

ATIVIDADE ALELOPÁTICA DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS ISOLADAS DA *Acacia mangium* E SUAS VARIAÇÕES EM FUNÇÃO DO pH¹

Allelopathic Activity of Chemical Substances Isolated from Acacia mangium and Its Variations in Function of pH

LUZ, S.M.², SOUZA FILHO, A.P.S.³, GUILOHN, G.M.S.P.⁴ e VILHENA, K.S.S.⁴

RESUMO - Os objetivos deste trabalho foram isolar, identificar e caracterizar a atividade alelopática de substâncias químicas produzidas por *Acacia mangium*, além de determinar as variações na atividade das substâncias em função da variação do pH da solução. A atividade alelopática foi avaliada em bioensaios de germinação (25 °C de temperatura e fotoperíodo de 12 horas) e crescimento de radícula e hipocótilo (25 °C de temperatura e fotoperíodo de 24 horas) das plantas daninhas malícia (*Mimosa pudica*) e mata-pasto (*Senna obtusifolia*). Avaliou-se a interferência do pH (3,0 e 9,0) da solução na atividade alelopática das substâncias sobre a germinação das sementes da espécie malícia. Os triterpenoides lupenona (3-oxolup-20(29)-eno) e lupeol (3 β -hidroxilup-20(29)-eno), obtidos das folhas caídas da planta doadora, isolados e em par, evidenciaram baixo efeito alelopático inibitório da germinação de sementes e do crescimento do hipocótilo, especialmente do primeiro, cujos efeitos não ultrapassaram o valor de 2,0%. Os efeitos promovidos sobre o crescimento da radícula foram de maior magnitude, atingindo valores superiores a 40%, com destaque para as inibições promovidas pela substância lupenona. Isoladamente, as substâncias promoveram efeitos superiores aos efetivados pelas substâncias analisadas em pares, indicando a existência de antagonismo. O pH da solução influenciou a atividade alelopática das substâncias; para lupenona os efeitos foram mais intensos em pH ácido, enquanto para lupeol os melhores resultados foram verificados em condições alcalinas, mostrando que este fator é ponto importante a ser considerado em trabalhos de campo.

Palavras-chave: alelopatia, Leguminosae, lupenona, lupeol.

ABSTRACT - The aim of this study was to isolate, identify and characterize the allelopathic activity of the substances produced by *Acacia mangium* and to determine the variations of this activity according to the pH variation of the solution. The allelopathic activity was evaluated in germination bioassays (at 25 °C and under 12-12 h light-dark cycle) and radicle and hypocotyl development (at 25 °C and under 24-24 h light-dark cycle) of the weed species malícia (*Mimosa pudica*) and mata-pasto (*Senna obtusifolia*). The influence of the pH (3.0 and 9.0) of the solution in the allelopathic activity of the substances on seed germination of the same species was evaluated. The triterpenoids Lupenone (3 oxolup-20(29)-ene) and Lupeol (3 β -hydroxylup-20(29)-ene), obtained from fallen leaves of the donor plant, separately and in pair, showed low allelopathic effects on seed germination and hypocotyl growth, especially on the former, with effects showing values lower than 2%. The effects on radicle growth were higher than the other two, reaching values above 40%, especially inhibition promoted by the substance Lupenone. Separately, each substance showed higher effects than those observed when tested in pair, indicating the existence of antagonism. The pH of the solution influenced the allelopathic activity of the substances; for Lupenone, the effects were more intense at acidic pH, while for Lupeol, best results were observed under alkaline conditions, showing that this is an important factor to be considered in field works.

Keywords: allelopathy, Leguminosae, lupenone, lupeol.

¹ Recebido para publicação em 21.5.2009 e na forma revisada em 3.9.2010.

² Eng^a-Agr^a., Aluna do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, 66075-900 Belém-PA; ³ Eng^a-Agr^a., Dr., Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Trav. Dr. Enéas Pinheiro, S/N, 66095-100 Belém-PA, <apedro@cpatu.embrapa.br>; ⁴ Química, Dra., Universidade Federal do Pará.



INTRODUÇÃO

Sabe-se que as plantas daninhas são o principal fator de ordem bioeconômica a impor limitações ao desempenho das atividades agrícolas desenvolvidas nas regiões tropicais. Esse aspecto assume importância singular para as áreas de pastagens cultivadas, mormente em relação à qualidade e à produtividade das pastagens oferecidas aos animais em pastejo, as quais são severamente afetadas pelas plantas daninhas. Nesse contexto, o controle adequado dessas plantas é de fundamental importância para os mais variados aspectos, como lucratividade, desempenho agrônômico e longevidade das atividades. Diminuindo os danos ambientais e os prejuízos à saúde humana que o efeito do uso indiscriminado de herbicidas pode causar, e procurando alternativas à resistência aos herbicidas do mercado, os inúmeros metabólitos produzidos pelas plantas podem fornecer surpreendente diversidade de estruturas químicas, as quais oferecem excelentes perspectivas para incrementar as pesquisas na busca de outros tipos de herbicidas, mais específicos e menos prejudiciais do que aqueles em uso atualmente (An & Pratley, 2005; Souza Filho et al., 2005).

Compostos diversificados quimicamente com propriedades alelopáticas são encontrados nas plantas superiores em quantidade e composição variadas em função da espécie prospectada (Putnam, 1985) e da fração da planta estudada (Kholdebarin & Oertli, 1992; Jung et al., 2004). Diferenças quanto ao potencial fitotóxico são observadas, também, entre espécies de diferentes gêneros e espécies do mesmo gênero (Paulino et al., 1987; Bansal et al., 1992). Para espécies arbóreas, como é o caso de *Acacia mangium*, vários trabalhos de pesquisas foram desenvolvidos em passado recente com o objetivo de identificar atividade alelopática (Heisey & Heisey, 2003; Morita et al., 2005; Lobo et al., 2008). A identificação dos compostos químicos envolvidos na atividade alelopática das plantas representa importante passo no entendimento do papel ecológico que elas desempenham na dinâmica das plantas nos mais variados tipos de agrossistemas.

Acacia mangium é uma leguminosa originária da Austrália e da Malásia, conhecida popularmente pelo nome de acácia-australiana, que se adaptou muito bem às condições de solo e clima tropical brasileiro. De desenvolvimento bastante rápido, podendo atingir até 15 m de altura, é a espécie florestal mais plantada no mundo. Pelo fato de ter potencial para fixar o nitrogênio do ar, é vislumbrada a possibilidade de compor sistemas agrossilvopastoris. É considerada uma espécie infestante, com tendência a dominar as áreas onde é cultivada, formando verdadeiras colônias puras. Em razão desse aspecto, levantou-se a hipótese de que essa característica poderia estar associada à atividade alelopática da planta, além, naturalmente, do fator alelopolia.

Recentemente, relatos sobre a atividade alelopática foram apresentados para diversas espécies do gênero *Acacia* (Ohno et al., 2001). Gonzales et al. (1995), em estudo com *Acacia melanoxylon*, e Reigosa et al. (1984), com estudo envolvendo *A. dealbata*, encontraram efeitos alelopáticos inibitórios marcantes sobre a germinação de sementes e o crescimento de diferentes espécies de plantas. Saffan & Salama (2005) atribuíram os efeitos alelopáticos do extrato aquoso de folhas de *A. raddiana* à presença de compostos fenólicos e flavonoides – ambos já relatados amplamente como implicados em atividades alelopáticas.

Os objetivos deste trabalho foram isolar, identificar e caracterizar a atividade alelopática de substâncias químicas produzidas por *Acacia mangium*, além de determinar as variações na atividade das substâncias em função da variação do pH da solução.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo do material vegetal

Diferentes frações de planta de *Acacia mangium* (Willd.) foram coletadas na área da Embrapa Amazônia Oriental, no município de Belém, Estado do Pará. Coletaram-se folhas (pecíolo alado e filídeos) verdes, folhas secas caídas no solo e raízes. Por ocasião da coleta, as plantas não estavam florando ou produzindo sementes; dessa forma, as sementes foram

obtidas de produtores do município de Bragança, Estado do Pará. As frações foram secas em estufa de circulação forçada de ar, a 40 °C de temperatura até peso constante. Posteriormente, processou-se a trituração em moinho tipo Wiley, obtendo-se 830 g de folhas verdes, 750 g de folhas secas, 560 g de raízes e 660 g de sementes.

Isolamento e identificação das substâncias químicas

O processo de isolamento das substâncias envolveu duas fases distintas: extração exaustiva e seletiva. Na extração exaustiva, utilizou-se solução hidroalcoólica (etanol/H₂O), na proporção de 7:3, empregando no total 9,0 litros da solução, com extração realizada por cinco dias. Após a extração, a solução foi concentrada em evaporador rotativo; processou-se, em seguida, a liofilização, obtendo-se 11,0 g de folhas caídas, 15 g de folhas verdes, 12 g de raízes e 13,5 g de sementes. A definição da fração da planta a ser utilizada no processo de isolamento de aleloquímicos obedeceu aos resultados dos testes realizados sobre a germinação de sementes da planta daninha malícia (*Mimosa pudica*), cujos resultados indicaram maior atividade alelopática das folhas secas caídas (Figura 1).

Dez gramas do material liofilizado (folhas secas caídas) foram submetidos à cromatografia em coluna por via úmida (CCVU), utilizando-se, como adsorvente, sílica-gel e, como eluentes, sequencialmente, solventes em polaridade crescente, partindo-se do hexano, passando pelo acetato de etila e metanol, em diferentes combinações de hexano/acetato de etila e acetato de etila/metanol. O resultado desse processo possibilitou a obtenção de 86 alíquotas de 100 mL cada, as quais, por cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC) e por Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H) (CDCl₃, 300 MHz), foram agrupadas em 26 frações, das quais oito foram submetidas à análise por CCDC, que permitiu a seleção das frações 3 e 7, que posteriormente foram analisadas por RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) e Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT), para elucidação estrutural.

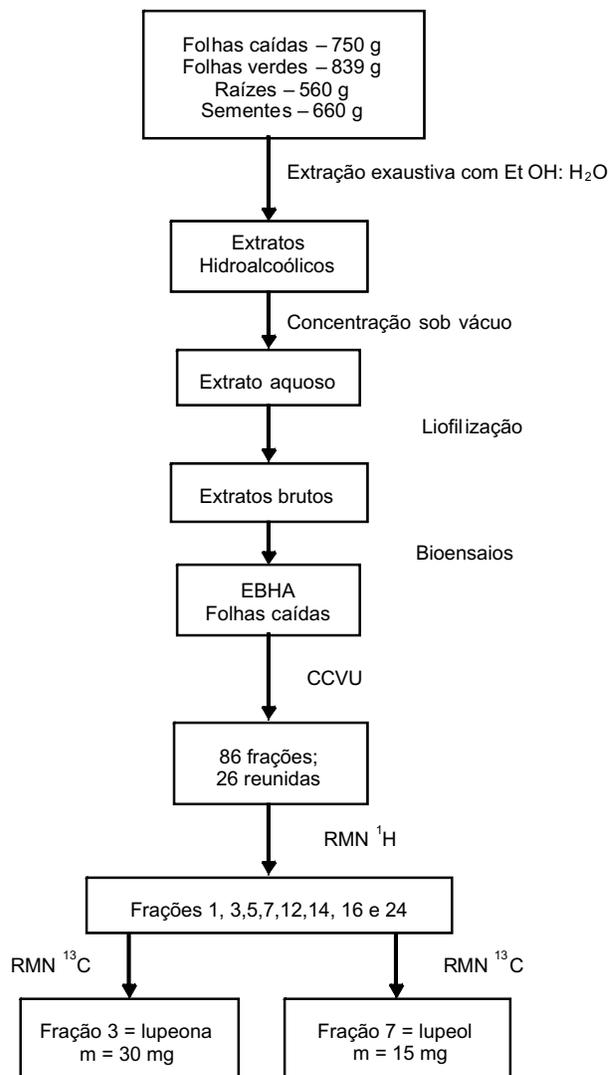


Figura 1 - Fluxograma sintético do processo de isolamento das duas substâncias.

Análise da atividade alelopática

A análise da atividade alelopática das substâncias foi realizada em dois experimentos distintos. No primeiro, foram investigados os efeitos das substâncias isoladamente e em par sobre a germinação e o desenvolvimento de radícula e hipocótilo das plantas daninhas malícia (*Mimosa pudica*) e mata-pasto (*Senna obtusifolia*); no segundo, avaliou-se a interferência do pH da solução na atividade alelopática das substâncias apenas sobre a germinação das sementes da espécie malícia, por causa da pouca quantidade de massa



das substâncias. Em ambos os experimentos, as substâncias químicas foram testadas em concentração de 140 ppm, tendo como solvente o clorofórmio.

A germinação foi monitorada em período de 10 dias, com contagens diárias e eliminação das sementes germinadas. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentavam extensão radicular igual ou superior a 2,00 mm (Duran & Tortosa, 1985). Os bioensaios foram desenvolvidos em condições controladas: 25 °C de temperatura constante e fotoperíodo de 12 horas para a germinação de sementes e 25 °C de temperatura constante e fotoperíodo de 24 horas para o bioensaio de desenvolvimento da radícula e do hipocótilo. No bioensaio de germinação de sementes, cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro, forrada com uma folha de papel-filtro qualitativo, recebeu 25 sementes previamente tratadas, para a quebra de dormência (Souza Filho et al., 1998a). Nos bioensaios de crescimento da radícula e do hipocótilo, cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro forrada com uma folha de papel-filtro qualitativo recebeu três sementes pré-germinadas; no final de 10 dias de crescimento, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo.

No experimento de avaliação dos efeitos de pH, foram preparadas soluções com pH 3,0 e 9,0, utilizando-se ácido clorídrico (HCl) para baixar o pH e hidróxido de potássio (KOH) para elevá-lo. As substâncias foram testadas na concentração de 140 ppm. Nesse caso, os efeitos foram analisados apenas sobre a germinação das sementes de malícia, pois não havia solução suficiente para outros testes. O bioensaio foi semelhante aos descritos para o primeiro experimento.

Em todos os bioensaios, cada placa de Petri recebeu 3,0 mL da solução-teste. As soluções foram adicionadas apenas uma vez, no início de cada bioensaio, sendo, a partir de então, adicionada apenas água destilada, sempre que necessário, para manter a concentração inicial. Especificamente para o bioensaio em que foram analisados os efeitos do pH, em vez de água destilada, adicionou-se solução aquosa de pH correspondente, sempre que necessário.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental para todos os bioensaios foi o inteiramente casualizado, com três repetições, tendo como testemunha a água destilada. Os dados foram analisados pelo teste F, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na análise dos dados, utilizou-se o programa SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Substâncias químicas isoladas e identificadas

O fluxograma sintético dos processos que permitiram o isolamento das substâncias das frações 3 e 7 é apresentado na Figura 1. Os dados de RMN ¹H das frações 3 (δ_H 4,69; 4,56; 1,69 e sinais 1,53 – 0,76) e 7 (δ_H 4,66; 4,54; 2,40; 1,65 e sinais entre 1,04 e 0,76) são compatíveis, respectivamente, com aqueles dos triterpenoides lupenona (3-oxolup-20(29)-eno) e lupeol (3 β -hidroxilup-20(29)-eno), cujas estruturas encontram-se na Figura 2. Adicionalmente, a comparação dos dados de RMN ¹³C das duas substâncias isoladas com os dados da literatura (Ahmad & Atta-ur-Rahman, 1994) confirma a identificação estrutural (Tabela 1).

Dixon & Sumner (2003) afirmaram que todas as classes conhecidas de terpenoides foram notificadas em leguminosas e se constituem no segundo maior grupo (depois dos fenólicos) de metabólitos secundários implicados na alelopatia (Inderjit et al., 1999). Os arbustos de deserto do gênero *Acacia*, por exemplo, contêm saponinas triterpênicas, que protegem as sementes dos predadores. Esses compostos, formados pelo ácido acácico conjugado com sete açúcares e dois monoterpenos lineares, foram testados como agentes anticancerígenos, pela habilidade em induzir a detenção do ciclo celular dos mamíferos (Felipe & Pozuelo, 2006). Recentemente, em espécies do gênero *Acacia*, foram isoladas 14 substâncias de folhas caídas de *Acacia pennatula* (espécie usada na medicina tradicional mexicana no tratamento de câncer), entre elas lupenona

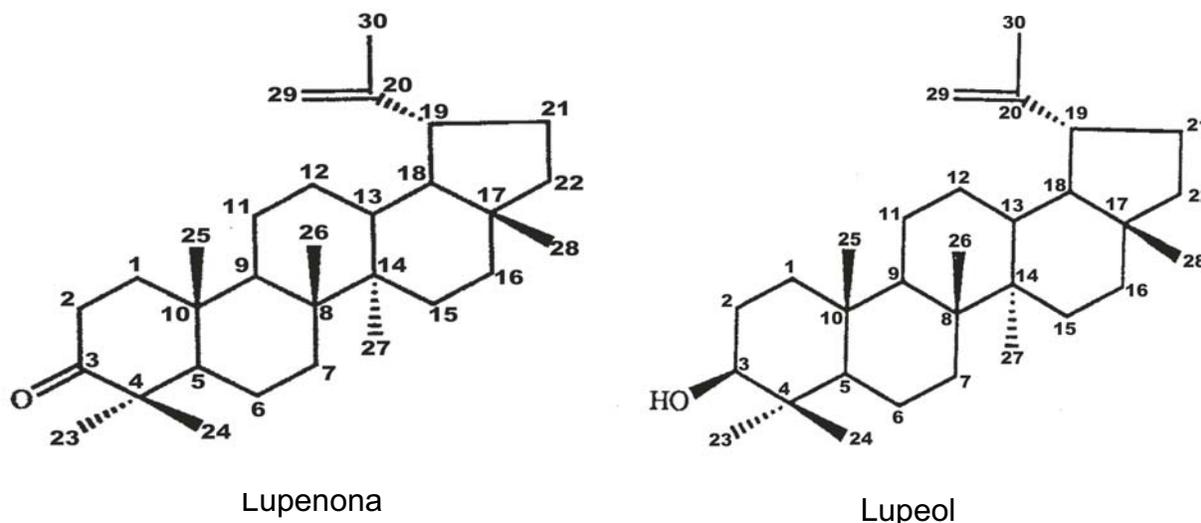


Figura 2 - Estruturas dos triterpenoides lupenona e lupeol.

Tabela 1 - Dados de RMN ^{13}C (δ_{C} , CDCl_3 , 75 MHz) de lupenona e lupeol* comparados com dados da literatura (Ahmad & Atta-ur-Rahman, 1994)

Carbono	Lupenona		Lupeol	
	experimental	literatura	experimental	literatura
1	39,5	39,6	38,6	38,6
2	34,1	34,1	28,3	27,3
3	218,5	217,9	79,0	78,9
4	47,3	47,3	38,8	38,8
5	54,8	55,0	55,2	55,2
6	19,6	19,6	18,3	18,2
7	33,5	33,6	34,2	34,2
8	40,7	40,9	40,8	40,7
9	49,7	49,8	50,4	50,3
10	36,8	36,9	37,1	37,1
11	21,4	21,5	20,9	20,9
12	25,1	25,2	24,8	25,0
13	38,1	38,2	38,0	38,0
14	42,9	42,9	42,8	42,7
15	27,4	27,4	27,3	27,4
16	35,4	35,6	35,5	35,5
17	42,9	42,9	43,0	42,9
18	48,2	48,3	48,2	48,2
19	47,9	47,9	48	47,9
20	150,8	150,7	150,9	150,8
21	29,8	29,9	29,8	29,8
22	39,9	40,0	40,0	39,9
23	26,6	26,6	27,9	27,9
24	21,0	21,0	15,4	15,3
25	15,7	15,8	16,1	16,1
26	15,9	15,9	15,9	15,9
27	14,4	14,4	14,5	14,5
28	17,9	18,0	18,0	17,9
29	109,3	109,2	109,3	109,3
30	19,3	19,3	19,3	19,2

* As multiplicidades dos sinais de carbono foram obtidas com base nos experimentos de DEPT.

e lupeol, as quais foram, também, anteriormente isoladas de outras plantas de *Acacia*, mostrando que as espécies desse gênero têm características químicas semelhantes (Rios, 2005).

Análise da atividade alelopática

Na concentração testada (140 ppm), os efeitos promovidos pelas substâncias lupenona e lupeol, sobre a germinação das sementes de mata-pasto e malícia, não diferiram significativamente ($p > 0,05$), e a intensidade dos efeitos inibitórios foi extremamente baixa, não ultrapassando o valor de 2,0%. Ausência de efeitos foi observada para as duas substâncias testadas tanto isoladamente quanto em par (Tabela 2). Esses efeitos, quando comparados aos apresentados na Figura 3, mostram diferenças muito grandes no tocante aos efeitos inibitórios promovidos pelo extrato de folhas secas caídas e pelas substâncias, o que indica que outras substâncias, que não a lupenona ou o lupeol, estejam envolvidas naqueles efeitos, isoladamente ou em associação, o que revela a necessidade de se dar continuidade ao processo de isolamento e identificação, tendo em vista a intensidade dos efeitos dos extratos brutos.

Os efeitos inibitórios produzidos sobre o crescimento da radícula (Tabela 3) foram de

Tabela 2 - Efeitos alelopáticos das substâncias lupenona e lupeol, isoladas e combinadas, sobre a germinação de sementes de duas plantas daninhas. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha - água destilada

Planta receptora	Substância		
	Lupenona	Lupeol	Lupenona+Lupeol
Malícia	2,0Aa	1,0Aa	2,0Aa
Mata-pasto	1,0Aa	1,0Aa	1,0Aa

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem pelo teste de Tukey (5%).

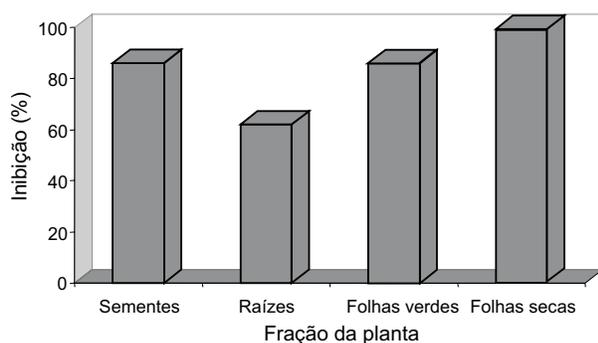


Figura 3 - Análise comparativa dos efeitos potencialmente alelopáticos de diferentes partes de *A. mangium* sobre a germinação de sementes da planta daninha malícia. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha - água destilada.

maior expressão do que os obtidos no bioensaio de germinação de sementes (Tabela 2), com variações expressivas tanto entre as substâncias como entre as espécies de plantas daninhas utilizadas como receptoras. Isoladamente, lupenona apresentou maior potencial para inibir o crescimento da radícula das duas espécies receptoras, embora essa superioridade não correspondesse a diferenças estatísticas ($p > 0,05$). Lupeol revelou baixo potencial alelopático e, quando aplicados em conjunto, lupeol e lupenona apresentaram potencial inibitório inferior ao das duas substâncias aplicadas isoladamente, especialmente em relação à substância lupenona, indicando que muito provavelmente haja incompatibilidade no uso dessas duas substâncias conjuntamente. Particularmente em relação aos efeitos sobre as duas espécies receptoras, não houve diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre as substâncias quando testadas isoladamente,

porém o crescimento da radícula de mata-pasto foi mais sensível aos efeitos alelopáticos das duas substâncias testadas em par (Tabela 3). Os dados da Tabela 4 apontam para a ausência de diferenças estatísticas ($p > 0,05$) para os efeitos das substâncias testadas tanto isoladamente como em par sobre o crescimento do hipocótilo, ficando os valores em torno de 15%, sendo semelhantes aos resultados encontrados por Lôbo et al. (2008), os quais testaram a ação inibitória do triterpenoide pentacíclico epicatequina, na concentração de 15 mg L^{-1} , e obtiveram percentual de inibição sobre a malícia inferior a 20%.

Os terpenoides constituem importante classe de compostos envolvidos em diferentes tipos de atividades biológicas; os monoterpenos e sesquiterpenos são os terpenoides mais envolvidos em alelopatia (Abraham et al., 2000). Embora muitos estudos relacionem triterpenoides com fortes atividades alelopáticas (Lotina-Hensenet al., 1992; Fischer et al., 1994), outros apresentam essa classe de compostos com pouca atividade inibitória. Macías et al. (1997), por exemplo, isolaram e identificaram 11 triterpenos de frações bioativas da parte aérea de *Melilotus messanensis* e, à semelhança das respostas encontradas neste trabalho, constataram que o efeito global dos triterpenos sobre *Lactuca sativa*, nos parâmetros germinação e desenvolvimento inicial, foi abaixo de 10% de inibição. Santos et al. (2008) observaram também baixa atividade alelopática de dois triterpenos pentacíclicos (fridolina e epifridelinol) sobre germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas das espécies malícia e mata-pasto.

Tabela 3 - Efeitos alelopáticos das substâncias lupenona e lupeol, isoladas e combinadas, sobre o crescimento da radícula de duas plantas daninhas. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha - água destilada

Planta receptora	Substância		
	Lupenona	Lupeol	Lupenona+Lupeol
Malícia	42,8 ± 3,6Aa	36,4 ± 4,5Aa	27,4 ± 1,8Bb
Mata-pasto	42,7 ± 9,3Aa	41,3 ± 6,5Aa	35,5 ± 2,9Aa

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem pelo teste de Tukey (5%).

Em estudo de testes de atividade alelopática de substâncias químicas, variações nas intensidades dos efeitos são observadas como dependentes da concentração e da sensibilidade relativa das espécies utilizadas como receptoras. Assim, esperam-se efeitos positivamente relacionados à concentração; da mesma forma, efeitos mais intensos são observados quando do uso de espécies mais sensíveis. Essas condicionantes determinam, em última instância, se o aleloquímico testado apresentará ou não efeitos alelopáticos de alta intensidade. Assim, as diferenças observadas entre os resultados obtidos neste trabalho e aqueles em que altas intensidades foram registradas podem ser atribuídas a esses fatores.

Em muitos estudos de atividade alelopática de substâncias químicas, opta-se por avaliar os efeitos das substâncias isoladamente e em par. A hipótese levantada, nesse caso, é a de que, se os efeitos promovidos pelas substâncias isoladamente forem inferiores aos promovidos pelas substâncias testadas em par, então haveria antagonismo entre as substâncias; caso contrário, haveria sinergismo. Os trabalhos de Vokou et al. (2003), Einhellig (1995) e Weidenhamer et al. (1994) são bons exemplos dessa abordagem. Existem na literatura algumas informações dando conta da existência de sinergismo como resultado da ação combinatória de diferentes aleloquímicos (Kubo et al., 1992; Macias et al., 1997). No presente trabalho, foram observadas reduções na atividade das substâncias testadas em par, em relação aos efeitos isolados, o que pode, em tese, ser apontado com antagonismo entre as substâncias lupeol e lupenona.

Tabela 4 - Efeitos alelopáticos das substâncias lupenona e lupeol, isoladas e combinadas, sobre o crescimento do hipocótilo de duas plantas daninhas. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha – água destilada

Planta receptora	Substância		
	Lupenona	Lupeol	Lupenona+ Lupeol
Malícia	16,7 ± 0,9Aa	16,6 ± 1,3Aa	15,6 ± 0,9Aa
Mata-pasto	17,3 ± 9,1Aa	15,5 ± 5,5Aa	12,3 ± 6,1Aa

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem pelo teste de Tukey (5%).



Efeito do pH na atividade alelopática das substâncias

Houve interação dos fatores pH e substâncias químicas para o fator germinação pela análise de variância (teste F), e o desdobramento da interação é apresentado na Tabela 5. Os dados mostram efeitos expressivos do pH na atividade das duas substâncias, com variações para ambas. Individualmente, lupenona apresentou maior atividade alelopática em condições ácidas (pH = 3,0), enquanto lupeol mostrou maior atividade em condições alcalinas (pH = 9,0). Na análise comparativa para as duas substâncias aplicadas em par, o pH não se mostrou fator determinante. Quando se analisam as variações dentro de cada pH, observa-se que, em condições ácidas, lupenona, isoladamente ou em associação com lupeol, apresenta atividade alelopática inibitória superior à do lupeol, enquanto com pH alcalino o lupeol, isoladamente ou em par com lupenona, é superior à lupenona. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al. (2008), em trabalho envolvendo o estudo com os triterpenoides fridolina e epifridinol, no qual a primeira substância, em pH 9,0, se mostrou mais ativa isoladamente e em par do que a segunda isoladamente.

Aparentemente, em condições de solos ácidos, como é o caso dos solos tropicais da Amazônia, especialmente, a tendência é de que lupenona apresente melhor desempenho em termos de alelopátia inibitória e, para solos alcalinos, os efeitos alelopáticos inibitórios de lupeol sejam beneficiados.

Tabela 5 - Efeitos potencialmente alelopáticos das substâncias lupenona e lupeol, isoladas e em par, sobre a germinação da planta daninha malícia, em função do pH da solução. Dados expressos em percentual de germinação

pH	Substância		
	Lupenona	Lupeol	Lupenona+ Lupeol
pH 3	68,0 ± 2,9 Bb	74,7 ± 3,6 Aa	68,9 ± 3,1 Ab
pH 9	78,5 ± 3,8 Aa	68,0 ± 2,9 Bb	68,0 ± 3,0 Ab

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem pelo teste de Tukey (5%).

As pesquisas envolvendo os efeitos do pH na atividade alelopática de um dado aleloquímico, isoladamente ou em associação com outro, são extremamente limitadas. Um dos poucos exemplos encontrados foi o trabalho de Harper & Balke (1981), no qual os autores observaram efeitos expressivos do pH na atividade do ácido salicílico.

O pH tem sido considerado um fator que pode afetar a germinação de sementes de diferentes espécies de plantas, sobretudo em condições de extrema acidez ou alcalinidade (Batra & Kuma, 1993). Especificamente para as plantas daninhas estudadas neste trabalho, malícia e mata-pasto, Souza Filho et al. (1998b, 2001) não encontraram variações na germinação de sementes em função da variação do pH, na faixa de 3,0 a 11,0. Ao considerar esses aspectos, e tendo em vista que o pH, neste trabalho, foi de 3,0 e 9,0, as variações observadas nos efeitos alelopáticos das substâncias lupenona e lupeol não se devem aos efeitos do pH e sim à provável associação a alguma especificidade entre as substâncias e o pH do meio. Essas informações permitem concluir quanto à possibilidade de usar o pH como fator de potencialidade da atividade alelopática de substâncias químicas.

LITERATURA CITADA

- ABRAHIM, D. et al. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth and mitochondrial respiration of maize. **J. Chem. Ecol.**, v. 6, n. 3, p. 611-624, 2000.
- AHMAD, V. U.; ATTA-UR-RAHMAN. **Handbook of natural products data**. Pentacyclic triterpenoids. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. v. 2, p. 1029-1039.
- AN, M.; PRATLEY, J. **Searching native Australian plants for natural herbicides - a case study**. In: WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY, 4., 2005. Disponível em: <http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/7/2727_anm.htm#TopOfPage>. Acesso em: 12 jan. 2009.
- BANSAL, G. L.; NAYYAR, H.; BEDY, Y. S. Allelopathic effects of *Eucalyptus macrorrhyncha* and *E. youmanii* on seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*) and radish (*Raphanus sativum*). **Indian J. Agric. Sci.**, v. 62, n. 11, p. 771-772, 1992.
- BATRA, L.; KUMAR, A. Effects of alkalinity on germination, growth and nitrogen content of whistling (*Casuarina equisetifolia*) and bufwood (*C. galuca*). **Indian J. Agric. Sci.**, v. 63, n. 7, p. 412-416, 1993.
- DIXON, R. A.; SUMNER, L. W. Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. **Plant Physiol.**, v. 131, n. 6, p. 878-885, 2003.
- DURAN, R. D.; TORTOSA, M. E. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charclock (*Sinapsis arvensis* L.) seeds. **Seed Sci. Technol.**, v. 13, n. 1, p. 155-163, 1985.
- EINHELLIG, F. A. Allelopathy current status and future goals. In: INDERJIT DAKISHINI, K. M. M.; EINHELLIG, F. A. **Allelopathy: organisms, processes and applications**. Washington: 1995. p. 1-24. (ACS. Symposium Series).
- FELIPE, M. R.; POZUELO, M. J. Las leguminosas: su valor nutritivo, medicinal y ecológico. **Schironia: R. Cient. Colegio Oficial Farmac. Madrid**, n. 5, p. 50-57, 2006.
- FISCHER, N. H. et al. In research of allelopathy in the Florida scrubs: the role of terpenoids. **J. Chem. Ecol.**, v. 20, n. 6, p. 1355-1358, 1994.
- GONZALES, L.; SOUTO, X. C.; REIGOSA, M. J. Allelopathic effects of *Acacia melanoxylon* R. Br. phyloides during their decomposition. **For. Ecol. Manag.**, v. 77, n. 1-3, p. 53-63, 1995.
- HEISEY, R. M.; HEISEY, T. K. Herbicidal effects under field conditions of *Ailanthus altissima* bark extract which contains ailanthone. **Plant Soil**, v. 83, n. 2, p. 85-99, 2003.
- HARPER, J. R.; BALKE, N. E. Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oat roots by salicylic acid. **Plant Physiol.**, v. 68, n. 6, p. 1349-1353, 1981.
- INDERJIT DAKISHINI, K. M. M.; KEATING, K. I. **Allelopathy: principles, procedures, processes, and promises for biological control**. New York: Academic Press, 1999. v. 67. 458 p.
- JUNG, W. S. et al. Allelopathic potential of rice (*Oryza sativa* L.) residues against *Echinochloa crus-galli*. **Crop Protec.**, v. 23, n. 3, p. 211-218, 2004.
- KHOLDERBARIN, B.; OERTLI, J. J. Allelopathic extracts of plant seeds on nitrification: effects on ammonium oxidizers. **Soil Biol. Biochem.**, v. 24, n. 1, p. 59-64, 1992.
- KUBO, L.; MUROI, H.; HIMEJINA, M. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, n. 2, p. 245-248, 1992.
- LÔBO, L. T. et al. Potencial alelopático de catequinas de *Tachigali myrmecophyla* (LEGUMINOSAE). **Quimica Nova**, v. 31, n. 3, p. 493-497, 2008.



- LOTINA-HENSEN, B. et al. Inhibition of oxygen evolution by Zaluzanin-C. **J. Chem. Ecol.**, v. 18, n. 11, p. 1891-1990, 1992.
- MACIAS, F. A.; SIMONET, A. M.; GALINDO, J. C. G. Bioactive steroids and triterpenes from *Melilotus messanensis* and their allelopathic potential. **J. Chem. Ecol.**, v. 23, n. 7, p. 376-382 1997.
- MORITA, S.; ITO, M.; HARADA, J. Screening of an allelopathic potential in arbor species. **Weed Biol. Manag.**, v. 5, n. 1, p. 26-30, 2005.
- OHNO, S. et al. A species selective allelopathic substance from germinating sunflower (*Heliantus annuus L.*) seeds. **Phytochemistry**, v. 56, n. 6, p. 577-581, 2001.
- PAULINO, V. T. et al. Efeitos alelopáticos do *Eucaliptus* no desenvolvimento de forrageiras. **R. Agric.**, v. 62, n. 1, p. 17-35, 1987.
- PUTNAM, A. R. Weed allelopathy. In: DUKE, S.O. (Ed.). **Weed physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1985. p. 131-155.
- REIGOSA, M. J.; CASAL, J. F.; CARBALLEIRA, A. Efectos alelopáticos de *Acacia dealbata* durante su floración. **Studia Oecol.**, v. 5, n. 3, p. 135-150, 1984.
- RIOS, M. Y. Terpenes, coumarins and favones from *Acacia pennatula*. **Chem. Natural Comp.**, v. 41, n. 33, p. 297-298, 2005.
- SAFFAN, S. E.; SALAMA, H. M. Influence of allelopathic of *Acacia raddana* leaf extract on germination and some metabolites seedling of lupine termis. **Egyptian J. Biotechnol.**, v. 21, n. 4, p. 32-43, 2005.
- SANTOS, L. S. et al. Atividade alelopática de substâncias químicas isoladas do capim-marandu e suas variações em função do pH. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 531-538, 2008.
- SAS – INSTITUTE. Statistical Analysis System. **User's guide**. Version 6.4. ed. Cary: 1989. 846 p.
- SOUZA FILHO, A. P. S. et al. Germinação de sementes de plantas daninhas de pastagens cultivadas: *Mimosa pudica* e *Ipomoea asarifolia*. **Planta Daninha**, v. 19, n. 1, p. 23-31, 2001.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; DUTRA, S.; SILVA, M. A. M. M. Métodos de superação da dormência de sementes de plantas daninhas de pastagens cultivadas da Amazônia. **Planta Daninha**, v. 16, n. 1, p. 2-11, 1998a.
- SOUZA FILHO, A. P. S. et al. Efeitos de diferentes substratos e da profundidade de semeadura da germinação de sementes de mata-pasto e malva. **Planta Daninha**, v. 16, n. 1, p. 67-74, 1998b.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; FONSECA, M. L.; ARRUDA, M. S. P. Substâncias químicas com atividade alelopática presentes nas folhas de *Parkia pendula* (Leguminosae). **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 565-573, 2005.
- VOKOU, D. et al. Effects of monoterpenoids acting alone or in pairs, on seed germination and subsequeute seedling growth. **J. Chem. Ecol.**, v. 29, n. 10, p. 2281-2301, 2003.
- WEIDENHAMER, J.D. et al. Allelopathic potential of menthofuran monoterpenes from *Calamuntha ashei*. **J. Chem. Ecol.**, v. 20, n. 7, p. 3345-3359, 1994.

