

# ATIVIDADE FITOTÓXICA E FUNGITÓXICA DE EXTRATOS DE *Vouacapoua cf americana* Aublet (Leg.-Caesalp.), ESSÊNCIA FLORESTAL NATIVA DA AMAZÔNIA <sup>1</sup>

Nádia Elígia Nunes Pinto PARACAMPO<sup>2</sup>

Adolfo Henrique MULLER<sup>3</sup>

Sérgio de Mello ALVES<sup>4</sup>

Antônio Pedro da Silva SOUZA FILHO<sup>5</sup>

Giselle Maria Skelding Pinheiro GUILHON<sup>6</sup>

Mara Silvia Pinheiro ARRUDA<sup>6</sup>

Lourivaldo da Silva SANTOS<sup>7</sup>

Alberto Cardoso ARRUDA<sup>7</sup>

**RESUMO:** Embora seja reconhecida a resistência do acapu a micro-organismos, soluções a 1% (m/v) de extratos de cascas não apresentam especificidades sobre *Fusarium solani* f. sp. *piperis* Albuquerque, *Fusarium oxysporum* Shel. e *Colletotrichum* agroflorestais e tem sido investigada como potencial fonte de biodefensivos agrícolas. Com base nisso, objetiva-se com o presente trabalho avaliar a atividade fitotóxica e fungitóxica de extratos da casca de acapu obtidos mediante extração seletiva a frio e a quente, com solventes em ordem crescente de polaridade. Alíquotas dos extratos brutos *n*-hexânico e acetato de etila foram submetidas à cromatografia líquida a vácuo em coluna de silicagel, utilizando como eluentes solventes orgânicos e suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Não se observou especificidade dos extratos brutos analisados em concentração de 1,0% sobre as espécies de fungos fitopatogênicos testadas: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Contudo, utilizando-se esses mesmos extratos, verificou-se redução de até 44,68% na germinação de sementes da planta daninha malícia (*Mimosa pudica*), com reduções superiores para todos os extratos obtidos a frio. Foi observado que a fitotoxicidade do extrato bruto aquoso deveu-se à alta concentração de íons Na, promovida por estresse salino. Nos bioensaios com frações do extrato bruto *n*-hexânico em concentração de 0,2% e do extrato bruto acetato de etila em concentração de 1,0%, notou-se a inibição da germinação de sementes de malícia em até 41,67% e 33,33%, respectivamente. A partir dos resultados para avaliação da fitotoxicidade, concluiu-se que os extratos e frações são constituídos por fitotoxina(s) relativamente polar(es).

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Germinação, Salinidade, Leguminosas, Biodefensivos Agrícolas.

<sup>1</sup> Aprovado em 28.08.09 para publicação.

<sup>2</sup> Engenheira Química, M.Sc., Analista da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, 66095-100, Belém (PA). E-mail: nadia@cpatu.embrapa.br.

<sup>3</sup> Químico Industrial, D.Sc., Professor do Centro Universitário do Pará, 66035-170, Belém (PA).

<sup>4</sup> Químico Industrial, M.Sc.

<sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, 66095-100, Belém (PA).

<sup>6</sup> Química Industrial, D.Sc., Professora Adjunta da UFPA/ CCEN, 66075-110, Belém (PA).

<sup>7</sup> Químico Industrial, D.Sc., Professor Adjunto da UFPA/ CCEN, 66075-110, Belém (PA).

## PHYTOTOXIC AND FUNGITOXIC ACTIVITY IN *Vouacapoua cf americana* Aublet (Leg.-Caesalp.) EXTRACTS, NATIVE SPECIES OF THE AMAZON

**ABSTRACT:** The acapu (*Vouacapoua cf American* Aublet) (Leg.-Caesalp.) is a tree of high commercial value that has not been used in agroforestry and has been investigated as a potential source for agricultural biodefensive substances. The objective of this study was to evaluate the phytotoxic and fungitoxic effects of extracts from the acapu's bark obtained by selective extraction at room temperature and higher, with solvents in ascending order of polarity. Aliquots of *n*-hexane and ethyl acetate crude extracts were submitted to vacuum liquid chromatography on silica gel using eluents as solvents and their binary mixtures in ascending order of polarity. It was observed that the crude extracts analyzed at a concentration of 1.0% were not specific for the species of pathogenic fungi tested: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. However, using these same extracts, there was a reduction of up to 44.68% in the germination of malice (*Mimosa pudica*), with higher reductions for all extracts obtained at room temperature. It was observed that the phytotoxicity of aqueous crude extract occurred due to a high concentration of ions Na, promoted by saline stress. In bioassays with fractions of *n*-hexane crude extract in a concentration of 0.2% and fractions of ethyl acetate crude extract in a concentration of 1.0%, the inhibition of malice germination in up to 41.67% and 33.33%, respectively, was identified. Based on the results that evaluated phytotoxicity, it was concluded that the extracts and fractions are composed of polar phytotoxin(s).

**INDEX TERMS:** Germination, Salinity, Legumes, Agricultural Biodefense.

### 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, na chamada agricultura moderna, em que altas produtividades são almejadas, há grande demanda pelo uso de agroquímicos, os quais são produzidos de fontes de energia fósseis, tais como fertilizantes, corretivos e, principalmente, os defensivos agrícolas: herbicidas, fungicidas, inseticidas, nematicidas e outros. A partir de 1960, esse padrão agrícola foi difundido num processo conhecido como Revolução Verde.

No Brasil, o consumo anual de agrotóxicos tem sido superior a 300 mil toneladas de produtos comerciais. Expressas em quantidade de ingrediente-ativo, são consumidas anualmente no país cerca de 130 mil toneladas, representando um aumento no

consumo de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% nesse período (SPADOTTO, 2006). Todavia, as exigências governamentais para o controle dos resíduos de agrotóxicos em produtos agrícolas vêm atraindo cada vez mais o interesse mundial à utilização da biodiversidade como matéria-prima para a identificação de novos produtos que se enquadrem nas atuais exigências da sociedade.

Para a sustentabilidade da agricultura, torna-se imprescindível o avanço em alternativas que reduzam ou inibam os prejuízos das práticas modernas, obtendo alimentos isentos de agentes tóxicos (SOUZA FILHO; ALVES, 1998).

Assim, a literatura tem registrado a eficiência de diversos extratos vegetais em

promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (WILSON et al., 1997; KURITA et al., 1981<sup>8</sup> apud RIBEIRO; BEDENDO, 1999), como, por exemplo, *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causador da antracnose, que é apontada como a principal doença de pós-colheita de muitas frutíferas, reduzindo o valor comercial dos frutos (REZENDE; FANCELLI, 1997<sup>9</sup> apud RIBEIRO; BEDENDO, 1999); bem como *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum*, outros importantes fitopatógenos que provocam doenças no homem e se apresentam com maior frequência, causando danos a sementes de cereais e outros frutos do campo, antes e depois da colheita (GODOY; COLOMBO, 2004).

Dentre os extratos mais pesquisados, o efeito inibitório do extrato de alho (*Allium sativum* L.) tem sido demonstrado para diversas espécies de fungos patogênicos de pós-colheita e também patógenos foliares e de solo. Além do alho, extratos originários de hortelã (*Mentha piperita* L.), pimenta (*Capsicum* spp), mamona (*Ricinus communis* L.), açafrão (*Curcuma longa* L.), coração de negro (*Albizzia lebbek* Benth) e cravo-da-índia (*Sizygium aromaticum*) também possuem propriedades antifúngicas (RIBEIRO; BEDENDO, 1999; AMARAL; BARA, 2005).

Da mesma forma, a literatura tem relatado estudos sobre alelopatia, ou seja, interações químicas entre plantas e ervas daninhas, que disputam luz, água, nutriente(s) e espaço físico com as culturas, causando perdas tanto à produção de alimentos como à de animais (SOUZA FILHO; ALVES, 1998).

A utilização de espécies arbóreas com essas propriedades assume aspectos

ecológicos e ambientais importantes, em face da possibilidade das substâncias químicas produzidas (aleloquímicos) serem liberadas para o ambiente pelas diferentes formas reconhecidas pela ciência, como lixiviação, exsudação radicular, volatilização e decomposição (SOUZA FILHO; ALVES, 1998. Deste modo, foram isolados e identificados, a partir de folhas de *Parkia pendula* (Leg.), os seguintes aleloquímicos: ácido 3, 4, 5-trimetoxibenzoico, ácido 3,4-dimetoxibenzoico e blumenol A, com efeitos inibitórios sobre sementes das espécies invasoras malícia (*Mimosa pudica* Mill.) e mata-pasto (*Senna obtusifolia* L.), positivamente associados à concentração das substâncias (SOUZA FILHO; FONSECA; ARRUDA, 2005).

Também, extratos brutos de folhas de *Tachigali myrmecophyla* (Leg.-Pap.) e suas frações foram analisados em concentração de 1,0 e 0,5%. E mediante isolamento, identificou-se a substância 4,5-diidroblumenol A, que apresentou os efeitos alelopáticos mais intensos observados na concentração de 20 mg.L<sup>-1</sup>, com maior magnitude na espécie malícia (SOUZA FILHO; LÔBO; ARRUDA, 2005).

Considerando que o Brasil possui uma expressiva biodiversidade, com 55.000 espécies de plantas superiores estimadas ou 22% do total mundial (GENAMAZ, 1999), o acapu (*Vouacapoua cf americana* Aublet), essência florestal nativa da Amazônia e que ainda não foi utilizada em sistemas agroflorestais, surge como fonte potencial para agentes alelopáticos (GONDIM, 1982; SOUZA FILHO; ALVES, 1999; SOUZA FILHO; ALVES, 2000) e, similarmente à *Parkia pendula* e *Tachigali myrmecophyla*, é

<sup>8</sup> KURITA, N.; MAKOTO, M.; KURANE, R.; TAKAHARA, Y. Antifungal activity of components of essential oils. *Agricultural and Biological Chemistry*, v. 45, p.945-952, 1981.

<sup>9</sup> REZENDE, J.A.M.; FANCELLI, M.I. Doenças do mamoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, A.; BERGAMIN FILHO, A.B.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.) *Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, cap.46, p.261-297.

uma leguminosa com potencial para fixação de nitrogênio, característica desejável em sistemas silvipastoris (SOUZA FILHO; FONSECA; ARRUDA, 2005).

A família Leguminosae compreende 650 gêneros e 18.000 espécies incluindo, dentro deste número, algumas das espécies economicamente mais importantes do mundo. *Vouacapoua* pertence à subfamília Caesalpinioideae, abundante na América do Sul, África Tropical e Sudeste Asiático (POLHILL; RAVEN, 1981) e engloba três espécies hileianas, sendo duas brasileiras: *Vouacapoua americana* Aublet e *Vouacapoua pallidior* (RIZZINI, 1971). A madeira possui alto valor comercial, sendo utilizada em construções civil, naval, fabricação de móveis e soalhos (MAUÉS et al., 1998; KUKACHKA, 1970). Ademais, devido a suas características próprias, esta planta é considerada uma promissora fonte alternativa de substâncias químicas para a produção de biodefensivos agrícolas (SUDAM, 1979).

Em estudos anteriores realizados com *Vouacapoua americana* Aublet, constatou-se a presença de fitotoxinas no extrato aquoso de folhas recém-caídas, mostrando percentual de germinação de sementes de pepino igual a 27% (GONDIM, 1982). Na investigação do extrato aquoso da casca, observaram-se potencialidades alelopáticas em níveis que possibilitaram a redução da germinação e do alongamento da radícula de malícia (*Mimosa pudica* Mill.) e malva (*Urena lobata* L.), espécies invasoras de pastagens, em intensidades que variaram entre 54,35 e 83,14%, com maior especificidade entre a espécie doadora e a espécie malícia (*Mimosa pudica* Mill.). Essa atividade potencial alelopática foi atribuída à presença das seguintes classes de aleloquímicos: taninos, alcaloides, flavonoides, catequinas, derivados

da cumarina, esteroides e triterpenoides, e aminoácidos (SOUZA FILHO; ALVES, 1999; SOUZA FILHO; ALVES, 2000).

Além disso, foi verificado que sua madeira merece especial destaque pela excepcional resistência natural à deterioração e a organismos destruidores de madeira, terrestres e marítimos, como fungos, bactérias e cupins. E que, embora a densidade possa apresentar influência secundária (BULTMAN; SOUTHWELL, 1976), isso se deve, principalmente, à presença de substâncias orgânicas com propriedades repelentes ou tóxicas, como cadineno e estilbenos (WOLCOTT, 1946; SCHEFFER; COWLING, 1966).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade fitotóxica e fungitóxica de extratos da casca de *Vouacapoua* cf *americana*, quanto à capacidade de inibir a germinação de sementes da espécie invasora *Mimosa pudica* e o crescimento dos fungos patogênicos *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, visando com isso a o desenvolvimento de estudos subsequentes mais avançados para a produção de defensivos agrícolas naturais.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 COLETA E PREPARAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

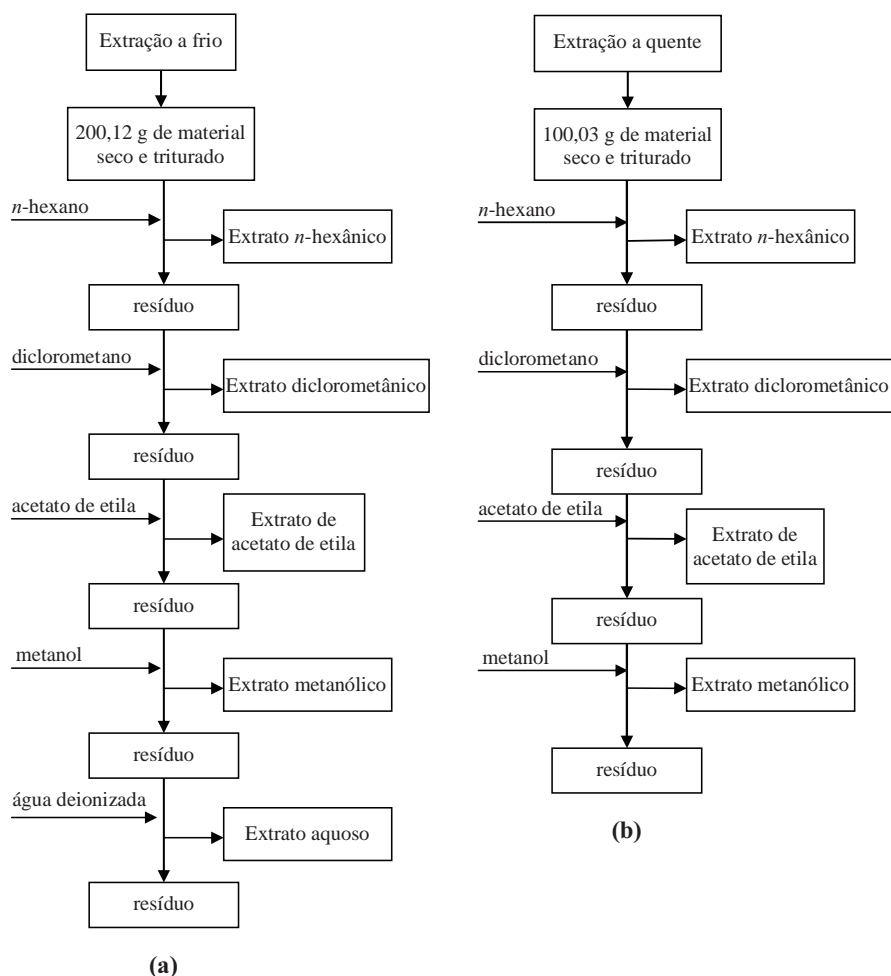
O material vegetal, casca, foi coletado em abril de 1999, de espécime adulto e nativo de acapu em áreas da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, Brasil. Exsicata estéril do espécime encontra-se depositada no Herbário IAN da Embrapa Amazônia Oriental, sob registro N° 175012. Não se observou diferença significativa na identificação anatômica por meio da comparação de lâminas das espécies conhecidas e da espécie estudada. Supõe-se que a diferença entre *V. americana*

e *V. pallidior* é sutil e limita-se em discretas características das flores (DUCKE, 1931). A amostra foi submetida à secagem em estufa com circulação de ar forçada a  $38^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , triturada em moinho de faca e acondicionada em saco plástico, em caixa de isopor.

## 2.2 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO

A partir da casca seca e triturada, foram realizadas extrações exaustivas, por percolação à temperatura ambiente, com solventes orgânicos na sequência de polaridade crescente: *n*-hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, e água deionizada.

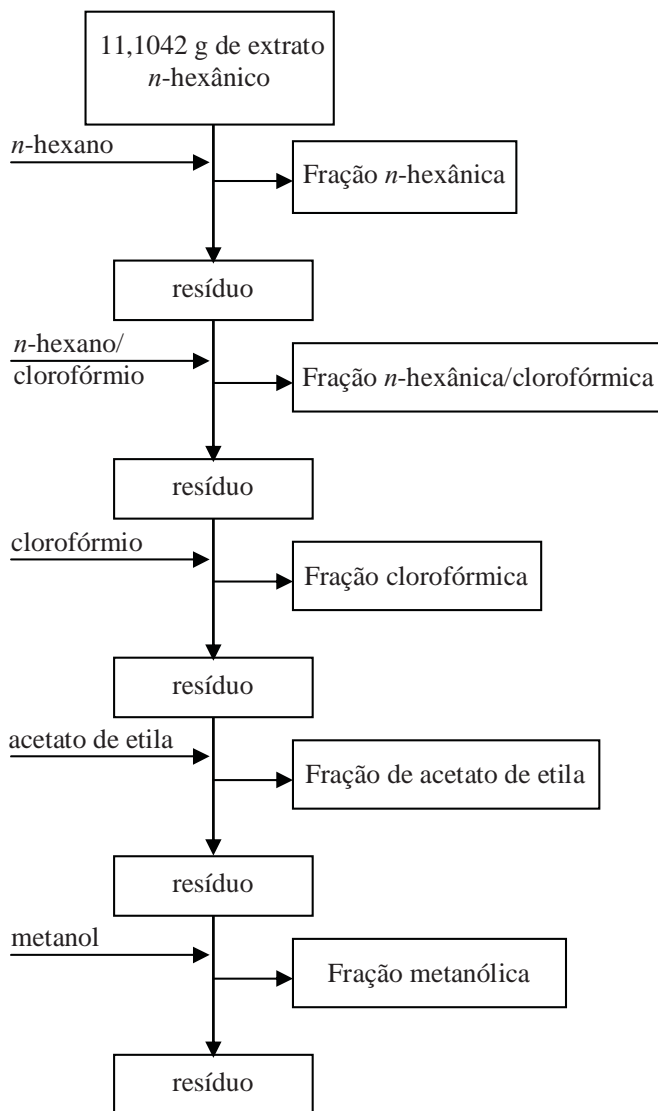
Comparativamente (Figura 1), realizaram-se extrações, à temperatura de ebulição de cada solvente orgânico ( $68, 40, 77$  e  $64,5^{\circ}\text{C}$ , respectivamente), utilizando extrator Soxhlet. Os extratos brutos foram destilados sob pressão reduzida em rotavapor Büchi, modelo EL 131, a  $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Apenas o extrato bruto aquoso foi liofilizado em equipamento da Trip Science, modelo TR-BT-3-50. Todos os extratos foram submetidos à avaliação quanto à capacidade de inibir a germinação de sementes da espécie invasora *Mimosa pudica* e o crescimento dos fungos patogênicos *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*.



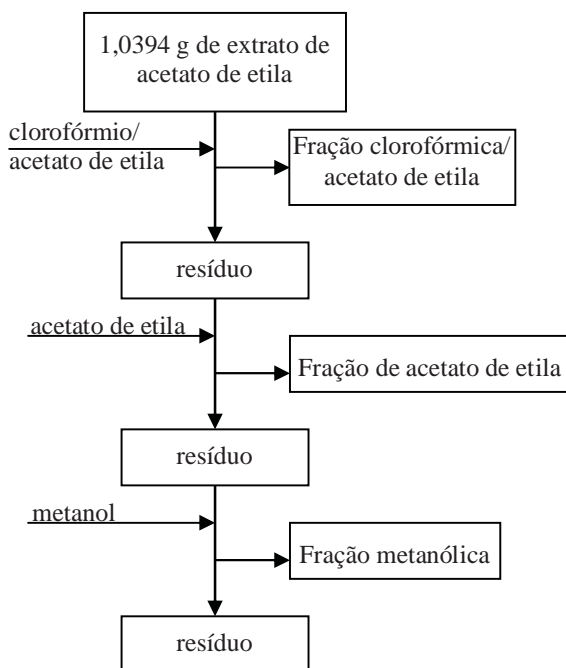
**Figura 1** - Procedimentos de obtenção dos extratos brutos da casca de *Vouacapoua cf americana* por percolação à temperatura ambiente (a) e em Soxhlet à temperatura de ebulição de cada solvente orgânico utilizado (b).

Alíquotas dos extratos brutos *n*-hexânico e de acetato de etila foram submetidas à cromatografia líquida a vácuo em coluna de silicagel, utilizando, como eluentes, *n*-hexano,

clorofórmio, acetato de etila, metanol e misturas binárias destes, em ordem crescente de polaridade (Figuras 2 e 3, respectivamente). As frações obtidas foram destiladas a vácuo (rotavapor Büchi).



**Figura 2** - Procedimento de obtenção das frações do extrato bruto *n*-hexânico em ordem crescente de polaridade.



**Figura 3** - Procedimento de obtenção das frações do extrato bruto de acetato de etila em ordem crescente de polaridade.

Todos os extratos e frações obtidos foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), para se verificar a complexidade da mistura de constituintes químicos presentes em cada um. Utilizaram-se como eluentes, dependendo da polaridade do extrato ou fração, misturas de *n*-hexano, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila, metanol, *n*-butanol, água deionizada, ácido acético, com vários gradientes de polaridade; e como reveladores cromatográficos, vapor de iodo e lâmpada para análise de fluorescência por ultravioleta da Mineralight, modelo UVG-54, 254 nm.

## 2.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

### 2.3.1 Bioensaio para avaliação da atividade fungitóxica

Os fungos estudados foram cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, sendo usados: *Fusarium solani* f. sp. *piperis* Albuquerque,

*Fusarium oxysporum* Shel. e *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

Foram realizados ensaios *in vitro*, com cinco repetições, utilizando soluções metanólicas dos extratos brutos da casca de *Vouacapoua cf americana* na concentração de 1% (m/v), adicionada em Sabouraud-ágar e inoculada com o micélio do fungo repicado recentemente. Após incubação sob temperatura ambiente por cinco dias, a avaliação consistiu na medição, em milímetros, do halo de inibição de crescimento do fungo formado em torno dos discos de papel embebidos dos extratos (DUARTE; ALBUQUERQUE, 1988). Foram feitos controles que consistiram na ausência do extrato e controles contendo metanol.

### 2.3.2 Bioensaio para avaliação da atividade fitotóxica

Sementes de malícia (*Mimosa pudica* Mill.), espécie invasora, coletadas em fazendas

particulares do município de Castanhal, Pará, Brasil, passaram por processo de limpeza e foram tratadas com ácido sulfúrico concentrado durante 15 min para quebra de dormência e lavadas, por igual tempo de duração, com água corrente em abundância. Essas sementes foram utilizadas como espécie receptora, a fim de analisar o potencial ativo individual dos extratos e frações da casca de *Vouacapoua cf americana* na inibição da germinação das mesmas.

Os bioensaios de germinação foram desenvolvidos em condições controladas com temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, em câmara climática Eletrolab, modelo 102FC.

As sementes de malícia foram colocadas para germinar em placas de Petri sobre papel de filtro qualitativo, umedecido inicialmente com 3 mL da solução amostra (extratos e frações) de concentração definida e, em seguida, com solução aquosa de nistatina a 0,2% (m/v), utilizada também como controle ou testemunha. A germinação foi monitorada em períodos de 8 dias com contagem e eliminação diária das sementes germinadas. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que possuíam extensão radicular superior ou igual a dois milímetros (SOUZA FILHO; DUTRA; SILVA, 1998; JUNTILA, 1976; DURAM; TORTOSA, 1985). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

O percentual de inibição ou redução (PI) foi calculado utilizando-se a fórmula:

$$PI = [(PG_{n\%}/PG_{0\%}) - 1]$$

Onde:  $PG_{n\%}$  = percentual de germinação para solução amostra na concentração em estudo

$PG_{0\%}$  = percentual de germinação para controle, ou seja, concentração de 0%

## 2.4 INVESTIGAÇÃO DO EXTRATO BRUTO AQUOSO

Em razão do resultado obtido no bioensaio para avaliação da atividade fitotóxica do extrato bruto aquoso, o mesmo foi submetido à investigação por diferentes técnicas analíticas, como a espectrofotometria no infravermelho em espectrofômetro Shimadzu, modelo IR-470; a espectrometria de ressonância magnética nuclear de próton (RMN  $^1H$ ) em espectrômetro Varian Gemini-300 (300 MHz); a determinação do ponto de fusão em equipamento da Sibata, modelo MEL-270; a determinação quantitativa de cátions em espectrômetro de emissão atômica sequencial por plasma indutivamente acoplado Varian Sequential ICP-AES, com visualização radial do plasma cobrindo uma faixa espectral de 189 a 940 nm e equipado com kit para detecção de metais pesados em matriz orgânica; e por último, a análise qualitativa de ânions por gravimetria.

## 2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental utilizado para os bioensaios foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para análise desses dados utilizou-se o software estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 1989).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO

Os rendimentos dos extratos brutos e frações da casca de *Vouacapoua cf americana* podem ser observados nas Tabelas 1, 2 e 3.



**Tabela 1 -** Rendimentos dos extratos brutos da casca de *Vouacapoua cf americana* obtidos por percolação à temperatura ambiente e em Soxhlet à temperatura de ebulição de cada solvente orgânico utilizado.

Extrato	À temperatura ambiente		A quente	
	Rendimento (g)	Rendimento (%)	Rendimento (g)	Rendimento (%)
<i>n</i> -hexânico	13,10	7,42	8,13	9,05
diclorometânico	0,59	0,32	0,50	0,56
acetato de etila	32,11	17,38	15,57	17,34
metanólico	17,69	9,58	13,14	14,63
aquoso	20,07	10,87	-	-

**Tabela 2 -** Rendimentos das frações do extrato *n*-hexânico em ordem crescente de polaridade.

Fração	Rendimento (g)	Rendimento (%)
<i>n</i> -hexânica	2,3018	20,73
<i>n</i> -hexânica/clorofórmica	3,1778	28,62
clorofórmica	2,6211	23,60
acetato de etila	1,9269	17,35
metanólica	0,9156	8,25

**Tabela 3 -** Rendimentos das frações do extrato bruto de acetato de etila em ordem crescente de polaridade.

Fração	Rendimento (g)	Rendimento (%)
clorofórmica/acetato de etila	0,0141	1,36
acetato de etila	0,9068	87,24
metanólica	0,1498	14,41

## 3.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

### 3.2.1 Avaliação da atividade fungitóxica

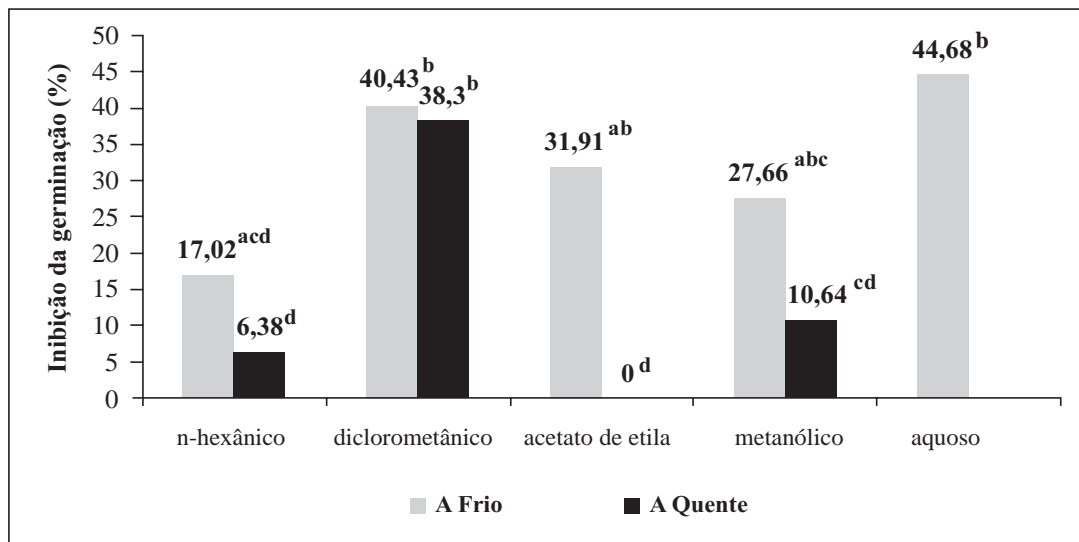
Ainda que *Vouacapoua americana* seja reconhecida por sua excepcional resistência natural a microrganismos, não foi observada em nenhuma das placas de Petri a formação de halo de inibição de crescimento dos fungos *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides* em torno dos discos de papel embebidos das soluções dos extratos em concentração de 1% (m/v). Portanto, não se verificou especificidade dos extratos brutos da casca de *Vouacapoua cf americana* sobre as espécies de patógenos utilizadas.

Em pesquisas recentes, observou-se que houve inibição do crescimento de *F. oxysporum* em 61,15 e 6,75%, devido aos extratos de rizoma de açafraão e folha de coração de negro em concentração de 1%, respectivamente. Verificou-se ainda que o extrato de coração de negro estimulou o crescimento de *F. solani* (AMARAL; BARA, 2005). Também foram verificadas propriedades fungitóxicas em extratos de bulbilhos de alho, folhas de hortelã, folhas de mamona e frutos de pimenta, os quais inibiram o desenvolvimento de micélio de *C. gloeosporioides*, a partir da concentração de 200 ppm (0,02%) (RIBEIRO; BEDENDO, 1999).

### 3.2.2 Avaliação da atividade fitotóxica

Embora não tenham sido detectadas diferenças significativas, observou-se que os extratos brutos da casca de *Vouacapoua cf americana* obtidos a frio inibiram a germinação de sementes de malícia (*Mimosa pudica* Mill.) mais que os obtidos a quente,

o que possivelmente se deve à degradação de substâncias fitotóxicas presentes nesses extratos, como resultado da exposição à temperatura de ebulição dos solventes na extração a quente, principalmente no extrato bruto acetato de etila, conforme se verifica na Figura 4.



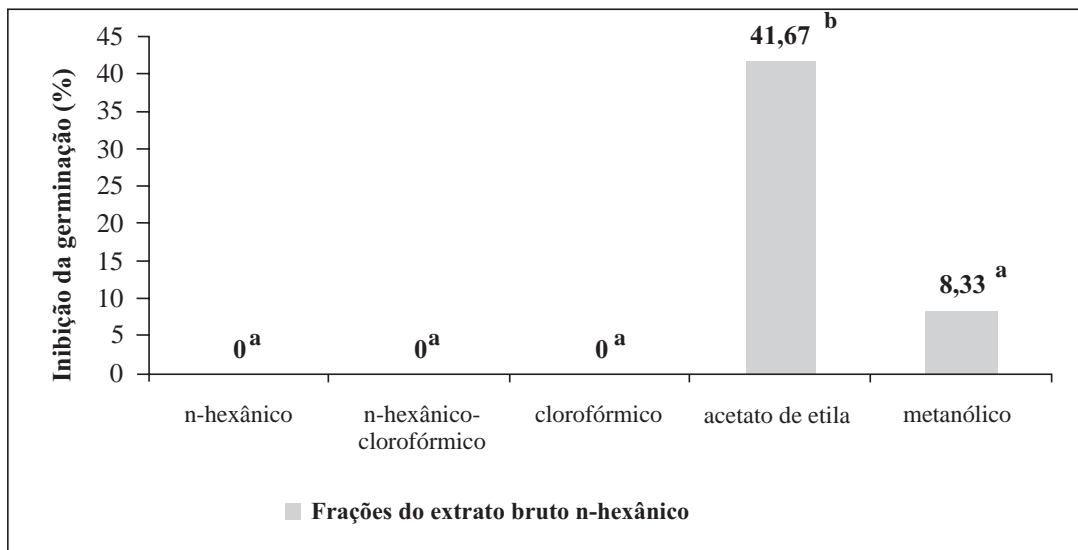
Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey (5%).

**Figura 4** - Efeitos potencialmente alelopáticos dos extratos brutos obtidos a frio e a quente sobre a germinação de sementes da espécie malícia. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

O extrato bruto aquoso e o diclorometânico foram os que causaram maior inibição sobre a germinação das sementes de malícia. Entretanto, em razão da baixa quantidade de material obtido, não foi possível avançar na investigação do extrato bruto diclorometânico.

Em face do efeito inibitório observado para os extratos brutos, optou-se pelo fracionamento do extrato apolar *n*-hexânico e do acetato de etila, com polaridade intermediária.

Foram obtidas cinco frações do extrato bruto *n*-hexânico e, apesar das diferenças significativas observadas na Figura 5, verificou-se que as substâncias fitotóxicas estavam presentes nas frações mais polares, enquanto as demais frações não foram fitotóxicas. Essas frações mais polares foram testadas em concentração de 0,2% (m/v), pela quantidade de material obtida após o fracionamento.

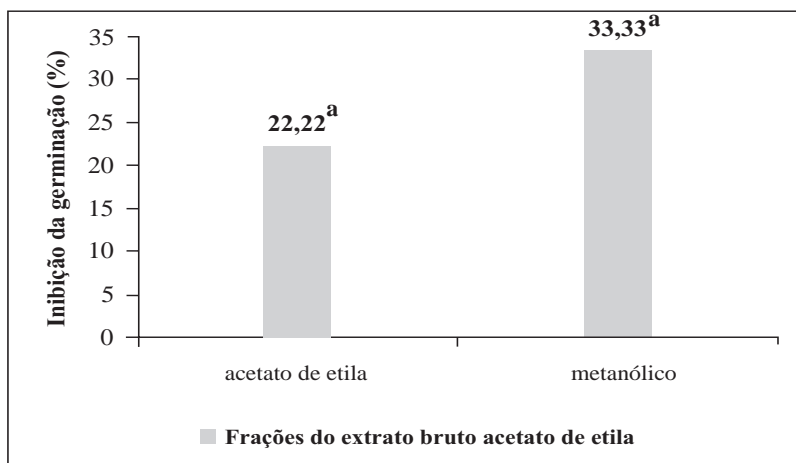


Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey (5%).

**Figura 5** - Efeitos potencialmente alelopáticos das frações obtidas do extrato bruto *n*-hexânico sobre a germinação de sementes da espécie malícia. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

Do extrato bruto acetato de etila, três frações foram obtidas e verificou-se que o efeito deletério à germinação de sementes de malícia promovido pela fração metanólica foi superior ao observado à fração acetato de etila, em concentração de 1%

(m/v), ainda que estatisticamente não tenham diferido, como pode ser visualizado na Figura 6. Em razão da baixa quantidade de material obtida na fração clorofórmica/acetato de etila, não foi possível testar essa fração.



Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey (5%).

**Figura 6** - Efeitos potencialmente alelopáticos das frações obtidas do extrato bruto de acetato de etila sobre a germinação de sementes da espécie malícia. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

Efeitos deletérios promovidos por extratos vegetais sobre a germinação de sementes de malícia têm sido relatados em estudos mais recentes. Como exemplo, cita-se o trabalho de Souza Filho, Pereira e Bayma, (2005), em que se avaliou o extrato aquoso em concentração de 1% de *Brachiaria humidicola*, o qual inibiu a germinação em 30% e o de *Tachigali myrmecophyla*, em 80%, segundo Souza Filho, Lobo e Arruda (2005). Já em concentração de 3%, o extrato aquoso de *Paspalum maritimum* promoveu inibição da ordem de 90% (SOUZA FILHO, 2006).

### 3.3 EXTRATO BRUTO AQUOSO

Considerando-se a intensidade de inibição do extrato bruto aquoso sobre

a germinação de sementes de malícia, investigou-se o mesmo por espectrofotometria no IV, em que se observou ausência de bandas na região de 3.000 a 2.800 nm, características de estiramento C-H, e espectrometria de RMN<sup>1</sup>H, na qual se detectou apenas um sinal singlete em  $\delta$ H 4,70, correspondente ao solvente água utilizado. Dessa forma, supondo-se tratar de material inorgânico com ponto de fusão superior a 320°C e teor de cinzas igual a 90,56%, efetuou-se a análise qualitativa de ânions por gravimetria, e quantitativa de cátions por espectrometria de emissão atômica, com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES), cujos resultados podem ser observados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

**Tabela 4** - Composição qualitativa em ânions do extrato bruto aquoso.

C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	S <sup>-2</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Br <sup>-</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> <sup>-2</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>
+	+	+	-	-	+	-	-	-	+

(+) presença do ânion

(-) ausência do ânion

**Tabela 5** - Composição quantitativa em cátions (ppm) do extrato bruto aquoso.

Ca	K	Mg	Na	Cd	Co	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
2.485,2	22.257	1.201,2	41.541,0	0,054899	0,067925	7,0407	8,3407	3,0821	-	28,223

Apesar da plasticidade que as sementes de malícia têm para germinarem satisfatoriamente em ambientes salinos, elas são incapazes de germinarem a partir da concentração de 300 mM de NaCl (SOUZA FILHO et al., 2001), ou seja, 17.530 ppm de NaCl e, portanto, 6.897 ppm de Na<sup>+</sup>. Desta forma, verificou-se que a concentração de íons Na no extrato bruto aquoso (Tabela 5) é aproximadamente seis vezes superior à concentração letal indicada para sementes de malícia. E, por conseguinte, a elevada

concentração de íons Na presentes nesse extrato tornou-se indicativo de toxicidade iônica, e os efeitos deletérios observados sobre a germinação das sementes de malícia foram originários de inibição osmótica (UNGAR, 1998; CHOU; LEU, 1992).

## 4 CONCLUSÃO

Não se observou atividade fungitóxica dos extratos brutos da casca de *Vouacapoua cf americana* nas condições e com as espécies

de fitopatógenos testadas: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*.

Os extratos brutos e suas frações foram potencialmente fitoinibitórios à germinação das sementes da planta invasora *Mimosa pudica*.

Quanto à fitotoxicidade, verificou-se que os extratos e frações da casca de *Vouacapoua cf americana* são constituídos por fitotoxina(s) relativamente polar(es).

### AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Gundisalvo Morales do Laboratório de Hidrocarbonetos da Universidade do Estado do Pará, pela análise quantitativa de cátions. Ao Professor Afonso Silva Mendes do Departamento de Química da Universidade Federal do Pará, pela análise qualitativa de ânions.

### REFERÊNCIAS

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 2, n. 2, p. 5-8, 2005.

BULTMAN, J.D.; SOUTHWELL, C.R. Natural resistance of tropical american woods to terrestrial wood-destroying organisms. *Biotropica*, v. 8, n. 2, p.71-95, 1976.

CHOU, C.H.; LEU, L.L. Allelopathic substances and interactions of *Delonix regia* (Boj) Raf. *Journal of Chemical Ecology*, v. 18, n. 12, p.2285-2303, 1992.

DUARTE, M.L.R.; ALBUQUERQUE, F.C. Atividade sistêmica de benomyl em diferentes níveis de pH em pimenta-do-reino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 23, n. 1, p.27-32, 1988.

DUCKE, A. Fifteen new forest trees of the Brazilian Amazon. *Tropical Woods*, n. 31, p.10-22, 1931.

DURAM, J.M.; TORTOSA, M.E. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock (*Sinapis arvensis* L.) seeds. *Seed Science Technology*, v. 13, n. 1, p.155-163, 1985.

GENAMAZ. Rede para conservação e uso dos recursos genéticos amazônicos. Disponível em: <<http://www.genamaz.org.br/Genamaz>>. Acesso em: 04 maio 1999.

GODOY, P.; COLOMBO, A.L. Biologia e relevância clínica das espécies do gênero *Fusarium* spp. *Prática Hospitalar*, v. 6, n. 34, p.136-140, 2004.

GONDIM, C.J.E. Presença de substâncias inibidoras do crescimento no acapuzeiro (*Vouacapoua americana* Aubl.). *Silvicultura em São Paulo*, v. 16-A, pt. 2., p.532-535, 1982. Edição de Anais do Congresso Nacional sobre Essências Nativas, Campos do Jordão, 1982.

JUNTILA, O. Seed and embryo germination in *S. vulgaris* and *S. reflexa* as effected by temperature during seed development. *Physiology Plant*, v. 29, p.264-268, 1976.

KUKACHKA, B.F. *Properties of imported tropical woods*. Madison: U.S.D.A. Forest Service. Forest Products Laboratory, 1970. (Research Paper FPL 125).

MAUÉS, M.M.; SANTOS, L.F.C.; MACQUEEN, D.; MARTINS-DA-SILVA, R.C.V. Biologia da polinização de uma essência florestal amazônica, o acapu (*Vouacapoua americana* Aubl. - Leguminosae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 49., 1998, Salvador. *Resumos...* Salvador: UFBA, 1998. p.348.

POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. *Advances in legume systematics*. Part 1. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. v. 2.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Scientia Agrícola*, v. 56, n.4, p.1-8, 1999.

RIZZINI, C.T. *Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira*. São Paulo: E. Blücher, 1971. 294p.

SCHEFFER, T.C.; COWLING, E.B. Natural resistance of wood to microbial deterioration. *A. Rev. Phytopath.*, v. 4, p. 147-165, 1966.

SOUZA FILHO, A.P.S. Interferência potencialmente alelopática do campim-gengibre (*Paspalum maritimum*) em áreas de pastagens cultivadas. *Planta Daninha*, v. 24, n. 3, p.451-456, 2006.

\_\_\_\_\_; ALVES, S.M. *Alelopatia em ecossistema de pastagem cultivada*. Belém: Embrapa-CPATU, 1998. 72p. (Embrapa-CPATU. Documentos, 109).

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Atividade potencialmente alelopática em plantas de acapu (*Vouacapoua americana* Aublet) I - Efeitos de extratos aquosos da casca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. *Planta Daninha*, v.18, n.3, p.435-441, 2000.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. FIGUEIREDO, F.J.C.; DUTRA, S. 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 de dormência de sementes de plantas daninhas de pastagens cultivadas da Amazônia. *Planta Daninha*, v.16, n.1, p.3-11, 1998.

\_\_\_\_\_; FONSECA, M.L.; ARRUDA, M.S.P. Substâncias químicas com atividades alelopáticas presentes nas folhas de *Parkia pendula* (Leguminosae). *Planta Daninha*, v.23, n.4, p.565-573, 2005.

\_\_\_\_\_; LÔBO, L.T.; ARRUDA, M.S.P. Atividade alelopática em folhas de *Tachigali myrmecophyla* (Leg.-Pap.). *Planta Daninha*, v.23, n.4, p.557-564, 2005.

\_\_\_\_\_; PEREIRA, A.A.G.; BAYMA, J.C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. *Planta Daninha*, v.23, n.1, p.25-32, 2005.

SPADOTTO, C.A. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. *Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar*, São Miguel, p.1-9, 2006. Disponível em: <[http://www.fmr.edu.br/npi\\_2.php](http://www.fmr.edu.br/npi_2.php)>. Acesso em: 10 maio 2006.

SUDAM. *Pesquisas e informações sobre espécies florestais da Amazônia*. Belém, 1979. 111p.

UNGAR, I.A. Aerobiotic factors significant in influencing the distribution of halophytes in saline habitats? *The Botanical Review*, v.64, n.2, p.176-199, 1998.

WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; CHAOUTH, A.E.; WINIEWSKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, v.81, n.2, p.204-210, 1997.

WOLCOTT, G.N. Factors in the natural resistance of woods to termite attack. *Caribb. Forester*, v.7, p.121-134, 1946.