WARDLE *et al.*, 1992). Dessa forma, foram medidos o pH e o potencial osmótico do extrato, e estão apresentados na Tabela 1, em anexo.

Coons *et al.* (1990) avaliando dez cultivares de alface, a 20°C e 25°C, todas apresentaram 100% de germinação quando submetidas a potenciais de até - 0,9 MPa. Por outro lado, a 30°C, houve um decréscimo significativo na germinação a - 0,6 MPa, e a 35°C ocorreu apenas 6% de germinação. Potenciais osmóticos entre -0,2 e -0,3 MPa, que permitam a germinação e a estratificação entre os lotes de sementes, possivelmente podem ser usados para avaliar o vigor de sementes de alface (FRANZIN *et al.*, 2004).

Considerando que os valores dos potenciais do extrato aquoso de sementes de cumaru, nos diferentes tratamentos variaram entre -0,1 e -0,2 MPa, pode-se inferir de acordo com a literatura, que estes valores não influenciaram negativamente a germinação

das sementes e o desenvolvimento das plântulas de alface testadas, então conseqüentemente especula-se que o potencial osmótico do extrato não tenha interferido nos resultados.

Na literatura, as informações disponíveis a respeito dos efeitos do pH sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas são basicamente referentes às espécies de regiões temperadas. De qualquer modo, esses dados indicam que tanto a germinação como o desenvolvimento são afetados negativamente, em condições de extrema acidez ou extrema alcalinidade (SOUZA FILHO, *et al.* 1996).

Levando em consideração que os valores do pH do extrato nos diferentes tratamentos, variaram entre 7 e 9, e que estes valores provavelmente estão fora de extrema acidez ou extrema alcalinidade, em que poderiam afetar negativamente a germinação e o desenvolvimento de plântulas da espécie teste (alface), então é provável que o pH do extrato não tenha influenciado os resultados.

Os efeitos visíveis dos aleloquímicos sobre as plântulas é somente uma sinalização secundária de mudanças anteriores. Assim, os estudos sobre o efeito destes sobre a germinação ou o desenvolvimento da planta são manifestações secundárias de efeitos ocorridos a nível molecular e celular inicialmente sobre estes mecanismos. Estas alterações podem ser pontuais, mas, como o metabolismo consiste numa série de reações com vários controles do tipo “feedback”, rotas inteiras podem ser alteradas, mudando processos (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Os mecanismos de ação dos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos na planta. No entanto, os efeitos desses compostos ainda não estão completamente esclarecidos. As informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas ainda são poucas. Uma das grandes dificuldades que se apresenta é que essas substâncias afetam mais de uma função, dependendo de sua concentração e forma de translocação, e provocam efeitos secundários difíceis de distinguir dos principais. A grande diversidade dos compostos que causam alelopatia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais de um rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (EINHELLIG, 1995).

Os compostos alelopáticos podem afetar processos, tais como a germinação das sementes e o crescimento das plântulas, a assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteína, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos

efeitos na permeabilidade da membrana celular, sendo alguns efeitos mais importantes do que outros e o centro de ação destas se localizar na membrana plasmática provocando uma interrupção da maioria do restante dos processos que estão conectados, interligados e interdependentes, entre estes a respiração e absorção de água (DURIGAN & ALMEIDA, 1993; RODRIGUES, *et al.*, 1993; EINHELLIG, 1995). Muitas substâncias apontadas como alelopáticas estão também relacionadas com funções de proteção ou defesa das plantas contra o ataque de microrganismos e inseto. (SANTAMARIA, 1999).

A inibição do crescimento da plântula após a germinação, sob o ponto de vista ecológico, é um mecanismo mais eficiente de seleção do que evitar a germinação do competidor. Isto porque a descendência seria eliminada por morte dos indivíduos, desaparecendo o DNA competidor, ou, nos casos menos severos, por um retardamento do crescimento ou de germinação. Neste último caso, os resultados ontogênicos são similares, pois se o desenvolvimento das outras espécies é prejudicado, a espécie favorecida pode estabelecer sua prole, evitando a pressão maior de competição (JACOBI & FERREIRA, 1991). Isto vem salientar a importância dos promissores resultados obtidos com o extrato, pois este foi eficiente tanto na inibição da germinação como no desenvolvimento e/ou crescimento das plântulas de alface.

Segundo Matos (2004), as sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) possuem em sua constituição química cumarina e 6-hidroxycumarina (LEAL, 1995), sendo o constituinte químico ativo que está presente em maior quantidade, podendo ser a responsável pelos efeitos alelopáticos da espécie. Porém, segundo Bezerra *et al.* (2001), que obteve resultados semelhantes sobre a fitotoxicidade do extrato de cumaru para alface, não é somente a cumarina a responsável pela ação alelopática do extrato, já que um extrato aquoso bruto é constituído por muitos compostos químicos de diferentes classes que podem agir conjuntamente, explicitando assim a potencial utilização do próprio extrato como bioherbicida.

Com base neste raciocínio, foi que se realizou a extração química do extrato de cumaru, com clorofórmio (CHCl_3) e acetato de etila (AcOEt), e a extração da cumarina pura utilização em bioensaios, com o intuito de verificar se a cumarina é a responsável pela atividade alelopática do extrato.

O ensaio 3, substâncias químicas x concentração, teve suas concentrações escolhidas com base no rendimento real do extrato que foi de 60 %, sendo este o material utilizado para a extração das frações e da cumarina pura.

A análise de variância dos dados de germinação, comprimentos da radícula e da parte aérea, referente à inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento de plântulas de alface encontram-se na Tabela 13. Observa-se que houve diferença significativa para o fator concentração nas variáveis comprimentos da radícula e da parte aérea. Para o percentual de germinação todos os fatores, inclusive a interação, tiveram efeitos significativos.

TABELA 13 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de alface submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio		
		G	CR	CPA
Substâncias (S)	2	356,68**	6,33 ^{ns}	0,0252 ^{ns}
Concentrações (C)	3	23593,96**	2063,88**	3661,01**
S x C	6	174,30**	10,77 ^{ns}	0,0252 ^{ns}
Resíduo	36	14,49	9,40	1,13
CV (%)		12,72	35,49	12,19

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

As médias obtidas para o percentual de germinação dentro da substância clorofórmio, evidenciam que todas as concentrações interferiram na capacidade germinativa das sementes de alface, pois apresentaram médias baixas e diferentes entre si e em relação ao controle (Tabela 14). O mesmo comportamento foi observado para as substâncias acetato e cumarina pura. Quando se compara as substâncias testadas conclui-se que houve diferença apenas para a concentração 0,12 mg/mL, nas demais concentrações as médias são idênticas.

TABELA 14 – Médias do percentual de (G), obtidas de sementes de alface submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Substâncias químicas		
	Clorofórmio	Acetato	Cumarina
0	96 a A	97 a A	96 a A
0,12	31 b A	12 b B	4 b B
0,23	13 c A	9 b A	2 b A
0,46	0 d A	2 b A	0 b A

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração.

Para o comprimento da radícula, Tabela 15, observa-se que as concentrações não diferem entre si, mas somente do controle. O mesmo se deduz quando se compara as três substâncias para esta variável, ou seja, as substâncias apresentam a mesma fitotoxicidade para o desenvolvimento das plântulas de alface, o que nos leva a crer que ambas são muito eficientes.

TABELA 15 – Médias (mm) do comprimento da radícula (CR), obtidas de plântulas de alface, submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Substâncias químicas			Médias
	Clorofórmio	Acetato	Cumarina	
0	28	28	29	28 a
0,12	2	2	2	2 b
0,23	2	2	2	2 b
0,46	0	2	0	1 b
Médias	8 a	9 a	8 a	

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

As médias para o comprimento da parte aérea podem ser observadas na Tabela 16. Observa-se que as substâncias testadas não diferirão entre si. As concentrações avaliadas também não diferem entre si, mas diferem do controle, revelando a total inibição do

desenvolvimento da parte aérea das plântulas de alface, devido às propriedades alelopáticas das substâncias testados.

As sementes não germinadas de todos os tratamentos foram avaliadas quanto à viabilidade das mesmas, repicando-se as sementes não germinadas para Placas de Petri com água destilada por mais sete dias em condições ideais. Verificou se para as frações clorofórmio e acetato, que a concentração 0,12 mg/ml não matou apenas inibiu a germinação, pois durante o teste as sementes germinaram e se desenvolveram normalmente. Na concentração 0,23 mg/ml as plântulas tiveram desenvolvimento anormal, com crescimento retardado. A concentração 0,46 mg/ml, possibilitou a germinação, protusão da radícula.

TABELA 17 - Médias (mm) do comprimento da parte aérea (CPA), obtidas de plântulas de alface submetidas a diferentes substâncias químicas e concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	Substâncias químicas			Médias
	Clorofórmio	Acetato	Cumarina	
0	35	35	35	35 a
0,12	0	0	0	0 b
0,23	0	0	0	0 b
0,46	0	0	0	0 b
Médias	9 a	9 a	9 a	9

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A cumarina nas concentrações de 0,12 e 0,23 mg/ml, apesar de permitir a germinação, o desenvolvimento foi anormal. Enquanto, que para a concentração 0,46 mg/ml as sementes morreram. Concluindo-se que as substâncias analisadas são fitotóxica e pode inibir tanto a germinação quanto o desenvolvimento de plântulas de alface em pequenas concentrações.

Uma classe de compostos secundários com propriedades alelopáticas que se destaca é a classe dos compostos fenólicos. Devido à diversidade química e funcional, os compostos fenólicos têm grande interesse dos pesquisadores em diversas áreas, como biologia, química, medicina, ecologia e agricultura. Estes podem agir na planta na proteção

constitutiva contra pragas e doenças, funcionar como moléculas sinais e atuar como compostos alelopáticos (SIQUEIRA *et al.*; 1991).

Dentre os compostos fenólicos a classe das cumarinas (1,2 – benzopirona) presentes em muitas plantas estão incluídas na lista de substâncias que têm efeito fitorregulador, podendo alterar o balanço hormonal do AIA, ABA e giberelinas, inibindo ou estimulando na indução do crescimento em determinadas concentrações (SAMPIETRO, 2001).

3.4 CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho indicam que o método de extração mais eficiente foi à maceração.

O tempo de extração que revelou os resultados mais promissores foi o de 30 min.

As concentrações mais fitotóxicas para a alface foram: 3,13; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/mL

A substância química mais potente foi a cumarina pura para todas as concentrações avaliadas.

Os efeitos alelopáticos se manifestaram através inibição da germinação das sementes ou da redução do desenvolvimento e do crescimento das plântulas de alface.

4. CAPÍTULO 2

Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de picão-preto.

4.1 INTRODUÇÃO

O termo alelopatia define um fenômeno químico ecológico no qual metabólitos secundários produzidos por uma espécie vegetal são liberados e interferem na germinação e no desenvolvimento de outras plantas num mesmo ambiente. Num sentido amplo, os efeitos alelopáticos se referem tanto a inibição quanto ao estímulo do desenvolvimento. (HARBORNE, 1988).

Conquanto muito se tenha avançado em relação ao entendimento dos aspectos básicos que regem o fenômeno alelopatia, pouco se sabe a respeito dos mecanismos que regulam o padrão de produção e de distribuição dos aleloquímicos na planta, bem como sobre os fatores que interferem nos resultados. As informações disponíveis implicam que substâncias químicas com atividade alelopática estão presentes em todos os órgãos das plantas, como folhas, rizomas, sementes e raízes, entre outros. Entretanto, a distribuição das substâncias não é uniforme, havendo variações em função da espécie e do órgão da planta analisado (HEDGE & MILLER, 1990).

Essas substâncias alelopáticas estão implicadas numa grande diversidade de feitos nas plantas. Esses efeitos incluem atraso ou inibição completa da germinação de sementes, crescimento paralisado, injúria no sistema radicular, clorose, murcha e morte das plantas (SOUSA FILHO & ALVES, 2002).

No entanto, segundo Lorenzi (1984), a ação alelopática é mais ou menos específica, ou seja, cada planta, tanto viva quanto em decomposição, exerce inibição apenas sobre determinadas espécies de plantas daninhas ou plantas cultivadas.

A presença de plantas infestantes nas culturas sempre é uma preocupação dos agricultores, atribuindo-se os prejuízos por elas provocados por competição e problemas fitossanitários. Uma das espécies que se destaca entre as plantas infestantes é picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Esta espécie é originária da América do Sul, se encontra atualmente disseminada em quase todo o território brasileiro, sua maior concentração é verificada nas áreas agrícolas do centro-sul, onde constitui uma das piores plantas daninhas a infestar culturas anuais, sendo apontada como tal em mais de 40 países (KISSMANN, 1991).

Plantas infestantes podem ser controladas pelo crescimento de outras plantas capazes de exudar aleloquímicos ou pela incorporação de resíduos de plantas com alto teor de aleloquímicos no solo. O potencial de controle de plantas daninhas por plantas medicinais com propriedades alelopáticas ainda é pouco explorado. Para o aproveitamento dessa característica, faz-se necessário o conhecimento da especificidade das relações alelopáticas entre estas, sendo este um dos fatores que podem auxiliar como alternativa no controle das plantas infestantes.

As plantas medicinais *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Aristolochia triangularis*, *Artemisia absinthium* and *Baccharis trimera* foram apontadas por Cruz *et al.*, (2000) como potenciais no controle do picão-preto.

A pesquisa teve como objetivo determinar o efeito alelopático do extrato aquoso de semente de cumaru e da cumarina pura extraída deste extrato, em diferentes concentrações sobre a germinação de sementes, o desenvolvimento e o crescimento de plântulas de picão-preto.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Local e data dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE, no mês de março de 2005.

4.2.2 Materiais biológicos

Para a condução dos experimentos foram utilizadas sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) coletadas e adquiridas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE, safra 2004 e sementes de picão-preto (*Bidens pilosa* L.), coletadas em setembro de 2004, no horto do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza-CE.

4.2.3 Preparo das sementes

As sementes de picão-preto foram beneficiadas no soprador tipo Suth Dakota para a retirada de sementes chochas e deterioradas. Posteriormente, as sementes selecionadas foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 1% (v/v) durante quinze minutos sendo secas com papel de filtro e imediatamente utilizadas nos ensaios biológicos.

4.2.4 Preparo de soluções

As sementes de cumaru foram moídas em moinho elétrico até obtenção de uma farinha de granulação fina, em torno de 40 mesh, armazenada em recipiente de plástico no refrigerador a temperatura de 16° C, para posterior utilização.

A extração da farinha foi realizada pelo método da maceração, onde a solução de farinha com água destilada na proporção de 1:20 (p/v) ficou sob agitação constante por 30 min, a temperatura de 26° C, logo após, sendo submetida a filtração em filtro de papel para utilização imediata nos ensaios. A partir da solução (50 mg/mL) foram realizadas as diluições: 25, 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19 mg/mL, totalizando 10 tratamentos com o controle (zero mg/ml, água destilada).

4.2.5 Extração da Cumarina

Sementes moídas de cumaru (1,5 Kg) foram extraídas com hexano (1,8 L) a temperatura ambiente (25-30° C) durante 24 h (3x). Após evaporação do solvente, gerou-se um extrato líquido amarelo denominado ACS-H (56,4 g) contendo um precipitado, o qual foi separado da fase oleosa por filtração simples, resultando na obtenção de 23,4 g de um sólido amorfo branco. Uma alíquota de 1g deste sólido foi purificada através de recristalização em água fervente (50 mL), obtendo-se 240,5 mg de ACS-1 (cristais incolores, pf. 67,8-68,7° C). ACS- 1 teve sua estrutura elucidada por diferentes métodos espectroscópicos (RMN ¹H e ¹³C, IV, EM), sendo caracterizada como a cumarina (1) Figura 3 do anexo.

4.2.6 Tratamentos

O experimento constou de nove concentrações (50, 25, 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19 mg/ml) do extrato aquoso de sementes de cumaru, dez tratamentos, incluindo o controle, dispostos em um delineamento inteiramente casualizado. Cada tratamento constou de 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25 sementes. Foram realizados três ensaios, um avaliando a inibição da germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas de picão-preto, outro avaliando a influência do extrato aquoso sobre o crescimento das plântulas de picão-preto e o terceiro e último, para avaliar o efeito da cumarina pura, sobre a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas de picão-preto.

Para a avaliação da inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento das plântulas de picão-preto, três discos de papel de filtro foram postos em placas de Petri 9 cm de diâmetro e, em seguida, embebidas, com 4,5 ml de solução dos extratos ou de água destilada (2,5 o peso do papel: 1 da solução ou água). Logo após, 25 sementes selecionadas de picão-preto foram distribuídas nas placas, as quais foram acondicionadas em câmara de germinação com temperatura regulada a 30 - 25° C alternada e fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, por sete dias. Este procedimento foi utilizado nos três experimentos.

Para a avaliação da inibição do crescimento das plântulas, as sementes de picão-preto foram postas para germinar em placas de Petri de 9 cm de diâmetro com três discos de papel de filtro, embebidos, com 4,5 mL de água destilada acondicionadas em câmara de germinação com temperatura regulada a 30°- 25° C alternada e fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, por dois dias. Logo após este período, 60 plântulas (quatro repetições de 15) de radícula com aproximadamente 5 mm, foram transferidas para placas de Petri com as soluções referentes aos tratamentos, retornando-as de imediato para a câmara, por quatro dias de incubação.

4.2.7 Variáveis analisadas

Para os ensaios 1 e 3 as variáveis foram: porcentagem de germinação, do comprimento da radícula e da parte aérea. E para o ensaio 2 as variáveis foram: comprimento da radícula e da parte aérea.

4.2.8 Análise estatística

As variáveis foram submetidas à análise de variância utilizando software de Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados SISVAR (FERREIRA, 1999). As médias dos dados foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados, percentual de germinação, comprimento da radícula e da parte aérea, referente à inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento das plântulas de picão-preto, ensaio 1, encontra-se na Tabela 1. Observa-se que houve diferença significativa do tratamento concentrações para as variáveis analisadas.

A germinação nas concentrações de 3,13 e 6,25 mg/mL foi totalmente inibida. Das concentrações 0,19 a 0,78 mg/mL todas as variáveis foram bastante reduzidas, diferindo do controle. Na concentração 1,56 houve pouca germinação e apenas a protusão da radícula. Nas concentrações maiores 12,5; 25 e 50 mg/mL apesar de ter apresentado um aumento no percentual de germinação, houve apenas a protusão da radícula até 5 mm e um mínimo desenvolvimento da parte aérea. Tabela 2.

TABELA 1 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio		
		G	CR	CPA
Concentrações	9	4018,17**	53,67**	209,65**
Resíduo	30	258,53	1,71	1,32
CV (%)		45,81	31,45	26,60

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

A partir da concentração 1,56 mg/mL as sementes não germinadas foram repicadas em placas de Petri com água destilada, para verificar se estavam mortas. Entre 1,56 e 12,5 mg/mL as plântulas conseguiram se desenvolver normalmente (Tabela 2).

TABELA 2 – Médias dos dados de percentual de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	G (%)	CPA (mm)	CR (mm)
0	86 a	23 a	13 a
0,19	46 b	7 b	7 b
0,39	33 b c	3 c d	4 c d
0,78	13 c	1 d	3 c d
1,56	5 c	0 d	2 d e
3,13	0 c	0 d	0 e
6,25	0 c	0 d	0 e
12,5	33 b c	1 d	5 b c
25	81 a	5 c b	5 b c
50	54 a b	0 d	5 b c

*Medias seguida por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Na concentração de 25 mg/mL houve um desenvolvimento anormal das plântulas. E na maior concentração de 50 mg/mL ocorreu à morte das sementes não havendo nenhuma germinação ou desenvolvimento.

Referente à inibição do crescimento de plântulas de picão-preto, ensaio 2, a análise de variância dos dados, comprimento da radícula e da parte aérea, é apresentada na Tabela 3. Observa-se que houve diferença significativa no tratamento nas duas variáveis analisadas.

Avaliando a inibição do crescimento das plântulas de picão-preto para o comprimento da radícula pela taxa de redução no crescimento em relação ao controle, perceber-se que as maiores reduções foram para as concentrações 0,39; 0,78; 1,56 e 50 mg/mL (Tabela 4). Para o comprimento da parte aérea as concentrações de 0,39 a 25 mg/mL foram as que apresentaram as maiores taxas de redução.

TABELA 3 – Análise de variância dos dados comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio	
		CR	CPA
Concentrações	9	14,60**	117,88**
Resíduo	30	1,82	1,77
CV (%)		15,30	12,51

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

Valendo ressaltar que em todos os tratamentos o extrato provocou efeitos fitotóxicos, em maior ou menor intensidade, pois todas as médias diferiram do controle. Além disso, pode-se perceber que o crescimento da parte aérea foi bem mais afetado que o crescimento da radícula. Atentando para o fato de que em todas as concentrações as plântulas apresentaram tecidos moles, amarelados e com necrose terminal nas radículas e plúmulas (Tabela 4).

TABELA 4 – Médias (mm) dos comprimentos da parte aérea (CPA) e da radícula (CR) e taxa de redução, obtidas de plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	CPA (mm)	% de Redução	CR (mm)	% de Redução
0	24 a		13 a	
0,19	15 b	36	8 b c	33
0,39	11 c d	51	7 b c	43
0,78	8 d e	65	6 c	49
1,56	6 e	74	6 c	52
3,13	6 e	73	8 b c	33
6,25	6 e	75	10 a b	22
12,5	8 e	67	10 a b	22
25	10 c d	59	9 b	28
50	13 c d	46	5 c	60

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Comparando o ensaio 1 com o 2, a inibição da germinação de sementes e do crescimento de plântulas, constata-se que o desenvolvimento das plântulas de alface, após a germinação das sementes expostas ao extrato, foi mais sensível do que o crescimento das plântulas. Levando a crer que o extrato é mais fitotóxico para o desenvolvimento das plântulas do que para a germinação.

Os efeitos alelopáticos foram observados tanto sobre a germinação quanto sobre o desenvolvimento e o crescimento das plântulas. O efeito é mais drástico sobre o desenvolvimento e o crescimento do que sobre a germinação. Resultados similares já foram encontrados anteriormente (LUCKESI & MEDEIROS, 1993; SOUZA FILHO & ALVES, 2000; SOUZA FILHO, *et al.*, 1997).

O fator concentração exerceu influencia sobre os resultados sendo diferencial, bem como para Almeida (1991), que reportado em seu trabalho o efeito alelopático de folha e fruto de eucalipto (*Eucalyptus saligna*) e de farelo de mamona (*Ricinus communis*) sobre a germinação e o desenvolvimento de plantas infestantes, no qual as concentrações 10 e 15 %

do extrato de folhas de eucalipto inibiram a germinação do caruru gigante, e a concentração mais alta, reduziu a emergência de capim-carrapicho. Assim como Piña-Rodrigues & Lopes (2001), também concluíram que a concentração tem influencia marcante dentro dos trabalhos com alelopatia.

Ferreira e Aquila (2000) apontam que a germinação é menos sensível aos aleloquímicos do que o crescimento da plântula, pois as substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Alterações no padrão de germinação podem resultar em efeitos sobre: a permeabilidade de membranas, a transcrição e tradução do DNA, o funcionamento dos mensageiros secundários, a respiração por seqüestro de fenóis, a conformação de enzimas e de receptores, ou ainda, pela combinação destes fatores. A assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteína, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular, podem ser outros exemplos da atuação dos compostos alelopáticos.

A inibição do crescimento da plântula após a germinação, sob o ponto de vista ecológico, é um mecanismo mais eficiente de seleção do que evitar a germinação do competidor. Isto porque a descendência seria eliminada por morte dos indivíduos, desaparecendo o DNA competidor, ou, nos casos menos severos, por um retardamento do crescimento ou de germinação. Neste último caso, os resultados ontogênicos são similares, pois se o desenvolvimento das outras espécies é prejudicado, a espécie favorecida pode estabelecer sua prole, evitando a pressão maior de competição (JACOBI & FERREIRA, 1991). Isto vem salientar a importância dos promissores resultados obtidos com o extrato, pois este foi eficiente tanto na inibição da germinação como no desenvolvimento e/ou crescimento das plântulas da espécie infestante picão-preto.

O controle do pH e da concentração osmótica dos extratos brutos é fundamental, pois pode haver neles substâncias como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que influem no pH e são osmoticamente ativos e essa atividade pode mascarar o efeito alelopático. Dessa forma, foram medidos o pH e o potencial osmótico em todos os tratamentos (Tabela 1 em anexo).

Os trabalhos de pesquisa nos quais são analisados os efeitos do pH sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas invasoras são bastante limitados e,

basicamente, referem-se às espécies temperadas, com poucas informações disponíveis com relação às espécies de invasoras que ocorrem em áreas de outras pastagens. Entretanto, as informações mostram que tanto a germinação como o desenvolvimento de plantas, são afetados negativamente apenas em condições em que o meio ou é extremamente ácido ou extremamente alcalino (BATRA & KUMAR, 1993).

Levando em consideração que os valores do pH do extrato nas diferentes concentrações variaram entre 7 e 9, e que estes valores provavelmente estão fora da faixa, extremamente ácido ou extremamente alcalino, em que poderiam afetar negativamente a germinação e o desenvolvimento de plântulas da espécie receptora, é provável que o pH do extrato não tenha influenciado nos resultados.

Potenciais osmóticos entre -0,2 e -0,3 MPa, que permitam a germinação e a estratificação entre os lotes de sementes, possivelmente podem ser usados para avaliar o vigor de sementes de alface (FRANZIN, *et al.*, 2004). Considerando que os valores dos potenciais do extrato nas diferentes concentrações variaram entre -0,1 e -0,2, especula-se que estes não influenciem negativamente a germinação e o desenvolvimento de plântulas de alface espécie-teste, e conseqüentemente da espécie receptora em questão, o picão-preto .

Os mecanismos de ação dos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos na planta. No entanto, os efeitos desses compostos ainda não estão completamente esclarecidos. As informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas ainda são poucas. Uma das grandes dificuldades que se apresenta é que essas substâncias afetam mais de uma função e provocam efeitos secundários difíceis de distinguir dos principais. A grande diversidade dos compostos que causam alelopatia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais de um rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (EINHELLIG, 1995).

Há vários compostos tem sido atribuído o papel de substâncias inibidoras. Compostos do metabolismo secundário como, fenóis, cumarinas, lactonas insaturadas, poliacetilenos, flavonóides, taninos, terpenóides e esteróides (RICE, 1984).

Teixeira *et al.*; (2004), concluiu através de experimentos que a *Crotalaria juncea* , entre seis plantas de cobertura, reduziu a germinação da alface e do picão-preto, em

conseqüência de seus efeitos alelopáticos. A mucuna-preta reduziu o índice de velocidade de emergência do picão.

Os óleos essenciais de canela, alecrim pimenta e capim citronela inibem a germinação de sementes e o crescimento da raiz de plântulas de picão-preto (ALVES, 2004).

Cruz *et al.*, (2002), verificou que extratos aquosos na concentração de 20 % p/v, das plantas medicinais capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e arruda (*Ruta graveolens* L.), provocaram redução da germinação de picão-preto.

Souza *et al.*, (1998), concluíram que extratos aquosos na concentração de 10 % p/v, das plantas medicinais capim limão e vetiver (*Vetiveria zizanoides* L.) inibiram significativamente a germinação de sementes de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) e de picão-preto, não afetando a germinação das sementes de algodão e milho.

A análise de variância dos dados, porcentagem de germinação, comprimentos da radícula e da parte aérea para a cumarina pura, em quatro diferentes concentrações, encontra-se na Tabela 5. Observa-se que houve diferença significativa para as variáveis analisadas.

TABELA 5 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio		
		G	CR	CPA
Concentrações	4	5916,80**	207,37**	475,31**
Resíduo	15	20,27	0,01	0,32
CV (%)		26,17	3,59	3,70

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

Os resultados da avaliação da inibição da germinação das sementes e do desenvolvimento das plântulas de picão-preto pela cumarina pura (Tabela 6) revelam que esta inibiu em 100 % a germinação, e conseqüentemente o comprimento da radícula e da

parte aérea, o que demonstra ser a cumarina pura uma potente substância química com propriedades alelopáticas que age em pequenas concentrações.

As sementes de picão-preto não germinadas devido à presença de cumarina pura foram repicadas para placas de Petri com água destilada para verificar se estavam mortas ou não. Nas concentrações de 0,12 e 0,23 mg/mL as plântulas se desenvolveram normalmente. Já na concentração 0,46 mg/mL houve um desenvolvimento anormal, bem com na concentração de 0,92 mg/mL na qual houve apenas a protusão da radícula e do hipocótilo estes medindo 3 mm.

Dentre os metabólitos secundários com potencial alelopático, os derivados fenólicos se destacam pela sua capacidade de interferir no desenvolvimento vegetal. Essas substâncias são notáveis pela sua capacidade de interferir com a atividade de fitormônios, formando complexos com giberelinas, exibindo ação antagonista com o ácido abscísico ou inibindo as AIAS-oxidase, aumentando assim a ação das auxinas. Mesmo pequenas mudanças no metabolismo dos fenóis podem interromper muitos processos que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento normais da planta (SAMPIETRO, 2001).

TABELA 6 – Médias dos dados, porcentagem de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas de picão-preto submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.

Concentrações (mg/ml)	G (%)	CR (mm)	CPA (mm)
0	86 a	16 a	24 a
0,12	0 b	0 b	0 b
0,23	0 b	0 b	0 b
0,46	0 b	0 b	0 b
0,92	0 b	0 b	0 b

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Dentre os compostos fenólicos a classe das cumarinas (1,2 – benzopirona) é bastante lembrada e, muitas pesquisas evidenciam que as cumarinas têm várias atividades biológicas, entre elas, estão atividades anti-neoplásica, efeito narcótico, hemostático,

sedativo, espasmolítico, anticoagulante, analgésico, regulador hormonal e vaso dilatador (BORGES, 1987).

As cumarinas presentes em muitas plantas estão incluídas na lista de substâncias que têm efeito fitorregulador, podendo alterar o balanço hormonal do AIA, ABA e giberelinas, inibindo ou estimulando na indução do crescimento em determinadas concentrações, podendo ainda, atuar em concentrações relativamente altas inibindo a transporte de elétrons. (SAMPIETRO, 2001). Segundo Matos (2004), um dos principais constituintes químicos das sementes de cumaru (*Amburana cearensis*) é a cumarina e 6-hidroxicumarina (LEAL,1995).

4.4 CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho indicam a presença de fitotoxicidade e, confirmada ação alelopatia promovida pelo extrato aquoso de sementes de cumaru, nas concentrações a partir de 0,19 mg/mL, tanto para inibição da germinação das sementes e do desenvolvimento quanto para o crescimento das plântulas de picão-preto. A cumarina pura inibiu a germinação das sementes em todas as concentrações testadas.

5. CAPÍTULO 3

Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de carrapicho.

5.1 INTRODUÇÃO

O carrapicho é uma das plantas infestantes mais importantes do Brasil de difícil controle pelas práticas culturais tradicionais, onde seus espinhos dificultam a ação dos trabalhadores. Apresenta infrutescência protegida por brácteas rijas e espinescentes que facilmente se aderem aos pêlos de animais e diversos tipos de superfície (KISSMANN, 1991).

Uma alternativa que vem sendo estudada, com o propósito de se complementar os métodos tradicionais de controle de plantas infestantes, minimizando o uso excessivo e indiscriminado de herbicidas, além de outros defensivos sintéticos, é a utilização de plantas que liberam substâncias tóxicas a outras plantas (alelopatia), reduzindo ou até mesmo inibindo totalmente seu desenvolvimento (GOMIDE, 1993).

As substâncias alelopáticas ainda se mantêm nos tecidos das plantas mesmo depois de mortas, de onde são liberadas por volatilização, se forem produtos voláteis, ou por lixiviação, por meio de orvalho e chuva, se forem solúveis na água, sendo arrastadas para o solo, onde, ao atingirem a concentração necessária, podem influenciar o desenvolvimento dos microrganismos e das plantas que nele se encontram. Nesse sentido, o efeito alelopático pode se pronunciar, tanto durante o ciclo de cultivo, quanto nos cultivos subseqüentes (ALMEIDA, 1991).

Embora pouco se saiba com exatidão como esses produtos são formados nas células, sabe-se que eles têm suas sínteses a partir da rota do acetato e/ou ácido chiquímico (EINHELLIG, 1995).

Com relação às variações na alocação dessas substâncias alelopáticas, na parte aérea e nas raízes, em função da idade de crescimento, elas ainda não foram analisadas. Aparentemente, os compostos alelopáticos, classificados como secundários, são continuamente sintetizados e degradados na célula, com finalidade específica, e sua síntese obedece a certos preceitos genéticos (SOUZA FILHO & ALVES, 2002).

Segundo Rodrigues *et al.*, (1992), estes compostos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos das plantas, agindo como inibidores da germinação, pois interferem na divisão celular, na permeabilidade da membrana, na ativação de enzimas e na produção de hormônios pela planta.

Partindo destes pressupostos, objetivaram-se com este trabalho verificar as potencialidades alelopáticas do extrato aquoso de sementes de cumaru e da cumarina pura extraída deste extrato, em diferentes concentrações, sobre a germinação de sementes, o desenvolvimento e o crescimento de plântulas de carrapicho.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Local e data dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE, no mês de maio de 2005.

5.2.2 Materiais biológicos

Para a condução dos experimentos foram utilizadas sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) adquiridas comercialmente na cidade de Fortaleza-CE, safra 2004, coletadas em Juazeiro do Norte-CE. As sementes de carrapicho foram coletadas em setembro de 2004, no horto do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza-CE.

5.2.3 Preparo das sementes

A extração das sementes dos frutos de carrapicho foi realizada manualmente com o auxílio de uma lixa. O beneficiamento foi feito no soprador tipo Suth Dakota para a retirada de sementes chochas e deterioradas. Logo após, as sementes foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 1% (v/v) durante quinze minutos, sendo posteriormente secas com papel de filtro e imediatamente utilizadas nos ensaios biológicos.

5.2.4 Preparo de soluções

As sementes de cumaru foram moídas em moinho elétrico para a obtenção de uma farinha de granulação fina, sendo esta armazenada em recipiente de plástico no refrigerador a temperatura de 16 °C, para posterior utilização.

A extração da farinha foi realizada pelo método da maceração, onde a mistura de farinha com água destilada na proporção de 1:20 (p/v) ficou sob agitação constante por 30 min, a temperatura ambiente, logo após, foi submetida à filtração em filtro de papel para

utilização imediata nos ensaios. A partir da solução (50 mg/mL) foram realizadas as diluições: 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19 mg/mL, totalizando 10 tratamentos com o controle (água destilada).

5.2.5 Extração da Cumarina

Um quilo e meio (1,5 Kg) de sementes moídas de cumaru foram extraídas com hexano (1,8 L) a temperatura ambiente (25-30° C) durante 24 h (3x). Após evaporação do solvente, gerou-se um extrato líquido amarelo denominado ACS-H (56,4 g) contendo um precipitado, o qual foi separado da fase oleosa por filtração simples, resultando na obtenção de 23,4 g de um sólido amorfo branco. Uma alíquota de 1g deste sólido foi purificada através de recristalização em água fervente (50 mL), obtendo-se 240,5 mg de ACS-1 (cristais incolores, pf. 67,8-68,7° C). ACS- 1 teve sua estrutura elucidada por diferentes métodos espectroscópicos (RMN ¹H e ¹³C, IV, EM), sendo caracterizada como a cumarina (1).

5.2.6 Tratamentos

O experimento constou de nove concentrações (50, 25, 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19 mg/ml) do extrato de sementes de cumaru, totalizando 10 tratamentos incluindo o controle, dispostos em um delineamento inteiramente casualizado. Cada tratamento constou de 100 sementes, divididas em quatro repetições de 25 sementes. Foram realizados três ensaios, um avaliando a inibição da germinação das sementes e do desenvolvimento das plântulas, outro avaliando a influência do extrato aquoso sobre o crescimento das

plântulas e o terceiro e último para avaliar o efeito da cumarina pura sobre a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas de carrapicho.

Para a avaliação da inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento das plântulas de carrapicho, três discos de papel de filtro foram postos em placas de Petri 9 cm de diâmetro e, em seguida, embebidas, com 4,5 ml de solução dos extratos ou de água destilada (2,5 o peso do papel: 1 da solução ou água). Logo após, 25 sementes selecionadas de carrapicho foram distribuídas nas placas, as quais foram acondicionadas em câmara de germinação com temperatura regulada a 25° C e fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, por sete dias. Este procedimento foi utilizado nos três ensaios.

Para a avaliação da inibição do crescimento das plântulas, as sementes de carrapicho foram postas para germinar em placas de Petri com três discos de papel de filtro, embebidos, com 4,5 ml de água destilada acondicionadas em câmara de germinação com temperatura regulada a 25° C e fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro, por três dias, para uma maior uniformização da germinação. Logo após este período, 60 plântulas (quatro repetições de 15) de radícula com aproximadamente 15 mm, foram transferidas para as placas de Petri com as soluções referentes aos tratamentos, retornando-as de imediato para a câmara, por quatro dias de incubação.

5.2.7 Variáveis analisadas

Para os ensaios 1 e 3 as variáveis analisadas foram: porcentagem de germinação, do comprimento da radícula e da parte aérea. Para o ensaio 2 as variáveis foram: comprimento da radícula e da parte aérea.

5.2.8 Análise estatística

As variáveis foram submetidas à análise de variância utilizando software de Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados SISVAR (FERREIRA, 1999). As médias dos dados foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados, porcentagem de germinação, comprimentos da radícula e da parte, referente à inibição da germinação de sementes e do desenvolvimento de plântulas de carrapicho, encontra-se na Tabela 1. Observa-se que houve diferença significativa das concentrações para as variáveis analisadas.

TABELA 1 – Análise de variância dos dados de porcentagem de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio		
		G	CR	CPA
Concentrações	9	986,62**	171,83**	153,63**
Resíduo	30	84,00	9,36	11,10
CV (%)		80,39	66,99	66,46

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

Como podem ser observadas na Tabela 2, as concentrações mais fitotóxicas, para a germinação, foram: 3,13; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/ml, as quais inibiram totalmente a germinação das sementes de carrapicho. Entretanto, as demais concentrações também provocaram redução no percentual de germinação, diferindo do controle a partir de 0,78 mg/mL, mas não entre si, exceto a concentração 0,19 mg/ml que obteve um percentual

maior que o próprio controle evidenciando uma possível estimulação da germinação a esta concentração.

O comprimento da parte aérea apresentou o mesmo comportamento, ou seja, as concentrações 0,19 e 0,39 mg/ml não diferiram do controle, 0,78 e 1,56 mg/ml apresentaram uma redução mais drástica diferindo bastante do controle, e o restante das concentrações inibiram completamente o desenvolvimento do hipocótilo. Para a radícula todas as concentrações diferiram do controle, e a partir de 0,78 mg/ml não diferiram entre si. O extrato ocasionou as plântulas amolecimento, amarelecimento e posterior necrose dos tecidos das radículas e das plúmulas, em todos os tratamentos.

TABELA 2 – Médias da porcentagem de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidas de sementes e plântulas carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	G (%)	CPA (mm)	CR (mm)
0	33 a b	16 a	19 a
0,19	44 a	11 a b	11 b
0,39	16 b c	13 a	11 b
0,78	12 b c	5 b c	3 c
1,56	9 c	6 b c	2 c
3,13	0 c	0 c	0 c
6,25	0 c	0 c	0 c
12,5	0 c	0 c	0 c
25	0 c	0 c	0 c
50	0 c	0 c	0 c

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A análise de variância dos dados comprimento da radícula e da parte aérea, referente à inibição do crescimento de plântulas de carrapicho, encontra-se na Tabela 3. Observa-se que houve diferença significativa do tratamento para o comprimento da parte aérea.

TABELA 3 - Análise de variância dos dados comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de plântulas de carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio	
		CR	CPA
Concentrações	1	18,54 ^{ns}	44,78 ^{**}
Resíduo	30	12,84	11,83
CV (%)		18,10	17,69

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

Verifica-se na Tabela 4 que o crescimento das plântulas de carrapicho é menos sensível ao extrato do que a própria germinação e o posterior desenvolvimento das plântulas. O que pode ser confirmado pelos baixos valores de redução das variáveis analisadas. Apesar de todas as concentrações terem ocasionado alguma redução, para o comprimento da radícula não houve diferença entre os tratamentos e o controle nem entre os tratamentos, e para o comprimento da parte aérea só houve diferença entre o controle e a concentração de 50 mg/mL.

O desenvolvimento irregular das plântulas de carrapicho, característica marcante em plantas infestantes, pode ter influenciado nos efeitos fitotóxicos, e causado certa resistência das plântulas ao extrato.

Os efeitos alelopáticos foram observados tanto sobre a germinação quanto sobre o desenvolvimento das plântulas. O efeito é mais drástico sobre o desenvolvimento do que sobre a germinação. Resultados similares com outras espécies foram encontrados anteriormente (LUCKESI & MEDEIROS, 1993; SOUZA FILHO & ALVES, 2000; SOUZA FILHO, *et al.*, 1997).

O fator concentração exerceu influencia sobre os resultados sendo diferencial, bem como para Almeida (1991), que reportado em seu trabalho o efeito alelopático de folha e fruto de eucalipto (*Eucalyptus saligna*) e de farelo de mamona (*Ricinus communis*) sobre a germinação e o desenvolvimento de plantas infestantes, no qual as concentrações 10 e 15 % do extrato de folhas de eucalipto inibiram a germinação do caruru gigante, e a concentração mais alta, reduziu a emergência de capim-carrapicho. Assim como Piña-Rodrigues e Lopes

(2001), também concluíram que a concentração tem influencia marcante dentro dos trabalhos com alelopatia.

TABELA 4 - Médias (mm) dos comprimentos da parte aérea (CPA) e da radícula (CR), obtidos de plântulas carrapicho submetidas a diferentes concentrações do extrato de cumaru.

Concentrações (mg/ml)	CPA (mm)	% de Redução	CR (mm)	% de Redução
0	24 a		24 a	
0,19	24 a	1	21 a	15
0,39	21 a b	15	19 a	20
0,78	23 a b	8	21 a	15
1,56	19 a b	24	21 a	14
3,13	17 a b	31	17 a	28
6,25	17 a b	30	19 a	22
12,5	19 a b	23	20 a	17
25	16 a b	34	16 a	33
50	15 b	38	19 a	22

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Ferreira e Aquila (2000) apontam que a germinação é menos sensível aos aleloquímicos do que o crescimento da plântula, pois as substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de plântulas anormais, sendo a necrose da radícula um dos sintomas mais comuns. Alterações no padrão de germinação podem resultar de efeitos sobre: a permeabilidade de membranas, a transcrição e tradução do DNA, o funcionamento dos mensageiros secundários, a respiração por seqüestro de fenóis, a conformação de enzimas e de receptores, ou ainda, pela combinação destes fatores. Ainda pode agir sobre a assimilação de nutrientes, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteína, a atividade de várias enzimas e a perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular.

A inibição do crescimento da plântula após a germinação, sob o ponto de vista ecológico, é um mecanismo mais eficiente de seleção do que evitar a germinação do

competidor. Isto porque a descendência seria eliminada por morte dos indivíduos, desaparecendo o DNA competidor, ou, nos casos menos severos, por um retardamento do crescimento ou de germinação. Neste último caso, os resultados ontogênicos são similares, pois se o desenvolvimento das outras espécies é prejudicado, a espécie favorecida pode estabelecer sua prole, evitando a pressão maior de competição (JACOBI & FERREIRA, 1991). Isto vem salientar a importância dos promissores resultados obtidos com o extrato, pois este foi eficiente tanto na inibição da germinação como no desenvolvimento e no crescimento das plântulas de carrapicho.

O controle do pH e da concentração osmótica dos extratos brutos é fundamental, pois pode haver neles substâncias como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que influem no pH e são osmoticamente ativos e essa atividade pode mascarar o efeito alelopático. Dessa forma, foram medidos o pH e o potencial osmótico do extrato (Tabela 1, em anexo).

Os trabalhos de pesquisa nos quais são analisados os efeitos do pH sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas invasoras são bastante limitados e, basicamente, referem-se às espécies temperadas, com poucas informações disponíveis com relação às espécies de invasoras que ocorrem em áreas de outras pastagens. Entretanto, as informações mostram que tanto a germinação como o desenvolvimento de plantas são afetados negativamente apenas em condições em que o meio ou é extremamente ácido ou extremamente alcalino (BATRA & KUMAR, 1993).

Levando em consideração que os valores do pH do extrato nos diferentes tratamentos variaram entre 7 e 9, e que estes valores provavelmente estão fora da faixa de extremamente ácido ou extremamente alcalino em que poderiam afetar negativamente a germinação e o desenvolvimento de plântulas da espécie receptora (carrapicho), acredita-se que o pH dos tratamentos não tenha contribuído para influenciar os resultados.

Potenciais osmóticos entre -0,2 e -0,3 MPa, que permitam a germinação e a estratificação entre os lotes de sementes, possivelmente podem ser usados para avaliar o vigor de sementes de alface (FRANZIN *et al.*, 2004). Considerando que os valores dos potenciais dos tratamentos variaram entre -0,1 e -0,2, especula-se que estes potenciais não influenciaram negativamente a germinação e o desenvolvimento de plântulas da espécie

receptora no caso carrapicho, então conseqüentemente supõe-se que estes potenciais não tenham influenciado os resultados.

Os mecanismos de ação dos aleloquímicos estão relacionados a processos fisiológicos na planta. No entanto, os efeitos desses compostos ainda não estão completamente esclarecidos. As informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas ainda são poucas. Uma das grandes dificuldades que se apresenta é que essas substâncias afetam mais de uma função e provocam efeitos secundários difíceis de distinguir dos principais. A grande diversidade dos compostos que causam alelopatia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais de um rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (EINHELLIG, 1995).

Alguns autores afirmam que a ação das substâncias aleloquímicas não é muito específica, podendo uma mesma substância desempenhar várias funções, dependendo de sua concentração e forma de translocação mais do que de sua composição química (ALMEIDA, 1993).

Existem vários compostos tem sido atribuído o papel de substâncias inibidoras. Compostos do metabolismo secundário como, fenóis, cumarinas, lactonas insaturadas, poliacetilenos, flavonóides, taninos, terpenóides e esteróides (RICE, 1984).

A análise de variância para os dados, porcentagem de germinação, comprimentos da radícula e da parte aérea, para cumarina pura, encontra-se na Tabela 5. Observa-se que houve diferença significativa do tratamento para as variáveis: germinação e comprimento da radícula.

TABELA 5 – Análise de variância dos dados de germinação (G), comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA), obtidos de sementes de carrapicho submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.

Causas de Variação	GL	Quadrado médio		
		G	CR	CPA
Concentrações	4	746,67**	266,25**	105,00 ^{ns}
Resíduo	15	62,22	37,96	32,54
CV (%)		112,69	147,41	217,32

(**) - Significativo ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste F

Os dados da Tabela 6 indicam que a cumarina pura inibiu totalmente a germinação das sementes de carrapicho, bem como o posterior desenvolvimento das plântulas. As sementes de carrapicho não germinadas devido à presença de cumarina pura foram repicadas para verificar se estavam mortas ou não. O resultado foi que a cumarina pura matou as sementes de carrapicho em todas as concentrações testadas, mostrando-se uma substância altamente fitotóxica inibidora da germinação, e que atua em pequenas concentrações.

TABELA 6 – Médias da porcentagem de germinação (G), comprimentos (mm) da radícula (CR) e da parte aérea (CPA), obtidos de sementes e plântulas de carrapicho submetidas a diferentes concentrações de cumarina pura.

Concentrações (mg/ml)	G (%)	CR (mm)	CPA (mm)
0	28 a	17 a	11 a
0,12	0 b	0 b	0 a
0,23	0 b	0 b	0 a
0,46	0 b	0 b	0 a
0,92	0 b	0 b	0 a

*Médias seguidas por letras iguais não diferem entre a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Dentre os metabólitos secundários com potencial alelopático, os derivados fenólicos se destacam pela sua capacidade de interferir no desenvolvimento vegetal. Possuem atividade como fitormônios, formando complexos com giberelinas, exibindo ação antagonista com o ácido abscísico ou inibindo as AIA-oxidase, aumentando assim a ação das auxinas. Mesmo pequenas mudanças no metabolismo dos fenóis podem interromper muitos processos que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento normais da planta (SAMPIETRO, 2001).

Dentre os compostos fenólicos a classe das cumarinas (1,2 – benzopirona) tem sido bastante estudada e muitas pesquisas evidenciam que estas têm várias atividades biológicas, entre elas, atividades anti-neoplásica, efeito narcótico, hemostático, sedativo, espasmolítico, anticoagulante, analgésico, regulador hormonal e vaso dilatador (BORGES, 1987).

As cumarinas presentes em muitas plantas estão incluídas na lista de substâncias que têm efeito fitorregulador, podendo alterar o balanço hormonal do AIA, ABA e

giberelinas, inibindo ou estimulando na indução do crescimento em determinadas concentrações, podendo ainda, atuar em concentrações relativamente altas inibindo a transporte de elétrons. (SAMPIETRO, 2001). Segundo Matos (2004), as sementes de cumaru possuem como um dos principais constituintes químicos a cumarina e 6-hidroxycumarina (LEAL, 1995).

5.4 CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho indicam a presença de fitotoxicidade e, confirmada ação alelopatia promovida pelo extrato aquoso de sementes de cumaru a partir de 0,78 mg/ml para a inibição da germinação das sementes e do desenvolvimento das plântulas. Porém, este efeito foi bastante reduzido sobre o crescimento de plântulas de carrapicho. A cumarina pura inibiu a germinação das sementes de carrapicho em todas as concentrações testadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. C. de. Potencial alelopático do Angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina* (L.) Speg): efeito sobre a germinação de sementes e ciclo mitótico de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). **Dissertação** (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 55f, 1997.

ALMEIDA, F. S. Influência da cobertura morta na biologia do solo. **A Granja**, São Paulo, v. 4, n. 451, p. 52-67, 1985.

ALMEIDA, F. S. Alelopatia e as plantas. Londrina: IAPAR, **Circular 53**, 68 p, 1988.

ALMEIDA, F. S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 221-236, 1991.

ALMEIDA, A. R. P. Efeito alelopático de espécies de *Brachiaria* Griseb sobre algumas leguminosas forrageiras tropicais. **Dissertação** (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba, 73 p, 1993.

ALMEIDA, A. R. P. A defesa das plantas. **Ciências Hoje**. Rio de Janeiro, RJ, v. 11, n. 62, p. 38-45, 1990.

ALVES, C. C. F.; ALVES, J. M.; SILVA, T. M. S. da; CARVALHO, M. G. de; NETO, J. Atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Revista Floresta**, v. 10, n.1, p.93 – 97, jan./jul, 2003.

ALVES, P. L. C. A. Estudo das propriedades alelopáticas de espécies de *Eucalyptus* spp. e sua potencialidade no manejo de plantas daninhas. **Relatório FINEP**. Jaboticabal: FCAV, 1992.

ALVES, M. da C. S.; FILHO, S. M.; RENATO INNECCO, R. E TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, nov., 2004.

ARANHA, C.; LEITÃO, H.F.; YALN, C.A. **Sistemática de plantas invasoras**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, p. 17, 1988.

BANSAL, G. L.; BHAN, V. M. Status of research on allelopathy and future scope of work in Indian. **Indian Journal of Agricultural Science**, New Delhi, v. 63, n. 12, p. 769-776, 1993.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa, MG: UFV, v.2, 1991.

BASTOS, C. R. V. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste, *Torresea cearensis* Fr. All. **Dissertação** (Mestrado em Química Orgânica) – UFC, Fortaleza, 99 p, 1982.

BATRA, L.; KUMAR, A. Effect of alkalinity on germination, growth and nitrogen content of whistling pine (*Cassuarina equisetifolia*) and bufwood (*C. Glauca*). **India Journal of agriculture Science**, new delli, v.63, n. 7, p.412-416, 1993.

BORGES, M. F. M. Cumarinas: químicas e ações biológicas. **Revista Portuguesa de Farmácia**, Lisboa, v. 37, n. 1, p. 47-48, 1987.

BLUM, U. Designing laboratory plant debris-soil bioassays: some reflections. In: INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C. L. (Eds.) **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, p. 17-23, 1999.

CARVALHO, S. I. C. Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. *vulgaris* cv.

Bandeirante. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 72 p. 1993.

CARVALHO, G.J.; FONTANÉTTI, A; CANÇADO, C.T. Potencial alelopático do feijão de porco (*Canavalia ensiformes*) e da mucuna preta (*Stilozobium aterrimum*) no controle da tiririca (*Cyperus rotundus*). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.26, n.3, p.647-651, maio/jun., 2002.

CHOU, C.H. Methodologies for allelopathic research: from fields to laboratory. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. & CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, v.1, p.3-24, 1999.

CHUNG, III-M.; MILLER, D. A. Allelopathic influence of nine forage grass extracts on germination and seedling growth of alfalfa. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 4, p. 767-772, 1995.

COONS, J.M.; KEUHL, R.O.; SIMONS, N.R. Tolerance of ten cultivars to high temperature combined with NaCl during germination. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. Alexandria, v.115, n.6, p. 1004-1007, 1990.

COSTA, C.S.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Aferição do efeito inibitório de germinação de extratos de folhas de sabiá. **Programa Geral do VIII Seminário Bienal de Pesquisa**. Rio de Janeiro, UFRRJ, p. 27, nov. 1997.

CRUZ, M.E.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; NOZAKI, M.H.; BATISTA, M.A.; STANGARLIN, J.R. Alelopatia do extrato aquoso de plantas medicinais na germinação de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). **Acta Horticulturae 569**: I Latin-American Symposium on the Production of Medicinal, Aromatic and Condiments Plants. São Paulo Brasil, fevereiro, 2002.

CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H.; BATISTA, M.A. Plantas medicinais e alelopatia. **Biociências e desenvolvimento**, Brasília, v. 3, n. 15, p.28-34, 2000.

DURIGAN, J. C.; ALMEIDA, F. S. Noções sobre a alelopatia. **Boletim Técnico**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 28 p., 1993.

EINHELLIG, F.A. & LEATHER, G.R. Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 14, n.10, p. 1829-1844, Oct. 1988.

EINHELLIG, F. A. Plant x plant allelopathy: biosynthesis and mechanism of action. In: Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 1995, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, p. 59-74, 1995.

EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.

FAGIOLI, M.; RODRIGUES, T. J. D.; ALMEIDA, A. R. P.; ALVES, P. L. C. A. Potencial alelopático da *Brachiaria decumbens* Stapf e *B. brizantha* (Hochst. ex A . Rich.) Stapf na germinação e no vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 7, n. ½, p. 243, 1997.

FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Ed. Especial. Londrina, v. 12, p.175-204, 2000.

FERREIRA, DF. Sistema Para Análise de Variância Para Dados Balanceados (**SISVAR**). Lavras: UFLA; 92p, 1999.

FIGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura: cultura e comercialização de hortaliças**. 2 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2,1982.

FONTENELE, A.F.; CARVALHO, U.; MELO, V.M.M.; BRAGA, L.M.; AGUIAR, A.; MATOS, F.J.A. Avaliação da Toxicidade de Extratos de Plantas Medicinais através de Bioensaios com *Artemia salina* Leach. **Ciênc. Cult.**, v.40, n. 11, p. 1109-11, 1988.

FRANZIN, S. M.; MENEZES, N. L. de; GARCIA, D. C.; WRASSE, C. F. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 26, nº 2, p.63-69, 2004.

GOMES, V.M., MOSQUEDA, M. I., BLANCOLABRA, A. e XAVIER-FILHO, J. Vicilins storage proteins from *Vigna unguiculata* (legume) seeds inhibit fungal growth. **Journal Science Food Chemistry**, v. 45, n. 10, p. 4110-4115, oct., 1997.

GOMIDE, M.B. Potencialidade alelopática dos restos culturais de dois cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*), no controle de algumas plantas daninhas. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 96 f ,1993.

GONZALES, L.; SOUTO, X. C.; REIGOSA, M. J. Allelopathic effects of Acacia melanoxylon R. Br. Phyllodes during their decomposition. **Forest Ecology**, v. 77, n. 1-3, p. 53-63, 1995.

GONZALEZ, V.; WESTON, L.A.; CHENIAE, G.M. Inhibition of photosystem II electron transfer reaction by sorgoleone, a natural product. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. New York, v. 45, p.1415-1421, 1998.

GRANKHOV, V. P.; DIDYK, N. P. Phytocenotics approach in allelopathy of higher plants. In: WORLD CONGRRESS ON ALLOPATHY, 1, 1996, Cádiz – Sapin. **Annais...** Cádiz: Sapin, p. 52,1996.

HARBONE, J. B. **Introduction to Ecological Biochemistry**. 4 ed. Academic Press, Cambridge. 318 p, 1993.

HEGDE, R. S.; MILLER, D. A . Allelopathy and autotoxicity in alfalfa: characterization and effects of preceding crops and residue incorporation. **Crop Science**. Madison, v. 30, n. 6, p. 1255-1259, 1990.

INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. Interference potential o *Pluchea lanceolata* (Asteraceae): growth and physiological responses of asparagus bean, *Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*. **American Journal of Botany**, v. 79, p. 977-981, 1992.

INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M. Allelopathic effect of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) on characteristics of four soils and tomato and mustard growth. **American Journal of Botany**, v. 81, p. 799-804, 1994.

INDERJIT & DAKSHINI, K.M.M On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 61, p. 28-44, 1995.

JACOBI, U.S. & FERREIRA, A.G. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC.) OK. Sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p.935-943,1991.

JOLY, A B. **Botânica – Introdução á taxonomia vegetal**. 5^a ed. Companhia Editora Nacional, São Paulo, SP. Pp. 371-382, 1979.

KING, S. R.; AMBIKA, R. Allelopathic plants. 5. *Chromolaen odorata* (L). **Allelopathy Journal**, v.9, n.1, p.35-41, 2002.

KISSMAN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: BASF Brasileira, p. 333-336, 1991.

KITOU, M. Changes in the allelopathic potential in relation to incubation conditions of soil mixed with *Acacia pubescens* (Ventn) leaf power. In: **Journal of Weed Science na Technology**, n. 16, p. 107, 1997.

LEAL, L. K. A. M. Estudos farmacológicos do extrato hidroalcoólico e constituintes químicos de *Torresea cearensis* Fr. All. (Cumaru). **Dissertação** (Mestrado em Farmacologia) – UFC, Fortaleza. 128 p, 1995.

LORENZI, H. Considerações sobre plantas daninhas no plantio direto. In: TORRADO, V. P.; RAPHAEL, A. P. **Plantio direto no Brasil**. Campinas: Fundação Cargil, cap. 2, p. 13-46, 1984.

MATOS, F. J. de A.; CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W. et al. Ácidos graxos de algumas oleaginosas tropicais em ocorrência no Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 15, n. 3, p. 181-5, 1992.

MACHADO, M. I. L. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. Edições UFC, 2^a edição, p. 212-214, 2004.

MOLISCH, H. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere. **Allelopathie**.. Verlag, Jena: Gustav Fischer, 106 p., 1937.

MEDEIROS, A. R. M.; CASTRO L. A. S.; LUCCHESI, A. A. Efeitos alelopáticos de algumas leguminosas e gramíneas sobre a flora invasora. Piracicaba: ESALQ. **Anais ... ESALQ**, v. 47, n.1, p.1-10, 1990.

MEDEIROS, A.R.M. & LUCCHESI, A.A. Efeitos alelopáticos de ervilhaca (*Vicia sativa*) sobre a alface em testes de laboratório. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v. 28, p. 9-14, 1993.

NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A.; Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo. v. 26, n.3, p.331-334, 2003.

NUNES, A.P.M.; ARAUJO, A.C. Ausência de Genotoxicidade do Esteviosídeo em *E. coli*. In. X Semana de Iniciação Científica da UERJ, Rio de Janeiro, **Anais**. p.15, 2003.

OLIVEIRA, M. N. S. DE; MERCADANTE, M. O.; LOPES, P. S. N.; GOMES, I. A. C.; GUSMÃO, E.; RIBEIRO, L. M. Efeitos alelopáticos extratos aquoso e etanólico de jatobá do cerrado. **Unimontes Científica**, v.4, n.2, Julho/ Dezembro, 2002.

PERIOTTO, F.; PEREZ, S. C. J. G. DE A.; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, vol.18 no.3 São Paulo July/Sept. 2004.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (cham.) Sandw. **Floresta e ambiente**, v. 8, n.1, p.130 - 136, jan./dez. 2001.

PRASLEY, J. E.; NA, M.; HAIG, T. Following a specific protocol establish allelopathy conclusively-na Australian case study. In: MACIAS, F. A. Et al. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cádiz: Serv. Pub. Univ. Cadiz. V. 1, p. 63-70, 1999.

PRATES, H. T.; PAES, J. M. V.; PIRES, N. de M.; FILHO, I. A. P. e MAGALHÃES. P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.5, p.909-914, maio 2000.

PRATES, H.T.; PAES, J.M.V.; PIRES, N.M.; PEREIRA, I.A.; MAGALHÃES, P.C.; Efeito do Extrato Aquoso de Leucena na Germinação e no Desenvolvimento do Milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p.909-914, 2001.

PUTNAM, A. R.; DUKE, W.B. Allelopathy in agrossystems. **Ann Rev. Phytopathology**, Palo Alto, n. 16, p. 43-451, 1978.

REZENDE, C. de P.; PINTO, J. C.; EVANGELISTA, A. R.; SANTOS, I. P. A. dos. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. **Boletim Agropecuário**, Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, n. 54, p.1-55, maio, 2003.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2. ed. New York: Academic, 422 p., 1984.

RICHARDSON, D. R. & WILLIAMSON, G. B. Allelopathic effects of shrubs of the sand pine scrub on pines and grasses of the sandhills. **Forest Science**, v. 34, p.592-605, 1988.

RIZVI, S.J.H. & RIZVI, V. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In RIZVI, S.J.H. & RIZVI, H. (Eds.) **allelopathy: Basic and applied aspects**. London, Chapman & Hall, p. 443-472, 1992.

RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D.; REIS, R. A. Alelopatia em plantas forrageiras. **Boletim**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 18 p, 1992.

RODRIGUES, L. R. A.; ALMEIDA, A. R. P.; RODRIGUES, T. J. D. Alelopatia em forrageiras e pastagens. In: Simpósio sobre ecossistema de pastagens, 2., 1993, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, p. 100-129, 1993.

SALES, M.P., GOMES, V.M., FERNANDES, K. V. S. e XAVIER-FILHO, J. Chitin-binding proteins from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 29 (3): 319-326 mar 1996.

SALES, M.P., PIMENTA, P.P., PAES, N.S., GROSSI-DE-SÁ, M.F. e XAVIER-FILHO, J. Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous

structures of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 1, p. 27-34, jan, 2001.

SAMPAIO, C. A. M.; MOTA, G.; SAMPAIO, M. V. Action of plant proteinase inhibitors on enzymes of the kallikrein kinin system. **Agents Action Suppl**, v. 36, p. 191-9, 1992.

SAMPIETRO, D. A. Alelopatia: Conceito, características, metodologia de estudo e importância. Disponível em : <http://fai.enne.edu.ar/biologia/alelopatia/alelopatia.html>. Acesso em 2004.

SANTAMARIA, L.M. Interacción entre organismos: sistemas de defensa. Berkeley, **Chimera Javeriana**, 22p, 1999. (<http://www.chimera.javeriana.edu.co/bo3>).

SANTOS, J.C.F., SOUZA, I. F., MENDES, A.N.G., MORAIS, A.R., CONCEIÇÃO, H. E. O, e MARINHO, J.T.S. Efeito de extratos de cascas de café e de arroz na emergência e no crescimento do caruru-de-mancha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 738-790, jun. 2002.

SANTOS, C. C. DOS; OLIVEIRA, D. F. DE; ALVES, L. W. R.; SOUZA, I. F. DE; FURTADO, D. A.S. Efeito de extratos orgânicos, associados ao surfactante tween 80, na germinação e crescimento de plântulas de alface. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 296-299, mar./abr., 2004.

SILVA, Z. L. Alelopatia e defesa em plantas. **Boletim Geográfico**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 258-259, p. 90-96, 1978.

SIQUEIRA, J. O.; NAIR, M. G.; HAMMERSCHIMDT, R.; SAFIR, G. R. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. **Critical Review in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 10, n. 1, p. 63-121, Jan. 1991.

SMITH, A. E. The potential allelopathic characteristics of bitter sneezeweed (*Helenium amarum*). **Weed Science**, Champaign, v. 37, n. 5, p. 665-669, 1989.

SOARES, G. L. G.; VIEIRA, T. R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv.“grand rapids”) por extratos aquosos de cinco espécies de gleicheniaceae. **Floresta e ambiente**, v. 7, n.1, p.180 - 197, jan./dez. 2000.

SOARES, G. L. G.; SCALON, V. R.; PEREIRA, T. DE O.; VIEIRA, D. DE A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v.9, n.1, p.119-125, 2002.

SOUZA, I. F. Alelopatia de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 13, n. 150, p. 75-78, 1988.

SOUZA, L.; CRUZ, M.E.S.; CONSTANTIN, J. Efeitos alelopático de espécies vegetais medicinais sobre espécies silvestres e cultivadas. **Resumos**, II Reunião Anual de Microbiologia agrícola e Plantas Medicinais da UEM, Maringá, v.1, 1998.

SOUZA FILHO, A. P. S.; RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 93-101, 1996.

SOUZA FILHO, A. P. S.; RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas forrageiras sobre três invasoras de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 165-170, 1997.

SOUZA FILHO, A.P.da S.; ALVES, S.M. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.18, n.3, p.435-441, 2000.

SOUZA FILHO, A.P. da S.; ALVES, S. de M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 260p, 2002.

TANAKA, A. S.; SAMPAIO, M. U.; SAMPAIO, M. V. Purification and preliminary characterization of *Torresea cearensis* trypsin inhibitor. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.22, n. 9, p.1069-71, 1989.

TEIXEIRA, C. M.; ARAÚJO, J. B. S.; CARVALHO, G. J. Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Comunicação. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 691-695, maio/jun, 2004.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Plantas tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro: **Helianthus**, p.178-187, 2000.

TORRES, A.; OLIVA, R. M.; CASTELLANO, D.; CROSS, P. (Editors), Introduction, A Science for the Future, **Proceedings**, In: First World Congress on Allelopathy, Cádiz, Spain, September, p.16-20.1996.

TUKEY JÚNIOR, H. B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. **Botanical Review**, Bronx, v. 35, n. 1, p. 1-16, 1969.

VELINI, E. D. Comportamento de herbicidas no solo. In: CONGRESSO DE PLANTAS DANINHAS EM OLERÍCOLAS, 1991, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBPD, p.105-128, 1991.

VELU, G.; ALI, A. M. Allelopathic impact of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) and bermudagrass (*Cynodon dactylon*) on soybean (*Glycine max*). In: International symposium allelopathy in sustainable agriculture, forestry and environment, 1994, Hisar. **Abstracts...** Hisar: [s.n.], p. 27,1994.

WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINÍLLO, J.M.G. & CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz, serv. Pub. Univ. Cadiz, v. 1, 1999.

WARDLE, D. A.; NICHOLSON, K. S.; AHMED, M. Comparison of osmotic and allelopathic effects of grass leaf extracts on grass seed germination and radicle elongation. **Plant and Soil**, The Hague, v. 140, p. 315-319, 1992.

WESTON, L. A. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 860-866, 1996.

WHITTAKER, R. H.; FEENY, P. P. Allelochemicals: chemical interaction between species. **Science**, [S.l.], v. 171, n. 3973, p. 757-770, 1971.

ANEXOS

TABELA 1 – Valores de pH e potencial osmótico (MPa) para os extratos obtidos pelos métodos de extração, nas diferentes concentrações testadas.

CONCENTRAÇÕES mg/mL	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO					
	Maceração		Infusão		Decocção	
0	6,0	-0,101	6,0	-0,101	6,0	-0,101
0,19	6,6	-0,118	6,4	-0,114	6,6	-0,116
0,39	6,9	-0,118	6,5	-0,114	6,9	-0,116
0,78	7,6	-0,115	6,5	-0,116	7,2	-0,119
1,56	8,2	-0,119	6,7	-0,118	7,7	-0,121
3,13	8,5	-0,125	6,8	-0,120	8,3	-0,125
6,25	8,9	-0,124	7,0	-0,124	8,6	-0,128
12,5	9,0	-0,134	7,1	-0,136	8,8	-0,138
25	9,1	-0,156	7,2	-0,147	8,9	-0,146
50	9,3	-0,203	7,3	-0,185	9,0	-0,188



FIGURA 1 – Sementes de cumaru.



A

B

C

FIGURA 2 – Inibição da germinação de sementes (A) e plântulas anormais (B) submetidas ao extrato aquoso de sementes de cumaru, e plântulas normais (C) controle.

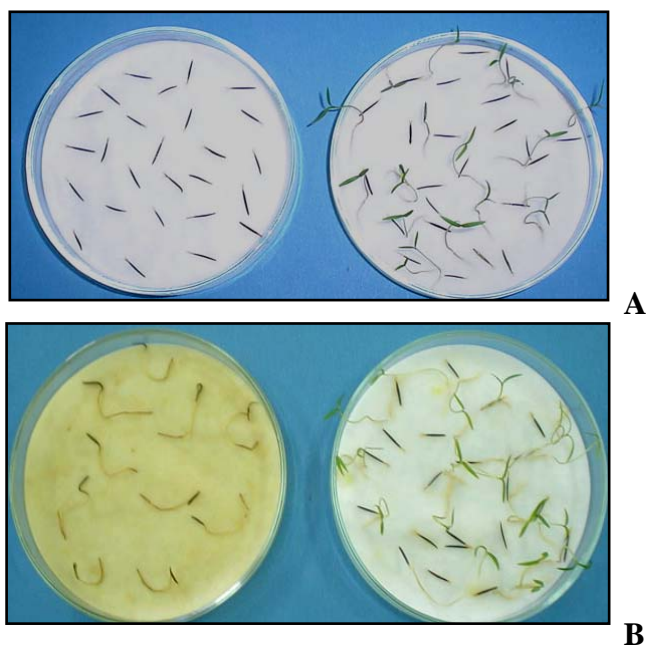


FIGURA 3 – Inibição da germinação de sementes e plântulas normais (A) controle, plântulas anormais e plântulas normais (B) controle de picão-preto, submetidas ao extrato aquoso de sementes de cumaru.

Cumarina (**1**): sólido incolor, p.f. 67,8-68,7 °C ; IV (KBr) ν_{\max} 1638; 1647; 1399; 1258; 1176; 1118; 927 cm^{-1} ; EM (70 eV), m/z:146, 118, 90, 89, 63, 45, 39; RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ 6,42 (1H, d, $J=9,5$ Hz); 7,29 (2H, m); 7,51 (2H, m); 7,71 (1H, d, $J=9,5$ Hz); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ 116,9 (C-8); 117,1 (C-3); 119,0 (C-10); 124,6 (C-6); 128,1 (C-5); 132,0 (C-7); 141,6 (C-4); 154,3 (C-9); 160,9 (C-2).

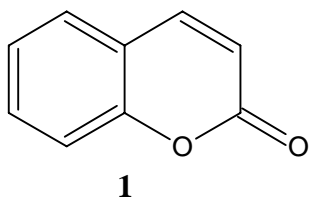


FIGURA 4 – Características físico-químicos da cumarina pura.