

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE GENÓTIPOS DE SORGO

Michelangelo Muzell Trezzi
Engenheiro Agrônomo, Mestre (UFRGS)

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia,
Área de Concentração Plantas de Lavoura

Porto Alegre (RS), Brasil

Agosto, 2002

Dedico este trabalho especialmente à minha esposa Cristina, a meus pais, irmãos e demais familiares, pessoas das quais obtive apoio integral nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Gentil e Helena, pelo apoio e incentivo durante toda minha trajetória.

Ao Professor Ribas Antonio Vidal, pelos ensinamentos, espírito científico e oportunidades concedidas.

Aos membros da Comissão de Orientação, Professores Nilson Gilberto Fleck, Paulo Régis Ferreira da Silva, e especialmente à Professora Maria do Carmo Ruaro Peralba, pelas sugestões e orientações dadas para a elaboração da tese. Ao Professor Francisco Affonso Ferreira (Universidade de Viçosa), pelas sugestões e disponibilidade em participar da Banca Examinadora deste trabalho.

Aos Professores e funcionários do Departamento de Plantas de Lavoura.

Ao Professor João Riboldi, pelo apoio nas análises estatísticas. À Professora Deborah Pinheiro Dick, pela orientação valiosa nas análises de sorção. Aos Professores Valter Stefani e Beatriz Tenius e equipe, pelo auxílio na realização de análises cromatográficas e na interpretação das análises de ressonância magnética. Aos Professores Alfredo Gui Ferreira e Maria Estefânia Áquila, pela orientação nas análises de potencial osmótico. Aos Professores Luiz Cláudio Barbosa (Universidade de Viçosa) e Leslie Weston (Cornell University), respectivamente, pelo auxílio no processo de purificação e doação do padrão de sorgoleone.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação da UFRGS, especialmente a Alvadi Balbinot Jr., Dirceu Agostinetto, Gilber Argenta, Luis César Cassol, Mário Bianchi, Mauro Rizzardi, Miguel Ferri e Paulo Henrique de Oliveira. Referência especial faço ao colega Nelson Diehl Kruse, pela amizade, companheirismo e ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos bolsistas de iniciação científica Cléo Carollo, Marshal Biscaino, Cristiano dos Anjos, Paulo Gomes, Israel Silva e Esteban Mendez, pela amizade e colaboração.

Aos colegas do Instituto de Química, especialmente à Marisa Adams e Ana Maria Geller, pelo auxílio, ensinamentos e amizade.

Aos colegas do CEFET, por oportunizarem a realização deste curso.

À CAPES, pela oportunidade de capacitação.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DE GENÓTIPOS DE SORGO¹

Autor: Michelangelo Muzell Trezzi

Orientador: Ribas Antonio Vidal

RESUMO

A utilização de genótipos de culturas com potencial alelopático superior é considerada uma importante alternativa para manejo de plantas daninhas. Estas cultivares também podem ser utilizadas para isolamento de substâncias potencialmente alelopáticas, como base para produção de herbicidas sintéticos. Contudo, há dificuldades para reproduzir-se a campo os resultados de atividade obtidos em ensaios conduzidos em laboratório. Este trabalho objetivou determinar a existência de variabilidade entre genótipos de sorgo quanto à produção de extratos hidrofóbicos de raízes; relacionar o potencial alelopático mensurado em laboratório com a supressão diferencial de plantas daninhas por estes genótipos a campo; e verificar a importância de fatores limitantes do desempenho da substância sorgoleone em nível de campo. Realizaram-se experimentos em casa de vegetação e em laboratório para testar o potencial alelopático de extratos hidrofóbicos e hidrofílicos de plantas de sorgo e quantificar a produção e o comportamento ambiental de sorgoleone. No campo, foram quantificados os efeitos de diversos genótipos dessa cultura. Há variabilidade entre genótipos de sorgo quanto à produção de extratos hidrofóbicos. O aleloquímico sorgoleone é o principal componente de extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo. Não se constatou relação de dependência entre produção de sorgoleone por genótipos de sorgo em laboratório e capacidade de supressão de plantas daninhas a campo, por estes genótipos. O genótipo de sorgo BR 601 apresenta potencial alelopático superior em laboratório, e pertence ao grupo de genótipos com maior efeito alelopático a campo. A limitada ação de sorgoleone a campo deve-se à elevada sorção aos colóides do solo e à reduzida concentração no ambiente externo às raízes.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (127 p.) Agosto, 2002.

ASSESSMENT OF THE ALLELOPATHIC POTENTIAL OF SORGHUM GENOTYPES²

Author: Michelangelo Muzell Trezzi

Adviser: Ribas Antonio Vidal

ABSTRACT

The use of genotypes with superior allelopathic potential is considered an important strategy for weed management. These genotypes can also be used to isolate allelopathic compounds, which can be used as leads to the discovery of synthetic herbicides. However, experimental difficulties limit the demonstration of allelopathy at the field. The objectives of this work were to evaluate the variability on the production of hydrophobic extracts by sorghum roots; to compare the allelopathic potential observed on laboratory with the ability of the genotypes to reduce weed infestation at the field; and to evaluate the impact of limiting factors on the performance of the compound sorgoleone at the field. Experiments were conducted at greenhouse and at laboratory to evaluate the allelopathic potential of hydrophilic and hydrophobic extracts of sorghum plants and to quantify the production and the limitation of sorgoleone in the environment. Field experiments were carried out to quantify the allelopathic effect of several sorghum genotypes. The potential to produce hydrophobic extracts is dependent on sorghum genotype. The allelochemical sorgoleone is the main component of hydrophobic extracts of sorghum roots. There is no relationship between sorgoleone production by sorghum genotypes at the laboratory and their weed suppressing abilities at the field. Sorghum BR 601 has superior allelopathic potential, in laboratory, and is among the genotypes with superior allelopathic potential at the field. Sorgoleone limited action is attributed to its sorption to soil colloids and to the limited concentration outside sorghum roots.

² Doctoral Thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (127 p.) August, 2002.

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	01
1.1. Definições de alelopatia	01
1.2. Diferenciação entre alelopatia e competição	02
1.3. Provas da existência de alelopatia	03
1.4. Substâncias alelopáticas: produção pelas plantas e grupos envolvidos	04
1.5. Efeitos alelopáticos em laboratório e no campo	05
1.6. Substâncias alelopáticas: comportamento no ambiente	06
1.7. Estratégias para usar alelopatia no manejo de plantas daninhas	08
1.7.1. Uso de espécies de cobertura morta.....	08
1.7.2. Utilização de espécies de plantas cultivadas com maior potencial alelopático	10
1.7.2.1. Redução da infestação de plantas daninhas com sorgo	10
1.7.2.2. Substâncias alelopáticas em plantas de sorgo	11
1.7.3. Seleção de genótipos com maior potencial alelopá- tico	13
1.8. Hipóteses e objetivos do trabalho	14
2. CAPÍTULO I – Purificação e identificação de sorgoleone e sua quantificação em genótipos de sorgo	16
2.1. Introdução	16
2.2. Materiais e métodos	18
2.3. Resultados e discussão	22
2.4. Conclusões	30
3. CAPÍTULO II – Fitotoxicidade de extratos hidrofóbicos e hidrofílicos de sorgo e milheto	31
3.1. Introdução	31
3.2. Materiais e métodos	34
3.3. Resultados e discussão	39
3.4. Conclusões	56

4. CAPÍTULO III – Potencial de extratos radiculares hidrofóbicos e da cobertura vegetal de plantas de sorgo na supressão de plantas daninhas em condição de campo	57
4.1. Introdução	57
4.2. Materiais e métodos	60
4.3. Resultados e discussão	63
4.4. Conclusões	83
5. CAPÍTULO IV – Sorção de sorgoleone no solo e sua quantificação em solução nutritiva	85
5.1. Introdução	85
5.2. Materiais e métodos	88
5.3. Resultados e discussão	94
5.4. Conclusões	104
6. DISCUSSÃO GERAL	105
7. CONCLUSÕES GERAIS	115
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
9. VITA	127

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
TABELA 2.1 - Áreas dos picos cromatográficos, relativas ao somatório total, de compostos presentes em exsudatos radiculares purificados em coluna cromatográfica UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001	25
TABELA 2.2 - Pureza relativa de extratos hidrofóbicos de cinco genótipos de sorgo. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001	26
TABELA 2.3 – Genótipos de sorgo utilizados, algumas características agronômicas e produção e concentração de extratos hidrofóbicos em suas raízes, determinadas a partir de sementes germinadas em placas de petri, em câmara de crescimento. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000.....	28
TABELA 3.1 - Germinabilidade e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface em resposta a diferentes níveis de extratos hidrofóbicos de sorgo em placas de petri. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002	40
TABELA 3.2 - Resumo da análise de variância e da complementação da análise por regressão, relativo às variáveis comprimento da radícula e comprimento da parte aérea de alface e de <i>Bidens</i> sp. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002	41
TABELA 3.3 - Resumo da análise de variância para as características germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e comprimentos da radícula e da parte aérea, em função de cultivares, parte da planta e concentração de extratos hidrofílicos. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002	45
TABELA 3.4 - Equações, valores dos coeficientes de determinação e	

significância da regressão linear entre concentrações de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e germinabilidade de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001

46

TABELA 3.5 - Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentração de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e o índice de velocidade de germinação (IVG) de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001

48

TABELA 3.6 - Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentração de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e o comprimento da radícula de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001

52

TABELA 3.7 - Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentração de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e o comprimento da parte aérea de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001

53

TABELA 4.1 - Composição química e textural do solo utilizado nos experimentos. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000 e 2000/2001.....	60
TABELA 4.2 - Densidade de plantas de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e total e massa seca total de plantas daninhas, avaliadas aos 30 dias após a semeadura das culturas, em resposta à presença de diferentes coberturas verdes sobre o solo. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.....	64
TABELA 4.3 - Densidade de plantas de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH), <i>Bidens</i> sp. (BIDSS) e total de plantas daninhas aos 14 dias após a semeadura das culturas, em resposta à presença de diferentes genótipos e à posição das plantas daninhas na área de amostragem. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.....	65
TABELA 4.4 - Densidade de plantas cultivadas na linha de semeadura, aos 14 dias após a semeadura das culturas. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001	66
TABELA 4.5 - Resumo da análise da variância das características densidade de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL) e <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH), aos 22 e 50 dias após a movimentação da palha (DAM), em função dos fatores cultivar/espécie e uso de graminicida. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000	69
TABELA 4.6 - Resumo da análise da variância das características peso da matéria seca de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL) e <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH), em função dos fatores cultivares/espécies e do uso de herbicida graminicida, na ausência de palha na superfície do solo. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000.....	71
TABELA 4.7 - Massa seca de plantas de <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH), em função da utilização ou não de herbicida graminicida, médias de três genótipos de sorgo e de um de milho, sem o uso de palha na superfície. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000	71
TABELA 4.8 - Resumo da análise da variância das características população de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e total de plantas daninhas, em função dos fatores genótipos, herbicida graminicida	

e níveis de palha. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000	72
TABELA 4.9 - Densidade populacional total de plantas daninhas em resposta aos genótipos de sorgo BR 304 e BR 601 e quatro níveis de palha na superfície do solo, aos 22 e 50 dias após a movimentação da palha (DAM). EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000	73
TABELA 4.10 - Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre níveis de palha e densidades de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e total, aos 22 e 50 dias após a movimentação da palha (DAM). UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000	74
TABELA 4.11- Resumo da análise de variância das características população de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e <i>Bidens</i> sp. (BIDSS), aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em função dos fatores genótipos de sorgo e milho, uso de herbicida gramínicida e níveis de palha. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001	75
TABELA 4.12 - Resumo da análise da variância das características densidade total de plantas daninhas e matéria seca de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Bidens</i> sp. (BIDSS), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e total de plantas daninhas, em função dos fatores genótipos de sorgo e milho, uso de gramínicida e palha. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001	76
TABELA 4.13 - Densidades populacionais de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e <i>Bidens</i> sp. (BIDSS) aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em resposta à presença ou não de cobertura morta de sorgo/milho e de espécies daninhas gramíneas.	

UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.....	77
TABELA 4.14 - Massa seca de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL), <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) e <i>Bidens</i> sp. (BIDSS), determinada aos 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em função da presença ou não de palha de sorgo/milheto na superfície do solo e de espécies daninhas gramíneas. EEA/UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.....	78
TABELA 4.15 - Densidade total de plantas daninhas avaliada aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em genótipos de sorgo e milho, na ausência de herbicida gramínico e de palha na superfície do solo (mas na presença de raízes em decomposição), em comparação com testemunha sem presença de resíduos da parte aérea e de raízes das culturas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001	79
TABELA 4.16 - População e massa seca total de plantas daninhas avaliadas aos 20 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em função da presença ou não de palha na superfície do solo e de espécies daninhas gramíneas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001	80
TABELA 4.17 - Densidade total de plantas daninhas aos 21 e 56 dias Após a movimentação da palha (DAM), em função da presença ou não de cobertura morta na superfície do solo e genótipos/espécies de plantas cultivadas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.....	81
TABELA 4.18 - Massa seca de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL) e <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) em função dos fatores genótipos/espécies, presença ou não de palha na superfície do solo e do uso de herbicida gramínico. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.....	81
TABELA 5.1 - Substâncias utilizadas como referência para estimar o coeficiente de partição de sorgo/leão, seus respectivos $\log k_{ow}$'s e comprimentos de onda usados para sua detecção em HPLC. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002	89

TABELA 5.2 - Composição química e textural do solo utilizado na sorção de sorgoleone. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.....	90
TABELA 5.3 - Composição da solução nutritiva utilizada no experimento de exsudação de sorgoleone. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002	93
TABELA 5.4 - Análise qualitativa da solubilização de sorgoleone em diferentes combinações de metanol:água (MeOH:H ₂ O). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001	95
TABELA 5.5 - Tempos de retenção em HPLC das substâncias utilizadas como referências para determinação de k_{ow} , de sorgoleone. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001	95
TABELA 5.6 - Resumo da análise de variância para sorção de sorgoleone em solo Argissolo Vermelho Distrófico típico. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002	96
TABELA 5.7 - Coeficientes de partição ao solo (K_d), de partição em relação ao teor de carbono orgânico (K_{oc}), de Freundlich (K_f e $1/n$) e de correlação (r), na sorção de sorgoleone em Argissolo Vermelho Distrófico típico em dois sistemas de solventes. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001/2002.....	97
TABELA 5.8 - Concentrações de sorgoleone em resposta a períodos de desenvolvimento das plantas de sorgo e local de coleta, em experimento em solução nutritiva. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.....	101
TABELA 5.9 - Concentrações de sorgoleone nos tecidos das raízes, aos 5 e 13 dias após a semeadura do genótipo de sorgo BR 304. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999 e 2002	103

RELAÇÃO DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - Estrutura de sorgoleone na forma oxidada {2 hidroxi-5	
--	--

metoxi-3-[(8'z, 11'z) – pentadeca – 8', 11', 14' –trien–1–il]
- p - benzoquinona}..... 23

- FIGURA 2.2 - Determinação do espectro de absorvância na região do ultravioleta (UV), dos extratos purificados em coluna, em suas formas reduzida e oxidada. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001..... 24
- FIGURA 2.3 - Cromatograma típico de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo purificados por cromatografia em coluna, indicando os picos de cinco substâncias. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001..... 25
- FIGURA 2.4 - Distribuição de frequência de genótipos de sorgo em cinco categorias de produção de extratos por 100 radículas em laboratório. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000..... 29
- FIGURA 3.1 - Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da radícula de plântulas de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002..... 40
- FIGURA 3.2 - Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da parte aérea de plântulas de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002..... 42
- FIGURA 3.3 - Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de Radículas de sorgo sobre o comprimento da radícula de plântulas de *Bidens* sp. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.... 43
- FIGURA 3.4 - Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da parte aérea de plântulas de *Bidens* sp. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.... 43

- FIGURA 3.5 - Germinabilidade de alface em resposta a ação de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea das cultivares de sorgo BR 304, BR 601, RS 11, da cultivar Comum de milho e da testemunha 46
- FIGURA 3.6 - Índice de velocidade de germinação (IVG) de alface em resposta a ação de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea das cultivares de sorgo BR 304, BR 601, RS 11, da cultivar Comum de milho e da testemunha. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001..... 48
- FIGURA 3.7 - Comprimento da radícula de alface em resposta a ação de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea das cultivares de sorgo BR 304, BR 601, RS 11, da cultivar Comum de milho e da testemunha. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001..... 51
- FIGURA 3.8 - Comprimento da parte aérea de alface em resposta a ação de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea das cultivares de sorgo BR 304, BR 601, RS 11, da cultivar Comum de milho e da testemunha. UFRGS, Porto

Alegre, RS, 2001.....	52
FIGURA 4.1 - Infestações de <i>Brachiaria plantaginea</i> (BRAPL) e <i>Sida rhombifolia</i> (SIDRH) emergidas em três genótipos de sorgo e um de milho, na ausência de palha das culturas sobre a superfície do solo. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.....	70
FIGURA 4.2 - Densidade populacional de <i>Brachiaria plantaginea</i> , <i>Sida rhombifolia</i> e total, em função de níveis crescentes de palha sobre o solo, aos 22 e 50 dias após a sua movimentação (DAM), na média dos genótipos BR 304 e BR 601. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.....	73
FIGURA 5.1 - Relação entre os tempos de retenção (TR's) das substâncias utilizadas como referência para estimação do k_{ow} de sorgoleone, e de seus respectivos coeficientes de partição. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.....	96
FIGURA 5.2 - Relação entre quantidades sorvidas e concentração de equilíbrio de sorgoleone nos sistemas de solventes compostos por MeOH:H ₂ O e MeOH. UFRGS, Porto Alegre (RS), 2001.....	98

1. INTRODUÇÃO GERAL

Nas comunidades vegetais, as plantas podem interagir de forma positiva, negativa ou neutra. Interferência é o termo geral para interações entre espécies ou entre populações dentro de uma espécie. Ela representa o efeito da presença de um organismo sobre o desenvolvimento de seus vizinhos vegetais, resultante de uma alteração no ambiente (Radosevich et al., 1997).

As interações entre organismos são fundamentais para a determinação da abundância e padrão de distribuição das espécies na comunidade, da produtividade de várias espécies cultivadas e do grau de interferência sobre plantas daninhas (Kil & Yim, 1983; Rice, 1984). Na ecologia vegetal, competição e alelopatia estão entre as formas de interferência negativa mais estudadas.

1.1. Definições de alelopatia

Uma definição clássica atribui à alelopatia as interações planta a planta, incluindo também microorganismos, que podem resultar em efeitos inibitórios ou estimulatórios (Rice, 1984). Esta definição foi ampliada mais recentemente, sendo proposto que a alelopatia faz parte de uma rede de comunicação química entre organismos, contribuindo para a defesa das plantas (Lovet & Ryuntyu, 1992; Rizvi & Rizvi, 1992). Conforme definição adotada pela Sociedade Internacional de Alelopatia, este fenômeno trata de qualquer processo envolvendo metabólitos secundários ou agentes biológicos que influenciem o crescimento e o desenvolvimento de sistemas biológicos (Saxena et al., 1996a).

1.2. Diferenciação entre alelopatia e competição

A competição é caracterizada pelo efeito mutuamente adverso de organismos que utilizam recursos limitados, enquanto alelopatia é considerada um tipo de

amensalismo, em que somente um organismo é afetado, enquanto outro permanece estável (Radosevich et al., 1997).

Alelopatia pode ser diferenciada de competição porque, na primeira forma de interferência, há liberação de uma substância no meio, enquanto no segundo caso é a falta de fatores de produção, tais como água, luz e nutrientes, que produz efeitos sobre os organismos. No entanto, vários autores têm observado dificuldades em separar estes dois fenômenos a campo (Dekker et al., 1983; Fuerst & Putnam, 1983; Weidenhamer et al., 1989; Nilsson, 1994). Efeitos alelopáticos pouco intensos no estágio de plântula podem ser superestimados ou revertidos pelo efeito competitivo (Trembath, 1974 apud Weidenhamer, 1996).

Muitos metabólitos secundários, como substâncias fenólicas e terpenóides, são capazes de influenciar o ciclo de nutrientes, aumentando ou reduzindo a disponibilidade destes em sistemas terrestres e aquáticos (Inderjit et al., 1999). O estresse nutricional pode levar diretamente à interferência competitiva e, também, pode ocasionar aumento da produção de substâncias alelopáticas em plantas cultivadas ou em plantas daninhas (Rice, 1984; Klein & Blum, 1990). Esta reciprocidade de ações entre competição e alelopatia dificulta e, praticamente, inviabiliza a separação destes fenômenos a campo (Inderjit & Del Moral, 1997; Dakshini et al., 1999). Contudo, para uma determinada quantidade de substância alelopática, o aumento da densidade de plantas-alvo diminui o efeito alelopático, embora aumente a interferência por competição (Weidenhamer et al., 1989), o que possibilita a distinção entre os dois fenômenos em condições controladas.

1.3. Provas da existência de alelopatia

Tem havido preocupação com a forma com que as pesquisas sobre alelopatia são conduzidas, especialmente pela falta de metodologias e técnicas experimentais adequadas que permitam uma investigação mais aprofundada do processo alelopático (Inderjit & Dakshini, 1999). Embora o isolamento de compostos altamente ativos seja uma realidade em um grande número de casos, dados quantitativos sobre a liberação de aleloquímicos no solo são muito difíceis de se obter (Weidenhamer, 1996). Isto contribui para o ceticismo em relação à existência de alelopatia em agro e ecossistemas, fato revelado por muitos cientistas (Patterson, 1986; Schmidt, 1988; Dalton, 1989; Yenish et al., 1995).

Uma adaptação do postulado de Koch, utilizado em microbiologia, foi proposta por Fuerst & Putnam (1983), para que fosse provada uma hipótese de alelopatia. Esta adaptação incluiria os seguintes passos: (a) identificação e quantificação dos sintomas; (b) isolamento, identificação e síntese da substância e caracterização de sua atividade biológica; (c) obtenção de sintomas similares com a simulação da aplicação da substância; (d) quantificação da liberação da substância no ambiente e de sua absorção pela planta alvo. Trabalhos desenvolvidos por Pratley et al. (1999), caracterizando a alelopatia de *Vulpia* spp., planta daninha comum em pastagens na Austrália, estabelecem um protocolo que se aproxima bastante das exigências do postulado de Koch, indicando diferentes compostos responsáveis pelo fenômeno alelopático e sua dinâmica no ambiente. No entanto, embora as vantagens da aplicação destas exigências sejam claras, a necessidade de investimentos vultuosos e de períodos experimentais longos têm dificultado a execução do postulado em sua plenitude, especialmente seus dois últimos passos.

1.4. Substâncias alelopáticas: produção pelas plantas e grupos envolvidos

Substâncias químicas com potencial alelopáticos podem estar presentes em todos os tecidos vegetais (Putnam, 1987). Sua presença varia em quantidade e qualidade e de espécie para espécie. As quantidades de substâncias potencialmente alelopáticas produzidas variam de um local de ocorrência ou estágio de

desenvolvimento para outro, pois sua síntese sofre a influência de fatores genéticos e de ambiente, bióticos e abióticos (Almeida, 1988; Einhellig, 1996; Ferreira & Aquila, 2000).

A melhor maneira de se descrever a natureza química das substâncias alelopáticas é a sua diversidade, pois varia desde simples hidrocarbonetos, como o etileno, até compostos complexos, como os policíclicos, com pesos moleculares bastante elevados (Putnam, 1987). Conforme sua similaridade química e vias de síntese, Rice (1984) estabeleceu 14 categorias de compostos alelopáticos: taninos hidrolisáveis, ácidos gálico, digálico e protocatecuico; aminoácidos e polipeptídeos; alcalóides e cianohidrinias; óleos glicosídeos de mostarda; purinas e nucleotídeos; fenóis simples, ácido benzóico e derivados; cumarinas; flavonóides; taninos condensados; ácidos orgânicos solúveis em água, aldeídos alifáticos e cetonas; lactonas simples insaturadas; ácidos graxos de cadeia longa; naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas; terpenóides e esteróides.

Terpenóides e ácidos fenólicos são categorias de compostos alelopáticos mais comumente associadas à alelopatia. Fatores apontados para isto são a habilidade dos investigadores e as facilidades analíticas em laboratórios para isolar e identificar determinados compostos, o menosprezo a compostos que se encontram em menores concentrações (Inderjit & Dakshini, 1999; Dalton, 1999) e o pequeno número de substâncias analisadas para uso potencial, em relação aos milhares de compostos naturais anualmente identificados (Ferreira & Aquila, 2000). Recentes avanços na química de produtos naturais, através da utilização de técnicas modernas de extração, isolamento, purificação e de identificação, têm contribuído

para o conhecimento mais acurado dos compostos secundários (Waller et al., 1999; Rimando et al., 2001).

Para que um composto seja considerado potencialmente hábil para exercer alelopatia, basta que sua solubilidade exceda a concentração necessária para atividade biológica (Weidenhamer et al., 1993). Como, freqüentemente, a inibição no desenvolvimento de plantas, causada por alelopatia, é resultante de vários compostos (Einhellig, 1996), é recomendável a condução de bioensaios com utilização de todos os compostos identificados, isoladamente e em mistura.

1.5. Efeitos alelopáticos em laboratório e no campo

As substâncias alelopáticas podem ser liberadas no ambiente através dos processos de volatilização, lixiviação, exsudação radicular e de decomposição microbiana. As taxas de liberação destas substâncias dependerão de sua forma de liberação, de sua concentração nos tecidos e das condições de ambiente.

O efeito alelopático das substâncias após liberação no solo é, geralmente, muito menor do que o impacto gerado em ensaios conduzidos em laboratório. Por exemplo, a concentração do éster de dehidromatricária (composto alelopático produzido por *Solidago altissima*) necessária para reduzir em 50% o desenvolvimento de plântulas de arroz foi 20 vezes maior no solo do que em meio de cultura com ágar (Ito et al., 1998). Também, extratos de folhas de *Trichostema lanceolatum*, muito fitotóxicos em ensaios em placas de petri, produziram pequeno efeito quando adicionados ao solo (Heisey & Delwiche, 1985).

As diferenças produzidas nestas situações têm conduzido a recomendações como: “Qualquer teste destinado a compostos alelopáticos em meio artificial que não leve em conta fatores físicos,

químicos e biológicos do solo não ajuda a prever seu potencial alelopático na natureza” (Inderjit & Weston, 2001).

1.6. Substâncias alelopáticas: comportamento no ambiente

As diferenças observadas entre situações de laboratório e de campo ocorrem porque, para que haja manifestação de alelopatia, primeiramente a substância deve ser liberada ou transformada e, posteriormente, acumulada em concentração que propicie o efeito inibitório. A liberação da substância não garante fitotoxicidade porque, a exemplo dos herbicidas, elas estão sujeitas aos processos de retenção, transporte e transformação, que determinam sua dinâmica no solo (Cheng, 1992). Dentre estes processos, assumem importância destacada os fenômenos de adsorção ao solo e degradação microbiana.

Em geral, os compostos alelopáticos estão sujeitos à adsorção tanto às frações minerais quanto às frações da matéria orgânica dos solos (Schmidt & Ley, 1999). Solos com elevados teores de matéria orgânica ou de argila geralmente retêm mais compostos alelopáticos do que solos arenosos (Dalton et al., 1989). O tipo de argila e o teor de óxidos de ferro e alumínio podem influenciar a habilidade do solo em adsorver substâncias fenólicas (Huang et al., 1977).

As substâncias derivadas do metabolismo primário das plantas são rapidamente degradadas pelos microrganismos do solo, enquanto os metabólitos secundários são destruídos mais lentamente, em função de sua natureza mais complexa (Waller et al., 1999). Esta generalização não é compartilhada por De Scisciolo et al. (1990), que observaram que juglona, uma quinona exsudada por plantas de noqueira (*Juglans nigra*), serve como fonte de rápida disponibilidade de carbono para os microrganismos do solo. No entanto, algumas substâncias são transformadas por microrganismos em

formas mais tóxicas do que o composto original, como é o caso da transformação de 2,3-benzoxazolinona (BOA) em 2,2'-oxo-1,1'-azobenzeno (AZOB) (Nair et al., 1990). Desta forma, fica claro a importância do estudo do comportamento no ambiente tanto da substância liberada na sua forma original, quanto dos metabólitos gerados.

A maior afinidade dos microrganismos com as substâncias alelopáticas e sua melhor distribuição no solo, capacita-os a metabolizá-las mais rapidamente do que as raízes das plantas (Blum, 1999; Schmidt & Ley, 1999). Desta forma, a maior recalcitrância dos compostos alelopáticos é altamente desejável para a manifestação do fenômeno alelopático.

A aproximação espacial entre planta produtora do composto alelopático e planta alvo também otimiza o aproveitamento dos aleloquímicos antes que eles sejam inativados no solo. Por exemplo, o desenvolvimento de plantas de *Ambrosia dumosa* foi inibido quando as raízes de plantas diferentes se tocaram, mas não houve inibição quando houve contato entre raízes da mesma planta (Mahall & Callaway, 1992). Como muitas substâncias são rapidamente inativadas por microrganismos quando em contato com o solo, a chance de ocorrer interação alelopática aumenta quando aquelas são liberadas nas proximidades ou em contato com a planta alvo.

1.7. Estratégias para usar alelopatia no manejo de plantas daninhas

Das possíveis estratégias envolvendo alelopatia no manejo de plantas daninhas, podem-se destacar a utilização de espécies de cobertura morta e de espécies com maior potencial alelopático e a seleção de genótipos com maior potencial alelopático.

1.7.1. Uso de espécies de cobertura morta

O uso de coberturas mortas (restos vegetais) é a estratégia empregada com maior êxito na agricultura. O manejo de plantas daninhas através do uso de coberturas vegetais tem se intensificado pela possibilidade de redução dos custos de produção dos produtos agrícolas. Além disso, é crescente a preocupação com o impacto negativo de substâncias químicas sintéticas no ambiente. A grande maioria dos compostos naturais apresenta pequena persistência no ambiente e pouca ameaça à saúde humana (Rizvi & Rizvi, 1992).

A manutenção dos resíduos culturais na superfície do solo faz com que sejam degradados mais lentamente do que quando incorporados, devido ao menor contato com a superfície do solo, o que resulta em liberação mais lenta das substâncias alelopáticas (Almeida, 1988). Desta forma, quando os resíduos culturais são incorporados ao solo são esperados efeitos alelopáticos mais intensos no início do ciclo de plantas em sucessão, enquanto quando os resíduos são mantidos na superfície, os efeitos manifestam-se em estádios de desenvolvimento mais avançados (Roth et al., 2000).

Associados aos possíveis efeitos alelopáticos gerados pela presença da palha na superfície do solo, outros efeitos químicos, físicos e biológicos são determinantes na supressão da germinação e no desenvolvimento de plantas daninhas no sistema de semeadura direta, isto é, sem revolvimento do solo. Dentre os processos físicos mais importantes, estão as reduções na passagem de radiação solar e na amplitude térmica na camada superficial do solo (Aase & Tanaka, 1991; Teasdale & Mohler, 1993; Vidal, 1995). Além da interação alelopática, os efeitos químicos/biológicos das

coberturas mortas compreendem mudanças no pH e na dinâmica de nutrientes no solo (Da Ros & Aita, 1996; Argenta et al., 1999). Vários trabalhos indicam que, à medida em que são aumentados os níveis de palha na superfície do solo, a magnitude dos efeitos é elevada, o que resulta em redução progressiva da infestação de plantas daninhas (Vidal & Bauman, 1996; Theisen et al., 2000). A manifestação conjunta dos efeitos é referida como co-linearidade (Inderjit & Dakshini, 1995). Em função dos múltiplos fatores envolvidos, é difícil isolar-se o papel da alelopatia na supressão de plantas daninhas por coberturas mortas.

1.7.2. Utilização de espécies de plantas cultivadas com maior potencial alelopático

Inúmeras espécies cultivadas são utilizadas como plantas para cobertura do solo, verde ou morta, com objetivo de reduzir a infestação de plantas daninhas. São atribuídos efeitos alelopáticos a espécies cultivadas, tais como: alfafa, batata-doce, centeio, cevada, ervilhaca, girassol, linhaça, nabo forrageiro, rabanete, sorgo, trevos e trigo (Narwall, 1999).

1.7.2.1. Redução da infestação de plantas daninhas com sorgo

Várias espécies de sorgo, incluindo sorgo-de-alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.), *S. vulgare* Pers., sorgo sudanense (*S. sudanense* (Piper) Stapf.) e sorgo granífero (*S. bicolor* (L.) Moench) apresentam interferência alelopática ao desenvolvimento de plantas daninhas e de culturas (Einhellig & Souza, 1992). Na região Sul dos Estados Unidos, agricultores freqüentemente utilizam híbridos de sorgo 'Sudex' (*S. bicolor* x *S. sudanense*) como cobertura verde ou de solo para prevenir a erosão e para reduzir a infestação de plantas daninhas (Weston, 1996). Sorgo granífero e sudanense são referidos como úteis em suprimir o desenvolvimento de plantas daninhas em pomares

(Putnam et al., 1983). A cobertura morta de sorgo é capaz de reduzir o desenvolvimento de plantas daninhas infestantes de culturas em sucessão (Forney & Foy, 1985; Einhellig & Rasmussen, 1989).

Experimentos realizados em laboratório e em casa de vegetação tentam explicar o efeito das coberturas mortas de sorgo. Extratos aquosos de plantas de sorgo são capazes de inibir o desenvolvimento de espécies cultivadas como o trigo (Ben-Hammonda et al., 1995a; Ben-Hammonda et al., 1995b). Efeitos alelopáticos de plântulas de sorgo são observados quando estas crescem em placas de petri, juntamente com espécies de plantas daninhas em processo de germinação (Panasiuk et al., 1986; Hoffman et al., 1996). Quando plantas daninhas são colocadas em proximidade a plantas de sorgo, em condição de casa de vegetação, observa-se redução na massa seca, em comparação com as conduzidas em monocultura (Panasiuk et al., 1986).

1.7.2.2. Substâncias alelopáticas em plantas de sorgo

As plantas de sorgo liberam tanto substâncias químicas solúveis em água, quanto outras com características hidrofóbicas, possivelmente responsáveis pelos efeitos alelopáticos anteriormente referidos.

Resíduos de sorgo em decomposição liberam quantidades expressivas dos ácidos ferúlico, vanílico, siríngico, p-hidroxibenzóico e, especialmente, p-cumárico (Guenzi & McCalla, 1966). Também, produzem e liberam glicosídeos cianogênicos, como durrina, e compostos fenólicos (ácido p-hidroxibenzóico e p-hidroxibenzaldeído) derivados destes glicosídeos (Nicollier et al., 1983; Weston et al., 1999). A produção de ácidos fenólicos também está relacionada à degradação de taninos (polifenóis), sendo esta extremamente variável em função da cultivar considerada e do estágio de desenvolvimento das plantas (Ben-Hammonda et al., 1995b).

Extratos hidrofóbicos da rizosfera de plantas de sorgo 'Sudex', desenvolvidas em meio hidropônico, foram tóxicos às plantas de azevém e de alfafa, enquanto extratos hidrofílicos da rizosfera não produziram tais efeitos (Forney & Foy, 1985). Foram isoladas de raízes de sorgo granífero um grupo de benzoquinonas estruturalmente relacionadas, os principais constituintes exsudados por raízes de sorgo e facilmente extraídos com uma mistura de diclorometano e pequena

quantidade de ácido acético (Netzley & Butler, 1986). A principal benzoquinona, denominada sorgoleone, apresenta-se sob duas formas químicas. A forma dihidroquinona da molécula de sorgoleone é instável e rapidamente oxidada à quinona {2-hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z, 11'z)-8', 11', 14'-pentadecatrieno]-p-benzoqui-nona}, a forma estável da molécula (Netzley & Butler, 1986). Tanto a forma reduzida (dihidroquinona) quanto a forma oxidada (quinona), são exsudadas por raízes vivas (Fate et al., 1990), embora a forma oxidada represente 90% dos extratos totais (Weston et al., 1999).

Devido ao seu caráter hidrofóbico, sorgoleone é insolúvel em água e, provavelmente, sofre forte adsorção ao solo, o que compromete sua ação a campo (Hess et al., 1992). Estudos mostraram que sorgoleone é um forte inibidor da respiração mitocondrial (Rasmussen et al., 1992) e, também, do transporte de elétrons do fotossistema II, atuando no mesmo local de ação dos herbicidas atrazine e diuron (Einhellig & Souza, 1992; Nimbale et al., 1996; Gonzalez et al., 1997).

Em testes conduzidos em laboratório e em casa de vegetação, sorgoleone inibiu o desenvolvimento de plântulas de *Abutilon theophrastii* Medik., *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. , *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. (Nimbale et al., 1996), caruru (*Amaranthus retroflexus* L., trigo e soja (Souza et al., 1999), mas mostrou seletividade para *Ipomoea hederacea* (L.) Jacq. (Nimbale et al., 1996) e menor toxicidade para feijoeiro (Souza et al., 1999). Quatro plantas de sorgo cultivadas por período de 30 dias em um sistema circulador ('stair-step') produziram substâncias alelopáticas em quantidade suficiente para reduzir a área foliar de alface em 60% (Barbosa et al., 1998b).

1.7.3. Seleção de genótipos com maior potencial alelopático

O efeito alelopático de determinada espécie vegetal depende do genótipo utilizado. Grandes esforços têm sido empreendidos para identificar genótipos com capacidade superior de produção de compostos alelopáticos, sem contudo resultar em lançamento de cultivares com características superiores (Ollofsdotter & Mallik, 2001). A análise de 526 genótipos de pepino indicou que um genótipo inibiu em 87% o desenvolvimento de *Panicum milliaceum* L., enquanto outros 25 inibiram em

50% o desenvolvimento daquela espécie (Putnam & Duke, 1974). A análise de genótipos de girassol (Leather, 1983), soja (Rose et al., 1984) e de arroz (Ollofsdotter, 2001a) também identificaram variação do efeito alelopático. Da mesma forma, testes com genótipos de sorgo indicaram capacidade diferenciada em reduzir a infestação de plantas daninhas (Alsaadawi et al., 1986).

A capacidade diferencial de genótipos em suprimir o desenvolvimento de plantas daninhas deve-se, em grande parte, às variações na produção de compostos alelopáticos. A análise de 3000 genótipos de aveia indicou que 25 materiais apresentavam teores elevados de escopoletina (Fay & Duke, 1977). No Brasil, de 20 genótipos de aveia testados, quatro apresentaram elevada produção de escopoletina, o que lhes determinou maior capacidade alelopática sobre papuã (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.) (Jacobi, 1997). Em relação à produção do composto sorgoleone, a variabilidade entre genótipos parece ser detectada apenas quando há número suficiente de genótipos envolvidos na comparação. Avaliando coleções de doze (Hess et al., 1992) e dez (Rodrigues et al., 2001) cultivares de sorgo, os autores verificaram, respectivamente, pequena e ausência de variação na produção total de sorgoleone. Variações consideráveis nas quantidades totais desta substância foram obtidas quando foram testados 25 genótipos de sorgo (Nimbal et al., 1996).

1.8. Hipóteses e objetivos do trabalho

No Capítulo I, testou-se a hipótese que existe variabilidade genética na produção total e na concentração de extratos hidrofóbicos contendo sorgoleone, em radículas de sorgo. No Capítulo II, a hipótese investigada foi de que extratos de natureza hidrofóbica de raízes e extratos de natureza hidrofílica produzidos por raízes e pela parte aérea de sorgo são tóxicos a espécies cultivadas e daninhas. No Capítulo III, foram investigadas duas hipóteses: que os genótipos de sorgo com maior produção de sorgoleone em laboratório exercem maior supressão de plantas daninhas a campo; e, que as cultivares mais tóxicas no experimento com extratos hidrofílicos em laboratório são as mais alelopáticas em nível de campo. No Capítulo IV, hipotetizou-se que ocorre elevada sorção de sorgoleone em argissolo e baixa disponibilidade de sorgoleone em solução nutritiva.

O presente trabalho teve como meta contribuir para um melhor entendimento do papel da alelopatia na cultura do sorgo. Para isto, foram propostos os seguintes objetivos: determinar a existência de variabilidade entre genótipos quanto à produção de extratos hidrofóbicos em raízes de sorgo; estabelecer relação entre a produção diferencial de sorgoleone entre genótipos de sorgo em laboratório e a supressão de plantas daninhas a campo; estabelecer relação entre efeitos de extratos hidrofílicos de genótipos de sorgo em laboratório e a supressão de plantas daninhas a campo; verificar a importância de fatores limitantes da ação da substância sorgoleone em nível de campo.

2. CAPÍTULO I - PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SORGOLEONE E SUA QUANTIFICAÇÃO EM GENÓTIPOS DE SORGO

2.1. INTRODUÇÃO

Plantas cultivadas produzem metabólitos secundários capazes de gerar efeitos sobre o desenvolvimento de plantas daninhas (Rice, 1984; Putnam, 1987; Ferreira & Aquila, 2000). A campo, os efeitos alelopáticos são freqüentemente confundidos com outros tipos de interferência entre plantas e com outros efeitos

gerados por fatores físicos, químicos e biológicos, devido à presença das plantas ou de material em decomposição sobre o solo.

O isolamento, caracterização e quantificação de substâncias com potencial alelopático são fundamentais para determinação de sua atividade biológica individual ou em conjunto com outras substâncias.

O primeiro passo para o isolamento de uma substância vegetal é a obtenção da matéria-prima, que pode ser coletada diretamente dos tecidos ou do meio em que as plantas se encontram. A obtenção de substâncias diretamente das plantas pode envolver a produção de extratos, através da extração de substâncias presentes em seus tecidos com solventes (orgânicos ou água), ou mesmo pela coleta de compostos liberados por partes de plantas, como raízes (exsudatos). No processo de extração com solventes também ocorre a separação química de substâncias, em que é considerada fundamentalmente a polaridade dos solventes, variável desde compostos bastante apolares, como hexano, até compostos mais polares, como n-butanol (Putnam, 1987).

A separação e purificação das substâncias pode ser feita com base no tamanho molecular, carga ou características adsorptivas das mesmas, sendo utilizados para isso vários métodos cromatográficos, como cromatografia em camada delgada (TLC, em papel ou placa), em coluna, líquida de alto desempenho (HPLC) e gasosa (GC) (Marini-Bèttolo et al., 1981; Waller et al., 1999). Técnicas complementares à cromatografia, como as espectrometrias de ultravioleta (UV) e infravermelho, de massa (MS) e de ressonância magnética (NMR), constituem hoje ferramentas fundamentais à caracterização de substâncias alelopáticas (Waller et al., 1999).

Entre as principais vias pelas quais as plantas podem exercer efeitos alelopáticos inclui-se a liberação de compostos tóxicos pelas raízes (Whittaker & Feeny, 1971; Rice, 1979). A partir de extratos obtidos pela imersão de radículas de sorgo em uma mistura de diclorometano e um pouco de ácido acético, Netzly et al. (1988) foram os primeiros a isolar um grupo de cinco benzoquinonas estruturalmente relacionadas. Neste estudo, a benzoquinona com menor tempo de retenção em HPLC foi a predominante nos extratos. Chang et al. (1986) identificaram-na como sorgoleone {2-hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z,11'z)-8',11',14'-pentadecatrieno]-p-benzoquinona}. A forma oxidada desta molécula representa 90% dos extratos totais (Weston et al., 1999) e é mais estável no ambiente do que a forma reduzida (Netzly et al., 1988; Fate et al., 1990).

O interesse de pesquisadores em aproveitar o potencial de sorgoleone no manejo de plantas daninhas levou à busca de variabilidade entre genótipos. Invariavelmente, estes trabalhos têm sido baseados na quantificação gravimétrica dos extratos secos após a extração com mistura de diclorometano e ácido acético. Assim, ao avaliarem doze (Hess et al., 1992) e dez (Rodrigues et al., 2001) genótipos de sorgo, estes pesquisadores verificaram ausência de variabilidade entre eles na produção total de sorgoleone. A produção de sorgoleone, no entanto, é sensível às condições de ambiente, particularmente à quantidade de água disponível para as radículas no substrato (Hess et al., 1992). Variações consideráveis nas quantidades totais de extratos foram obtidas por Nimbal et al. (1996), ao testarem 25 genótipos de sorgo, indicando aumentar a chance de detecção de variabilidade genética com o aumento do número de genótipos testados. Além da variação nas quantidades totais

de sorgoleone, Nimbal et al. (1996) também detectaram variações em sua proporção nos extratos (pureza), entre 76 e 99%.

Os objetivos deste estudo foram: purificar e indentificar o composto predominante em extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo e determinar a variabilidade de produção e a pureza de sorgoleone em genótipos de sorgo.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Procederam-se, inicialmente, a purificação e identificação da substância sorgoleone. Posteriormente, a partir de padrão purificado, quantificou-se sorgoleone em genótipos de sorgo.

Purificação e identificação de sorgoleone

A purificação de uma mistura de extratos de natureza hidrofóbica contendo sorgoleone, originados por extração com diclorometano e ácido acético de radículas de 41 genótipos de sorgo, foi realizada por cromatografia em placa e, posteriormente, em coluna.

Na cromatografia em placa, utilizou-se placa de vidro de 20 x 10 cm, recoberta com uma camada de 1 mm de espessura de sílica gel (Merck Kieselgel 60) e pré-condicionada em estufa a 100 °C por 12 horas. O extrato contendo sorgoleone foi dissolvido previamente em diclorometano e submetido ao desenvolvimento ascendente na placa, em fase móvel contendo metanol:éter etílico (2:98 v/v). A banda predominante no centro da placa, de coloração rósea, foi removida com espátula e os compostos aderidos à sílica foram extraídos com diclorometano (50 ml)

e filtrados a vácuo, em papel filtro comum. O solvente foi posteriormente evaporado em evaporador rotatório. Este procedimento foi realizado apenas uma vez.

Na cromatografia em coluna, utilizou-se uma coluna de vidro com 1,5 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento, preenchida com sílica gel (Merck, 60 malhas 60 Å), pré-condicionada com clorofórmio. Doze horas após o condicionamento, uma mistura de sílica e dos extratos radiculares contendo sorgoleone foi colocada no topo da coluna e submetida ao fracionamento, utilizando-se clorofórmio:acetona (96:4 v/v) como eluente. A banda predominante, com coloração rósea, foi coletada, filtrada a vácuo com papel filtro comum e evaporada em evaporador rotatório. Este procedimento foi realizado apenas uma vez.

Ressonância magnética de prótons (RMN-H), espectrometria em UV e cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) foram utilizadas para identificar quimicamente os compostos obtidos após os processos de purificação. Nas análises de espectrometria em UV e HPLC, as amostras foram diluídas em metanol, enquanto em RMN-H utilizou-se clorofórmio deuterado como solvente. As análises de espectrometria em UV e de RMN-H foram realizadas apenas uma vez, enquanto as análises de HPLC foram realizadas em triplicata.

A espectrometria em UV foi processada em espectrofotômetro marca Genesys 2 (Spectronic Instruments), com variação do comprimento de onda de 200 a 1100 nm. A análise de RMN-H foi realizada em equipamento marca Varian (modelo VXR200), em frequência de 200 MHz. A análise de HPLC foi processada em equipamento Shimadzu LC-10AD, sob as seguintes condições: detector UV a 280 nm; coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm); 'loop' de injeção com capacidade de 50 µl; temperatura do forno de 30°C; fase móvel

acetonitrila:água:ácido acético glacial (75:18,7:6,3 v/v) em fluxo de 2,0 mL.min⁻¹. A fase móvel e as amostras foram filtradas em membranas de 'nylon' de 0,45 µm de diâmetro.

Quantificação de extratos radiculares hidrofóbicos e determinação da pureza de sorgoleone

Experimento foi conduzido em laboratório na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para avaliar a produção de extratos radiculares hidrofóbicos por 41 genótipos de sorgo, provenientes de empresas públicas e privadas. Sementes de cada genótipo foram dispostas em placas de petri revestidas com papel filtro umedecido com água destilada e colocadas em câmara de germinação a 29°C por 5 dias, no escuro. Após a germinação, 200 radículas de cada genótipo foram destacadas das plântulas e mergulhadas por 20 s em solução de 10 mL de cloreto de metileno + 1% v/v de ácido acético glacial. O extrato coletado foi filtrado a vácuo (filtro Watmann nº 1) e então evaporado em capela à temperatura ambiente até a secagem, sendo posteriormente pesado. Para cada genótipo, este processo foi repetido quatro vezes.

Foram avaliadas as produções de extratos hidrofóbicos de 100 radículas e pela massa seca de radículas. A produção de extratos totais e sua relação com a massa seca de radículas foram submetidas à análise de variância pelo teste F e, posteriormente, comparadas pelo teste DMS. Agrupou-se os genótipos em classes de produção de extratos hidrofóbicos, conforme a média e 0,9 desvio padrão da mesma, e determinando-se a freqüência de distribuição de genótipos em cada classe. Testou-se a significância da distribuição normal dos dados de produção de

sorgoleone entre as classes de produção pelo teste χ^2 , utilizando-se o programa Origin.

Cinco genótipos, pertencentes a cada uma das classes de produção de extratos hidrofóbicos por 100 radículas, foram selecionados para a determinação da pureza relativa de sorgoleone nos extratos, através de HPLC, conforme descrito anteriormente. Para cada genótipo, primeiramente, foi determinada a pureza relativa de sorgoleone em relação aos demais compostos presentes no cromatograma, através do quociente entre a área do pico de sorgoleone e as dos demais compostos. Foi estimada, também, a eficiência de purificação da cromatografia em coluna, através do quociente entre a área do pico de sorgoleone oxidado do extrato purificado, em relação às áreas dos picos deste composto nos cinco genótipos de sorgo. Estas determinações tiveram como referência a concentração de 5 ppm. Procedeu-se análise de variância pelo teste F da pureza relativa em relação ao somatório das áreas e as médias foram posteriormente comparadas pelo teste DMS.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Purificação e identificação

A análise de RMN-H (descrita a seguir) das substâncias resultantes da purificação com cromatografia em placa não permitiu a identificação de uma metoxila (OCH_3) em 3,85 ppm, necessária para identificação de sorgoleone (Chang et al., 1986 e Figura 2.1) . Desta forma, não foi possível identificar como sendo sorgoleone

a substância contida nos extratos purificados por placa, ao contrário dos resultados obtidos por Barbosa et al. (1998).

RMN de ^1H da cromatografia em placa: δ (J = Hz): 1,25-1,61 (m, 1OH, 2'-CH₂ a 6' - CH₂); 1,88-2,05 (m, 2H, H7'); 2,44 (dd, J₁=J₂=7,4; H1'); 2,70-2,85 (m, 4H, H10' E H13'); 4,97 (ddt, 1H, J_{cis} = 9,80; J_{H 15' a, H15' b} = J_{H15'a, H13'} = 1,80); H 15'a); 5,01 (ddt, 1H, J_{trans} = 17,00; J_{H15'b, H15'a} = J_{H15'b, H13'} = 1,80; H15' b); 5,25-5,54 (m, 4H, H8', H9', H11', H12'); 5,67 - 5,94 (ddt, J_{trans} = 17,00; J_{cis} = 9,80; J_{14' 13'} = 6,1; H14'); 5,83 (s, 1H, H6); 7,25 (s, 1H, OH).

No entanto, os dados espectroscópicos de RMN-H (descrita a seguir) das substâncias resultantes da purificação com cromatografia em coluna confirmaram ser da forma oxidada de sorgoleone {2 hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z, 11'z)-pentadeca - 8', 11',14'-trien-1-il]-p-benzoquinona} (Chang et al., 1986) a estrutura predominante. A Figura 2.1 apresenta a fórmula estrutural de sorgoleone, na forma oxidada.

RMN de ^1H da cromatografia em coluna: δ (J = Hz): 1,25-1,61 (m, 1OH, 2'-CH₂ a 6' - CH₂); 1,88-2,05 (m, 2H, H7'); 2,44 (dd, J₁=J₂=7,4; H1'); 2,70-2,85 (m, 4H, H10' E H13'); 3,85 (s, 3H, OCH₃); 4,97 (ddt, 1H, J_{cis} = 9,80; J_{H 15' a, H15' b} = J_{H15'a, H13'} = 1,80); H 15'a); 5,01 (ddt, 1H, J_{trans} = 17,00; J_{H15'b, H15'a} = J_{H15'b, H13'} = 1,80; H15' b); 5,25-5,54 (m, 4H, H8', H9', H11', H12'); 5,67 - 5,94 (ddt, J_{trans} = 17,00; J_{cis} = 9,80; J_{14' 13'} = 6,1; H14'); 5,83 (s, 1H, H6); 7,25 (s, 1H, OH).

A coloração rósea do extrato purificado em coluna passou à alaranjada quando a ele se acrescentou uma gota de ácido clorídrico. A modificação da coloração com a mudança do pH do meio é uma característica de quinonas (Netzly & Butler, 1986).

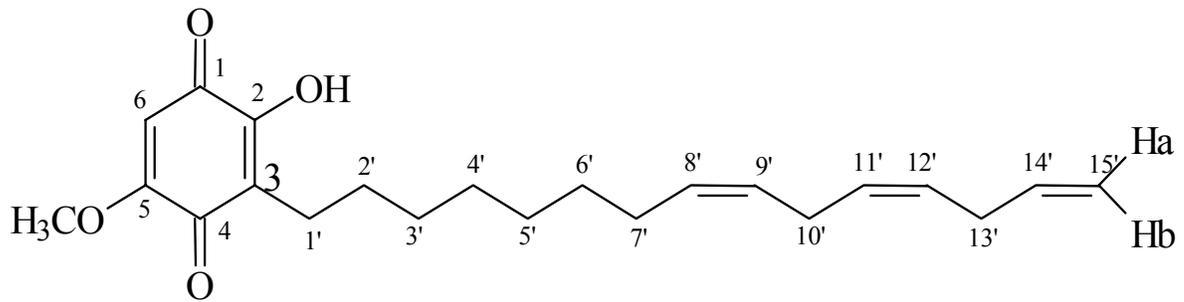
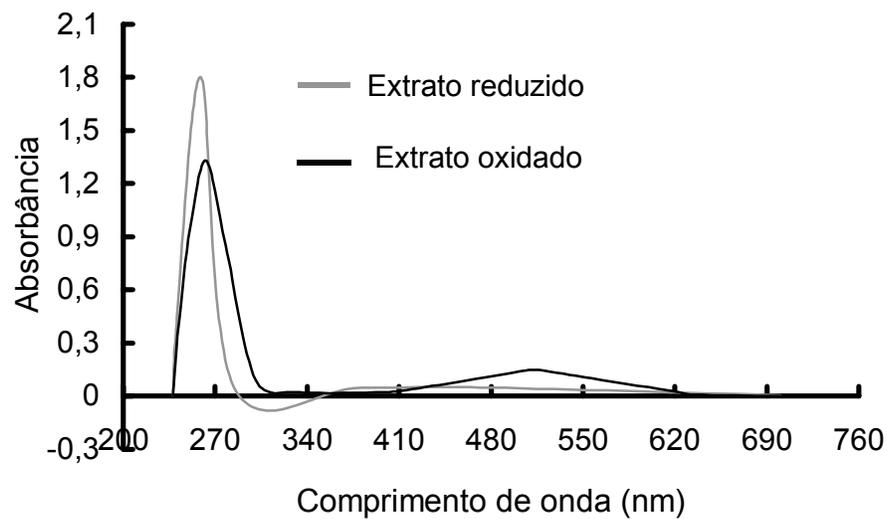


Figura 2.1. Estrutura de sorgoleone na forma oxidada {2 hidroxi-5 metoxi-3-[(8'z, 11'z) – pentadeca – 8', 11', 14' –trien-1-il] - p - benzoquinona}

A Figura 2.2 apresenta os espectros de absorvância na região do UV para os extratos de coloração alaranjada (reduzido) e rósea (oxidado). Sorgoleone na



forma reduzida (coloração alaranjada) apresentou pico de absorvância máxima próximo a 260 nm, e na forma oxidada (coloração rósea) apresentou dois picos distintos, o maior a 270 e o menor a 520 nm (Figura 2.2), confirmando as observações de Netzly et al. (1988).

Figura 2.2. Determinação do espectro de absorvância na região do ultravioleta (UV), Dos extratos hidrofóbicos purificados em coluna, em suas formas reduzida e oxidada. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

A análise por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) do extrato purificado em coluna identificou cinco picos cromatográficos, em tempos de retenção de 7,7, 10,7, 12,7, 16,5 e 30,3 min. , indicando a existência de cinco compostos distintos (Figura 2.3). Sorgoleone, na forma oxidada, foi o composto predominante, situando-se no tempo de retenção de 7,7 min., com área correspondente a 77,8 % do somatório das áreas de todos os picos cromatográficos (Tabela 2.1). A eficiência do processo de purificação, estimada através do quociente entre a área do pico de sorgoleone oxidado do extrato purificado, em relação ao pico deste composto em cinco genótipos de sorgo (Tabela 2.2.), variou entre 1,19 e 1,45. Este extrato purificado em coluna, tendo como estrutura principal sorgoleone, passou a ser utilizado como padrão de referência para este composto.

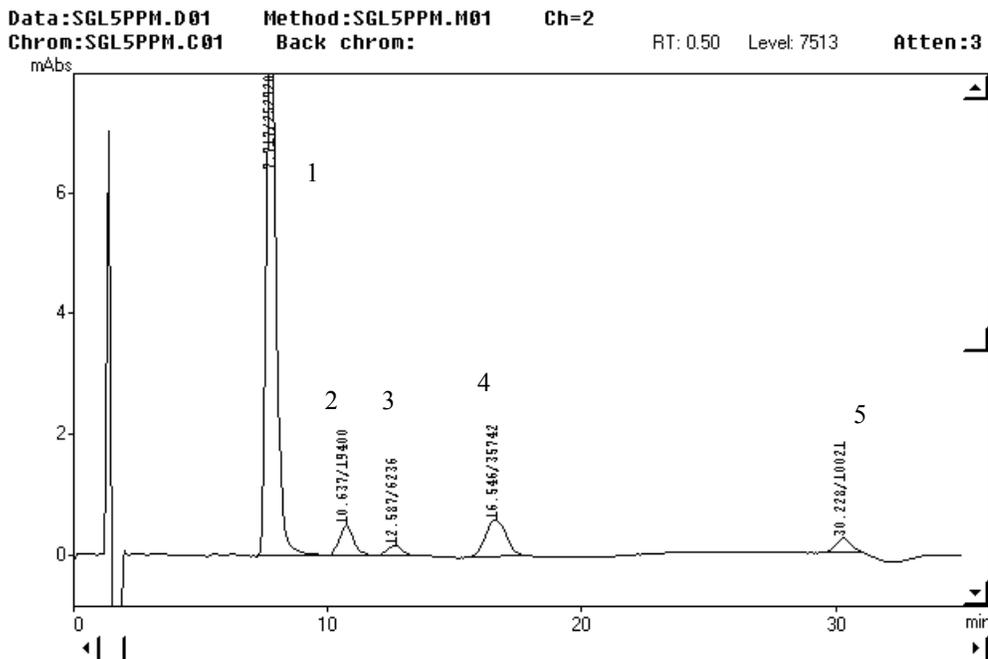


Figura 2.3. Cromatograma típico de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo purificados por cromatografia em coluna, indicando os picos de cinco substâncias. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tabela 2.1. Áreas dos picos cromatográficos, relativas ao somatório total, de compostos presentes em exsudatos radiculares purificados em coluna cromatográfica. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

	Área relativa à área total (%)					Total
	Sorgoleone	Substância 2	Substância 3	Substância 4	Substância 5	
Extratos purificados (padrão)	77,8*	6,2	1,9	10,8	3,3	100

* Média de três determinações.

Netzly e colaboradores (1988) revelaram a existência de seis compostos quinonóides nos extratos radiculares de sorgo granífero. Os cinco primeiros (de menor tempo de retenção) possuíam estruturas características de benzoquinonas

Tabela 2.2. Pureza relativa de extratos hidrofóbicos de cinco genótipos de sorgo. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tratamento	Pureza relativa (%) ao somatório das áreas dos picos ¹	Pureza relativa (%) ao sorgoleone do padrão	Eficiência da purificação ⁴
Padrão	² a 77,8	100	1,00
RS 11	b 72,6 d ³	69	1,45
741	a 79,1 bc	84	1,19
BR 601	a 78,1 c	77	1,29
HYC 42	b 82,2 a	76	1,31
BR 304	b 79,5 b	71	1,40
Teste F (tratamentos)	67,51		
Probabilidade > F	0,00001		

DMS (0,05)	1,36
CV ⁵ (%)	0,95

¹ Média de três determinações.

² Médias de genótipos antecedidas da mesma letra da testemunha, não diferem significativamente (5%) desta pelo teste de Dunnett.

³ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente (5%) pelo teste DMS.

⁴ Determinada pelo quociente entre a pureza do padrão (100%) e a pureza de cada genótipo relativa a ele.

⁵ Coeficiente de variação.

(Netzly et al., 1988). Já, Czarnota e colaboradores (2001), ao analisarem o cromatograma de extratos de sete genótipos de sorgo, revelaram, no mínimo, quatro substâncias, embora o número tenha variado de quatro a seis.

Quantificação e determinação da pureza de sorgoleone

Os genótipos diferiram em sua capacidade de produzir extratos radiculares de natureza hidrofóbica, como demonstrou o experimento em que as sementes foram germinadas em placas de petri, em câmara de crescimento (Tabela 2.3.). A produção de extratos hidrofóbicos em 100 radículas variou de 0,35 mg, no genótipo RS 11, até 2,98 mg, no genótipo AG 3001 (Tabela 2.3.). A produção de extratos hidrofóbicos por massa seca de radículas, isto é, a concentração no tecido, variou de 5,26 mg.g⁻¹ no genótipo 732, até 27,5 mg.g⁻¹ em CEX 9702 (Tabela 2.3.). Variações de 12 a 26 e de 16 a 32 mg sorgoleone.g⁻¹ massa seca foram obtidas, respectivamente, em coleções de 12 (Hess et al., 1992) e de 10 genótipos de sorgo (Rodrigues et al., 2001). Utilizando 25 genótipos de sorgo, Nimbal et al. (1996) observaram produção máxima e amplitude de produção de sorgoleone superiores (0,4 a 10,7 mg.100 radículas⁻¹) à verificada no presente experimento.

Os 41 genótipos de sorgo foram agrupados em cinco classes, conforme a produção total de extratos em 100 radículas. As classes foram separadas segundo a média ($1,58 \text{ mg.100 radículas}^{-1}$) e intervalo correspondente a 0,9 do desvio padrão (desvio padrão = $0,65 \text{ mg.100 radículas}^{-1}$) para cada classe (Figura 2.4.). A distribuição de freqüências de genótipos de sorgo nas classes seguiu a curva normal ($P < 0,01$), predominando maior número de genótipos com produção média de extratos e pequenos números de genótipos nas classes superior e inferior. A terceira classe revelou o maior número de genótipos (35%) (Figura 2.4.).

Tabela 2.3. Genótipos de sorgo utilizados, algumas características agrônômicas e produção e concentração de extratos hidrofóbicos em suas raízes, determinadas a partir de sementes germinadas em placas de petri, em câmara de crescimento. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000.

Genótipo	Características	Produção total de extratos ($\text{mg.100 radículas}^{-1}$)	Concentração de extratos (mg.g^{-1} matéria seca de raízes)
AG 3001	Granífero (com tanino)	2,98	24,72
BR 304	Granífero	2,71	10,05
AG 1017	Granífero	2,59	24,46
A 9908	1	2,34	18,94
855 F	Forageiro (corte/pastejo)	2,34	17,11
AGX 213	Forageiro (silagem)	2,34	18,49
AG 2501C	Forageiro (corte/pastejo)	2,33	16,65
A 9806	-	2,27	18,53
HYC 42	Granífero	2,24	15,96
CMSXS 755	Forageiro (silagem)	2,14	15,65
P 8118	Granífero	2,11	15,67
MS 2	Granífero	1,96	15,53
BR 700	Forageiro (silagem)	1,92	15,72
BR 601	Forageiro (silagem)	1,89	13,54
AG 3002	Granífero (com tanino)	1,85	14,93
CEXP 9701	Granífero	1,80	13,32
AG 2002	Forageiro (silagem)	1,79	12,14
CEXP 9702	Forageiro (silagem)	1,76	27,49
AG 2005	Duplo propósito	1,72	22,07
BR 305	Granífero	1,57	14,71
BRS 800	Forageiro (corte/pastejo)	1,56	11,20
C 51	Granífero	1,52	21,31
BRS 303	Granífero	1,49	11,30
BRS 306	Granífero	1,45	11,00
BRS 701	Forageiro (silagem)	1,37	9,39
PAST 9A	Forageiro (silagem)	1,33	16,82

8419	Granífero (com tanino)	1,32	12,38
PAST 10	Forageiro (silagem)	1,29	14,39
HYC 51	Granífero (com tanino)	1,16	13,08
PAST 12	Forageiro (silagem)	1,09	15,84
DK 67	Granífero	1,05	9,55
745	Granífero	0,96	6,01
822	Granífero	0,91	5,75
741	Granífero	0,91	7,07
P 82	Granífero	0,86	6,43
DK 57	Granífero	0,83	7,95
MASSA 3	Duplo propósito	0,80	5,81
DK 915	Forageiro (silagem)	0,75	8,09
732	Granífero	0,66	5,26
DK 861	Duplo propósito	0,41	5,40
RS 11	Forageiro (silagem)	0,35	6,79
Teste F		4,66	5,24
(Tratamentos)			
Probabilidade		0,00001	0,00001
> F			
D.M.S. (0,05)		0,84	6,94
CV ² (%)		38,19	36,57

¹ Não identificado.

² Coeficiente de variação.

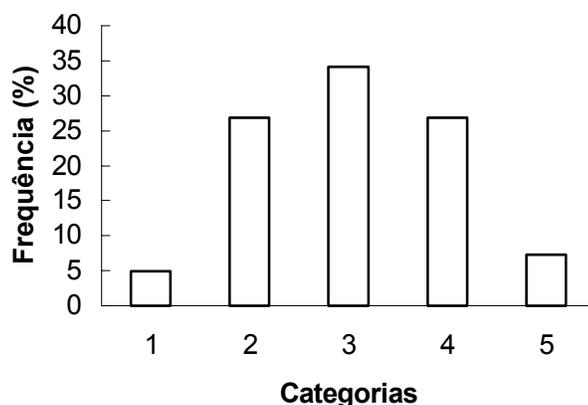


Figura 2.4. Distribuição de frequências de genótipos de sorgo em cinco categorias de produção de extratos hidrofóbicos por 100 radículas em laboratório. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999/2000. Distribuição segundo a média ($x = 1,58 \text{ mg} \cdot 100 \text{ radículas}^{-1}$) e desvio padrão ($dp = 0,65 \text{ mg} \cdot 100 \text{ radículas}^{-1}$): 1 ($0,117 < x < 0,702$), 2 ($0,702 < x < 1,287$), 3 ($1,287 < x < 1,872$), 4 ($1,872 < x < 2,457$), 5 ($2,457 < x < 3,042$) (Significância à equação normal (1%) pelo teste χ^2).

Conforme relatado anteriormente, sorgoleone foi o composto predominante nos extratos hidrofóbicos dos genótipos RS 11, 741, BR 601, HYC 42 e BR 304,

variando de 73 (RS 11) a 82% (HYC 42) das áreas dos picos cromatográficos (Tabela 2.2.). Nimbali et al. (1996), trabalhando com 25 genótipos, observaram variação, em relação ao somatório das áreas dos picos, entre 76 e 99%.

Portanto, os resultados demonstram haver variabilidade genética em sorgo, tanto na produção de extratos quanto na pureza relativa de sorgoleone nos mesmos, que pode ser aproveitada em programas de melhoramento genético e na seleção de materiais visando incrementar este aleloquímico nas plantas.

2.4. CONCLUSÕES

Sorgoleone, em sua forma oxidada, é o composto predominante (73 a 82%) em extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo.

A distribuição de genótipos de sorgo em classes de produção total de extratos hidrofóbicos segue a curva normal, com maior proporção de genótipos produzindo quantidades médias de extratos.

A produção total de extratos hidrofóbicos, sua concentração nos tecidos e a pureza de sorgoleone são variáveis entre genótipos de sorgo.

3. CAPÍTULO II – FITOTOXICIDADE DE EXTRATOS HIDROFÓBICOS E HIDROFÍLICOS DE SORGO E MILHETO

3.1. INTRODUÇÃO

Experimentos conduzidos em laboratório para verificação de alelopatia são de grande significância, pois permitem controlar diferentes fatores envolvidos no desenvolvimento de plantas daninhas a campo, variando um de cada vez. Isto possibilita entender mecanismos e testar hipóteses (Inderjit & Dakshini, 1995; Inderjit & Weston, 2000).

Diferentes abordagens têm sido adotadas para testar o potencial alelopático de espécies vegetais em laboratório. Muitos testes para verificação de alelopatia em laboratório são baseados na obtenção de extratos de plantas. Dependendo do método de extração utilizado, pode ser obtido grande número de substâncias derivadas do metabolismo primário e secundário das plantas, como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, proteínas e substâncias fitotóxicas (Inderjit & Dakshini, 1995).

Sintomas sobre plantas-alvo, causados por estes extratos, podem então ser identificados e as substâncias quantificadas.

A constatação de efeitos fitotóxicos a partir da abordagem anteriormente explicitada pode levar à necessidade de se proceder ao isolamento, identificação e purificação das substâncias potencialmente alelopáticas. Uma segunda abordagem pode derivar deste procedimento, em que os testes em laboratório são realizados utilizando-se as substâncias isoladas, identificadas e purificadas.

Plantas de sorgo liberam ao ambiente substâncias químicas tanto de natureza hidrofóbica quanto hidrofílica. A ação destas substâncias sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas daninhas depende do genótipo utilizado, da parte da planta considerada e de condições do ambiente.

Sorgoleone (2-hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z,11'z)-8',11',14'-pentadecatrieno]-p-benzoquinona), uma quinona primeiramente isolada e identificada por Chang et al. (1986), constitui o principal componente hidrofóbico de extratos radiculares de sorgo (Netzly et al., 1988). Sorgoleone é um inibidor da respiração mitocondrial (Rasmussen et al., 1992) e do transporte de elétrons no fotossistema II da fotossíntese, atuando no mesmo local de ação de herbicidas como atrazine e diuron (Nimbal et al., 1996; Gonzalez et al., 1997).

Sorgoleone pode agir sobre o crescimento de espécies daninhas e cultivadas. Em experimentos conduzidos em placas de petri, concentração de 45 ppm de sorgoleone foi suficiente para inibir o desenvolvimento de *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter (Einhellig & Souza, 1992) e *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. (Nimbal et al., 1996). No entanto, concentração de até 358 ppm deste composto não causou toxicidade a plântulas de *Abutilon theophrasti* Medik., *Setaria faberi* Herrm. e tomate (Nimbal et al., 1996). Em solução nutritiva, 4 ppm de sorgoleone foi suficiente para reduzir o desenvolvimento de plântulas de *Abutilon theophrasti*, *Datura stramonium* L., *Amaranthus retroflexus* L. (Einhellig & Souza, 1992), *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. (Nimbal et al., 1996) e causar toxicidade a plantas de soja, feijão, trigo e *Amaranthus retroflexus* (Souza et al., 1999). *Ipomoea hederacea* (L.) Jacq. mostrou tolerância a grande variação de concentrações de sorgoleone em solução nutritiva (Nimbal et al., 1996).

Extratos aquosos, obtidos a partir de um aparato que permitiu a imersão de raízes de sorgo em água, inibiram o crescimento da radícula e do hipocótilo de *Amaranthus* sp. e a germinação de

Amaranthus sp. e *Echinochloa* sp. (Panasiuk et al., 1986). Extratos aquosos obtidos pela imersão das partes aéreas de plantas de sorgo em água foram aplicados em pós-emergência de plantas daninhas, reduzindo sua massa seca em 49% (Cheema & Khaliq, 2000). A verificação da toxicidade de extratos aquosos de diferentes partes de plantas de três híbridos de sorgo a radículas de trigo identificou, em geral, maior toxicidade dos extratos aquosos obtidos do caule das plantas (Ben-Hammouda et al., 1995a). Também, foram observadas diferenças entre genótipos de sorgo, dependentes do ano de avaliação.

Compostos de natureza hidrofílica derivados do metabolismo secundário de plantas de sorgo provavelmente sejam responsáveis pelas respostas inibitórias de extratos aquosos. Resíduos de sorgo em decomposição liberam quantidades apreciáveis de ácidos fenólicos, especialmente ácido p-cumárico (Guenzi & McCalla, 1966). Ácidos fenólicos também podem ser produtos da degradação de glicosídeos cianogênicos e de taninos produzidos e liberados por plantas de sorgo (Nicollier et al., 1983; Weston et al., 1999). O conteúdo total de ácidos fenólicos em tecidos de sorgo varia com a parte da planta considerada, com o híbrido e entre estações de crescimento (Ben-Hammouda et al., 1995b). Embora os ácidos p-hidroxibenzóico, vanílico, siríngico, p-cumárico e ferúlico estivessem associados à inibição de radículas de trigo, o ácido vanílico foi o mais altamente correlacionado ao efeito inibitório (Ben-Hammouda et al., 1995b).

Os objetivos deste estudo foram verificar os efeitos de extratos hidrofóbicos de raízes e de extratos hidrofílicos de raízes e partes aéreas de sorgo sobre o desenvolvimento de algumas espécies daninhas e cultivadas.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Três experimentos foram conduzidos para avaliar os efeitos de extratos de natureza hidrofóbica de radículas de sorgo sobre germinação e crescimento de plantas de alface e crescimento de plantas de *Bidens* sp. Um experimento foi elaborado para avaliar os efeitos de extratos de natureza hidrofílica de plantas de sorgo, sobre germinação e crescimento de plantas de alface. Os trabalhos

foram conduzidos em laboratório e em casa de vegetação do Departamento de Plantas de Lavoura, na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período 2001/2002.

Bioensaios com extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo

Os extratos hidrofóbicos radiculares, contendo sorgoleone, utilizados em três experimentos, foram obtidos conforme procedimento descrito no item “Quantificação de extratos radiculares hidrofóbicos e determinação da pureza de sorgoleone”, do Capítulo I (p. 20). Para tal, foram utilizadas sementes do genótipo de sorgo BR 601, cujo conteúdo médio de sorgoleone em relação ao padrão é de 77,5% (Capítulo I). Os extratos hidrofóbicos obtidos foram diluídos com metanol, obtendo-se solução estoque com concentração de 358 ppm. Através de novas diluições com metanol, a partir da solução estoque, foram obtidas as demais concentrações utilizadas nos tratamentos.

O primeiro experimento foi conduzido para avaliar o crescimento de plântulas de *Bidens* sp. em resposta às concentrações de 0; 11,2; 22,3; 44,7; 89,5 e 179 ppm de extratos hidrofóbicos. Estas concentrações correspondem, respectivamente, a 0; 8,7; 17,4; 34,6; 69,4 e 138,7 ppm de padrão de sorgoleone. Foi utilizado o delineamento completamente casualizado, com quatro repetições.

Sementes de *Bidens* sp. foram pré-germinadas em bandejas plásticas contendo papel filtro embebido em água destilada, em câmara de crescimento, à temperatura de 27°C, até ocorrer a exteriorização de 1 mm da radícula das sementes.

Para todos os tratamentos, foram pipetados 3 mL de extratos hidrofóbicos diluídos em metanol, em papel filtro colocado no fundo de placas de petri. O mesmo

volume de metanol foi utilizado no tratamento correspondente à testemunha. As placas de petri ficaram destampadas por 12 horas, até a evaporação do metanol. Então, foram adicionados à cada placa 4 mL de água destilada. Sete sementes de *Bidens* sp. pré-germinadas foram transferidas para cada placa de petri e mantidas por um período de 56 horas à temperatura de 25°C, no escuro. Foram avaliados o comprimento da radícula e da parte aérea das plântulas.

O segundo e terceiro experimentos foram conduzidos para avaliar os efeitos de concentrações de 0; 22,3; 44,7; 89,5; 179 e 358 ppm de extratos hidrofóbicos sobre, respectivamente, a velocidade de germinação e o crescimento de plântulas de alface, cultivar Babá-de-Verão. Estas concentrações correspondem, respectivamente, a 0; 17,4; 34,6; 69,4; 138,7 e 277,4 ppm de padrão de sorgoleone. Utilizou-se o mesmo delineamento e condições experimentais do primeiro experimento, com as seguintes exceções: utilizaram-se cinco repetições por tratamento; no segundo experimento foram utilizadas sementes sem pré-germinação e efetuou-se a contagem do número de sementes germinadas diariamente, no mesmo horário, durante 4 dias. Neste experimento, foi calculado o percentual total de sementes germinadas ao final de 4 dias (germinabilidade) e o índice de velocidade de germinação (IVG), sendo este índice obtido pelo somatório dos quocientes do número de sementes germinadas pelo número de dias decorridos desde o início do teste (Popinigis, 1977). No terceiro experimento, sementes pré-germinadas foram mantidas em placas de petri por 82 horas, após o que, avaliou-se o comprimento da radícula e da parte aérea das plântulas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. A relação das variáveis dependentes com as concentrações de sorgoleone foi analisada por

regressão, testando-se inicialmente o modelo logístico de quatro parâmetros e o seu ajustamento. Em caso de falta de ajustamento ao modelo logístico, testou-se o modelo linear. O ajuste dos dados ao modelo logístico foi realizado usando-se o programa estatístico 'Sigma-plot'. O procedimento adotado pelo programa estima, por sucessivas iterações, os valores dos parâmetros nos quais a soma dos quadrados dos desvios das observações, em relação aos valores ajustados, é mínima. A falta de ajustamento ao modelo logístico foi testada utilizando-se procedimento adotado por Seefeldt et al.(1995).

Bioensaios com extratos hidrofílicos de raízes e parte aérea de plantas de sorgo e milho

Um experimento foi conduzido para avaliar o efeito de extratos de natureza hidrofílica, obtidos a partir de raízes e da parte aérea de plantas de sorgo e milho, sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de alface.

Na primeira etapa deste experimento, conduzido em casa de vegetação, sementes de sorgo, das cultivares BR 304, BR 601, RS 11, e da cultivar Comum RS de milho, em quantidades suficientes para gerar 11 plantas após desbaste, foram semeadas em vasos com capacidade para 3 L. Os vasos foram preenchidos com areia e fechados em sua porção inferior. Para cada cultivar foram utilizados dez vasos. As plantas foram nutridas semanalmente com solução nutritiva (composição na tabela 5.3., página 93 do Capítulo IV) e irrigadas diariamente conforme a

demanda evapotranspiratória, direcionando-se a água diretamente ao substrato, para evitar que houvesse lixiviação de componentes da parte aérea das plantas. Após 70 dias de cultivo, as partes aéreas e as raízes das plantas de cada cultivar foram retiradas dos baldes e separadas. A areia aderida às raízes foi removida, através de lavagem rápida em água corrente. O material foi seco à sombra, em temperatura ambiente. Determinou-se o teor de umidade residual nos tecidos pela secagem de amostras em estufa à 65°C, para se proceder a correção da umidade, tendo como base a massa seca.

Os tecidos das plantas foram fragmentados com tesoura e pesados. Quantidades de tecidos das raízes e partes aéreas das cultivares de sorgo e milho foram misturadas à água destilada e trituradas em liquidificador, para produzir solução estoque com concentração de 2,5% p/v. Os conteúdos obtidos foram acondicionados em potes plásticos e armazenados em refrigerador, à temperatura de 3 a 4°C, durante 24 h, para obter a extração a frio das substâncias alelopáticas. O extrato bruto obtido foi filtrado, utilizando-se papel filtro e gaze para eliminar partículas grosseiras e um sistema de 'kitazato' ligado a bomba para produzir vácuo. Após, foi centrifugado a 4000 rpm por 30 min. e retirado o sobrenadante, para se utilizar diretamente nas placas de petri ou para efetuarem-se as diluições com água destilada.

Em laboratório, foram obtidas concentrações de 0; 0,5; 1,17; 1,84 e 2,5% p/v de extratos obtidos da parte aérea e do sistema radicular das cultivares de sorgo BR 304, BR 601 e RS 11 e da cultivar de milho Comum RS. Mediu-se a atividade osmótica dos extratos, comparando-se-a com soluções de sacarose com potencial osmótico determinado, usando-se o método de Chardakov (Salisbury & Ross, 1992).

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com quatro repetições. O experimento foi organizado em esquema fatorial 4x2x5, onde o fator A foi constituído das cultivares de sorgo e milho, o fator B das partes da planta e o fator C das concentrações de extratos hidrofílicos. Em cada placa de petri foram pipetados 5 mL de extrato e colocadas dez sementes não pré-germinadas da cultivar de alface Babá-de-verão. O material foi cultivado em câmara de crescimento, à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro. Diariamente, durante 6 dias, procedeu-se à contagem do número de plantas germinadas, para estabelecer o IVG e, após 7 dias, avaliou-se a germinabilidade e o comprimento da radícula e da parte aérea das plantas.

Os valores de germinabilidade foram transformados por $\text{arc sen}\sqrt{x/100}$. Os dados foram submetidos à análise da variância, considerando duas situações. Na primeira, foram incluídos os valores correspondentes à testemunha, para se estabelecer os valores da diferença mínima significativa, de modo a permitir comparações entre todos os tratamentos, inclusive a testemunha. Na segunda situação, procedeu-se à análise da variância excluindo-se os valores da testemunha para, em caso de significância, proceder-se à análise de regressão linear entre as variáveis dependentes e concentrações de extratos hidrofílicos.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeitos dos extratos hidrofóbicos

O percentual de germinação de alface ao final de 4 dias não foi afetado pela variação das concentrações de extratos hidrofóbicos, compostos predominantemente

por sorgoleone (Tabela 3.1.). A variação dos níveis de extratos hidrofóbicos também não afetou a velocidade de germinação das sementes de alface (Tabela 3.1.). No entanto, é possível que fossem detectadas diferenças entre os tratamentos se a avaliação da germinação fosse realizada em intervalos de tempo menores do que 24 h.

Experimentos conduzidos em laboratório com *Lemna minor* L. mostraram que sorgoleone, o principal componente de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo (Netzly et al., 1988), não influenciou a velocidade de germinação e o percentual final de sementes germinadas (Einhellig & Souza, 1992).

Os dados se ajustaram ao modelo logístico para o comprimento da radícula de plântulas de alface com a elevação dos níveis de extratos hidrofóbicos (Figura 3.1. e

Tabela 3.1. Germinabilidade e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de alface em resposta a diferentes níveis de extratos hidrofóbicos de sorgo em placas de petri. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Concentração de extratos hidrofóbicos (ppm)	Germinabilidade (%)	IVG
0,0	82 ^{n.s.}	7,57 ^{n.s.}
22,3	82	7,48
44,7	82	7,42
89,5	84	7,58
179,0	84	7,57
358,0	86	7,30
Teste F (tratamentos)	0,67	0,03
Probabilidade > F	0,99	0,99
C.V. (%)	16,25	18,73

^{n.s.} Comparação na coluna não significativa pelo teste DMS (P > 0,05).

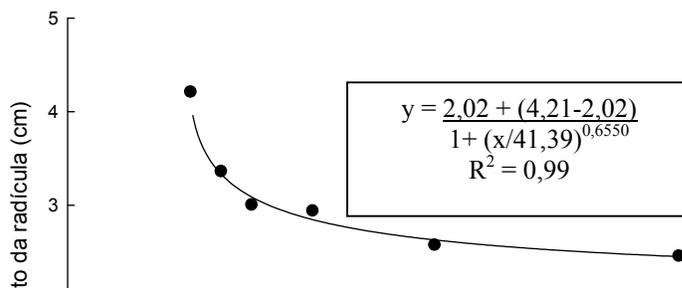


Figura 3.1. Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da radícula de plântulas de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Tabela 3.2.), mas o mesmo não ocorreu para o comprimento da parte aérea (Tabela 3.2.). A resposta do comprimento da parte aérea aos níveis de extratos hidrofóbicos se adequou ao modelo de regressão linear (Figura 3.2 e Tabela 3.2.). Aumento em 100 ppm da concentração de extratos hidrofóbicos resultou em redução no comprimento da radícula de 0,17 cm.

Tabela 3.2. Resumo da análise de variância e da complementação da análise por regressão, relativo às variáveis comprimento da radícula e comprimento da parte aérea de alface e de *Bidens* sp. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Parâmetro	Variáveis analisadas			
	CRA ¹	CPA	CRB	CPB
Teste F (Tratamentos)	25,96**	16,30**	9,50**	5,29**
F falta de ajuste - logística	0,63 ^{n.s.}	4,05*	0,07 ^{n.s.}	0,61 ^{n.s.}
Teste F - regressão linear	-	77,44**	-	-
CV (%)	9,03	7,80	48,55	22,16

¹ CRA = Comprimento da radícula de alface;
 CPA = Comprimento da parte aérea de alface;
 CRB = Comprimento da radícula de *Bidens* sp.;
 CPB = Comprimento da parte aérea de *Bidens* sp.

* Significativo a 1%.

** Significativo a 5%.

^{n.s.} Não significativo.

Os modelos logístico e linear permitem estimar a concentração de extratos hidrofóbicos necessária para inibir 50% do desenvolvimento das plântulas (I_{50}). Os valores de I_{50} estimados segundo a equações logística (comprimento da radícula) e linear (comprimento da parte aérea) foram, respectivamente, 41,4 e 178,2 ppm, para a faixa de valores de extratos hidrofóbicos testada. Estes valores indicam haver maior sensibilidade das raízes das plântulas de alface aos extratos de natureza hidrofóbica do que da parte aérea das plantas, na faixa de concentrações utilizada neste experimento.

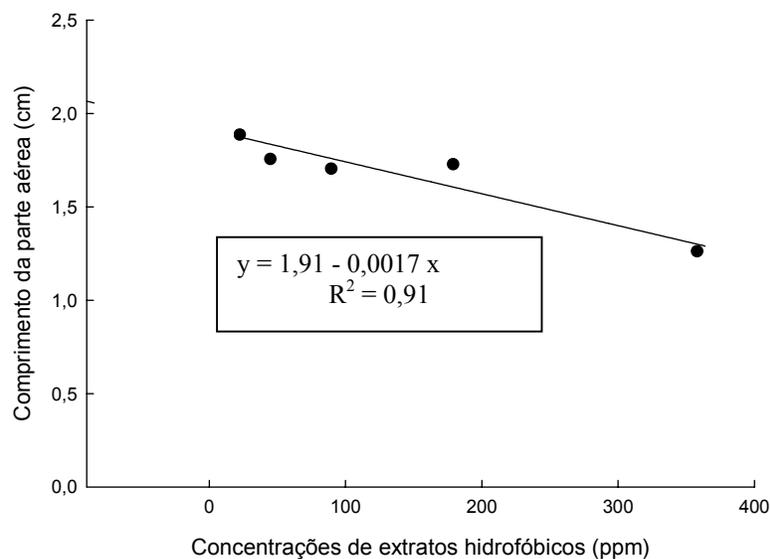


Figura 3.2. Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da parte aérea de plântulas de alface. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

As relações entre os comprimentos da raiz e da parte aérea das plântulas de *Bidens* sp. e as concentrações de extratos radiculares hidrofóbicos ajustaram-se ao modelo logístico (Figuras 3.3. e 3.4. e Tabela 3.2.). Para esta espécie, a exemplo do que foi observado em alface, o valor de I_{50} estimado para comprimento de raiz (14,4 ppm) foi inferior ao estimado para o comprimento da parte aérea (22,1 ppm).

Estes resultados estão de acordo com os relatados por outros autores, que observaram decréscimos no desenvolvimento de radículas de *Eragrostis tef* (Einhellig & Souza, 1992), alface (Barbosa et al., 1998b), trigo e *Amaranthus*

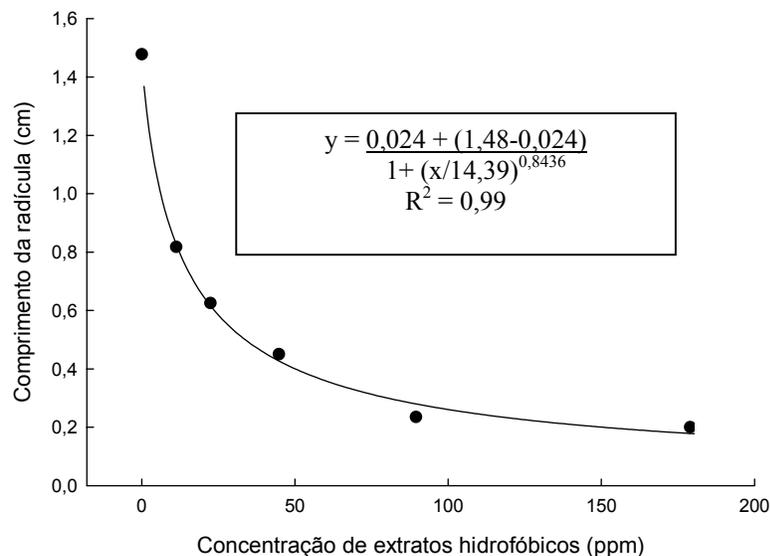


Figura 3.3. Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da radícula de plântulas de *Bidens* sp. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

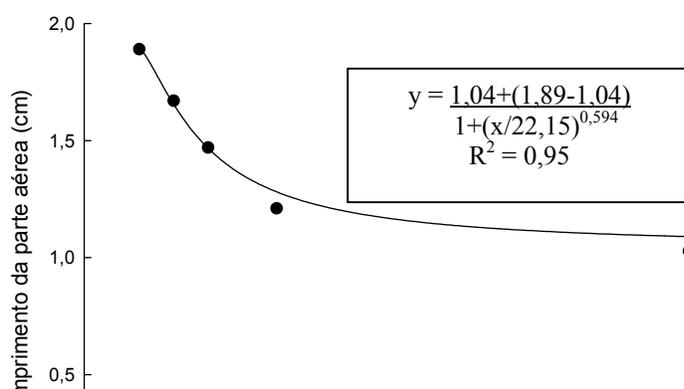


Figura 3.4. Efeito de concentrações de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo sobre o comprimento da parte aérea de plântulas de *Bidens* sp. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

retroflexus (Souza et al., 1999), com a elevação das concentrações de sorgoleone. Ao contrário do observado no presente experimento, Einhellig & Souza (1992) constataram maior efeito de sorgoleone sobre a parte aérea de plantas de *Abutilon theophrasti* e *Datura stramonium* do que sobre raízes. No entanto, os mesmos autores verificaram que 36 ppm de sorgoleone provocaram maior inibição do sistema radicular do que da parte aérea em plantas de *Amaranthus retroflexus*. Variação nos níveis de sorgoleone de 2 a 7 ppm inibiu linearmente o desenvolvimento do sistema radicular e estimulou o desenvolvimento da parte aérea de alface (Barbosa et al., 1998b). Maiores reduções da massa seca de raízes de trigo e de *Amaranthus retroflexus* do que da parte aérea, na faixa de 4 a 36 ppm de sorgoleone, também foi observado por Souza et al. (1999). Os resultados contrastantes referidos anteriormente parecem ser devidos à sensibilidade diferencial entre espécies vegetais e às diferentes concentrações de extratos utilizadas nos bioensaios.

Efeitos dos extratos hidrofílicos

A medição do potencial osmótico revelou, para todas as concentrações de extratos, valores inferiores a 0,11 MPa. Estes níveis são incapazes de gerar efeitos osmóticos prejudiciais à germinação das sementes.

A análise da variância de todas as variáveis dependentes revelou interação tríplice entre os fatores cultivar, parte da planta e concentração de extratos hidrofílicos (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Resumo da análise de variância para as características germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e comprimentos da radícula e da parte aérea, em função de cultivares, parte da planta e concentração de extratos hidrofílicos. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Causas da variação	Características avaliadas				
	GL	Germinabilidade	IVG	Comprimento da radícula	Comprimento da parte aérea
-----Valores de F-----					
Cultivar	3	24,46**	4,21**	29,78**	25,13**
Parte da planta	1	1295,65**	2427,61**	1284,57**	2115,28**
Concentração	4	123,09**	192,81**	81,62**	32,87**
Cultivar x parte	3	22,89**	16,97**	33,47**	10,19**
Cultivar x concentração	12	9,67**	7,12**	2,63**	9,69**
Parte x concentração	4	154,55**	166,77**	90,63**	206,20**
Cultiv. x parte x conc.	12	10,97**	4,05**	3,69**	8,56**
Resíduo	120				
CV (%)		13,92	13,75	22,87	14,88

** Significativo a 1%.

Em geral, os extratos hidrofílicos obtidos das raízes das plantas causaram pequeno efeito sobre a germinabilidade de sementes de alface. O percentual final de germinação não foi afetado pela variação da concentração dos extratos radiculares para qualquer das cultivares de sorgo e de milho e apenas pequenas diferenças de toxicidade foram constatadas entre elas (Figura 3.5.a). A germinabilidade das sementes submetidas aos extratos hidrofílicos das raízes também não diferiu da testemunha, com exceção da superioridade para concentrações de extratos de 2,5% partes por volume (p/v), em BR 304 e milho, 1,84% p/v em BR 304 e 0,5% em RS 11 (Figura 3.5.a).

Os extratos das raízes de milho mantiveram a germinabilidade média em torno de 83% (a da testemunha foi de 74%), enquanto os extratos da parte aérea desta espécie reduziram a germinabilidade média a 3,4% (Figuras 3.5.a e b

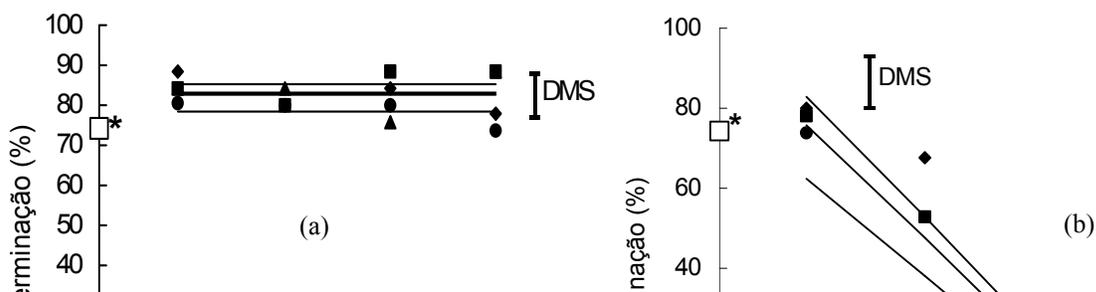


Figura 3.5. Germinabilidade de alface em resposta a ação de extratos hidrofílicos das raízes (a) e da parte aérea (b) das cultivares de sorgo BR 304 (■), BR 601 (●), RS 11(◆), da cultivar Comum de milho (▲) e da testemunha (*). Valores transformados para $\arcsen \sqrt{x/100}$. Valor de DMS (5%) = 11,27. Equações, coeficientes de determinação e significância da regressão encontram-se na Tabela 3.4. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tabela 3.4. Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentrações de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e germinabilidade de alface. Valores transformados para $\arcsen \sqrt{x/100}$. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Cultivar	Extrato	Equação	r^2	F
Sorgo BR 304	raiz	Média = 85,31	---	1,13 ^{n.s.}
	p. aérea	$y = 96,84 - 42,20 x$	0,90	201,15**
Sorgo BR 601	raiz	Média = 78,59	---	1,05 ^{n.s.}
	p. aérea	$y = 80,68 - 36,43 x$	0,85	149,97**
Sorgo RS 11	raiz	Média = 82,68	---	1,88 ^{n.s.}
	p. aérea	$y = 105,65 - 45,29 x$	0,86	231,77**
Milheto Comum	raiz	Média = 83,19	---	0,04 ^{n.s.}
	p. aérea	Média = 3,42	---	1,45 ^{n.s.}
Testemunha		Média = 74,32		

** Significativo a 1%.

^{n.s.} Não significativo.

e Tabela 3.4), contabilizando redução de 96% em relação aos extratos radiculares e de 95% em relação à testemunha.

A germinabilidade das sementes de alface não foi reduzida pela ação de extratos hidrofílicos da parte aérea de materiais de sorgo na concentração mais baixa (0,5% p/v) e não foi afetada pelos extratos das raízes de sorgo ou milho. No entanto, houve redução linear do percentual final de germinação com a elevação das concentrações maiores de extratos da parte aérea, o que resultou em diferenças significativas em relação aos efeitos de extratos radiculares e da própria testemunha

(Figuras 3.5.a e b e Tabela 3.4). Exceção coube aos efeitos obtidos na concentração de 1,17% p/v da cultivar RS 11, que não diferiram dos extratos das raízes, nem da testemunha.

Redução do IVG de sementes de alface em resposta à elevação da concentração de extratos das raízes somente foi observada para a cultivar de sorgo RS 11. Nesta cultivar, houve redução de 1,97 no IVG a cada incremento unitário na concentração de extrato das raízes (Figura 3.6.a e Tabela 3.5). Os efeitos do extrato das raízes de RS 11 sobre o IVG foram superiores aos das demais cultivares na concentração de 2,5% p/v e aos extratos de BR 304 e milho, na concentração de 1,84% p/v (Figura 3.6.a e Tabela 3.5).

Em todas as concentrações testadas e para todas as cultivares, os extratos da parte aérea das plantas foram mais eficientes em reduzir a velocidade de germinação das sementes de alface, em relação aos extratos das raízes e comparativamente à testemunha (Figura 3.6.a e b e Tabela 3.5). A concentração de 1,17% p/v de extratos da parte aérea foi a que melhor discriminou as diferenças de

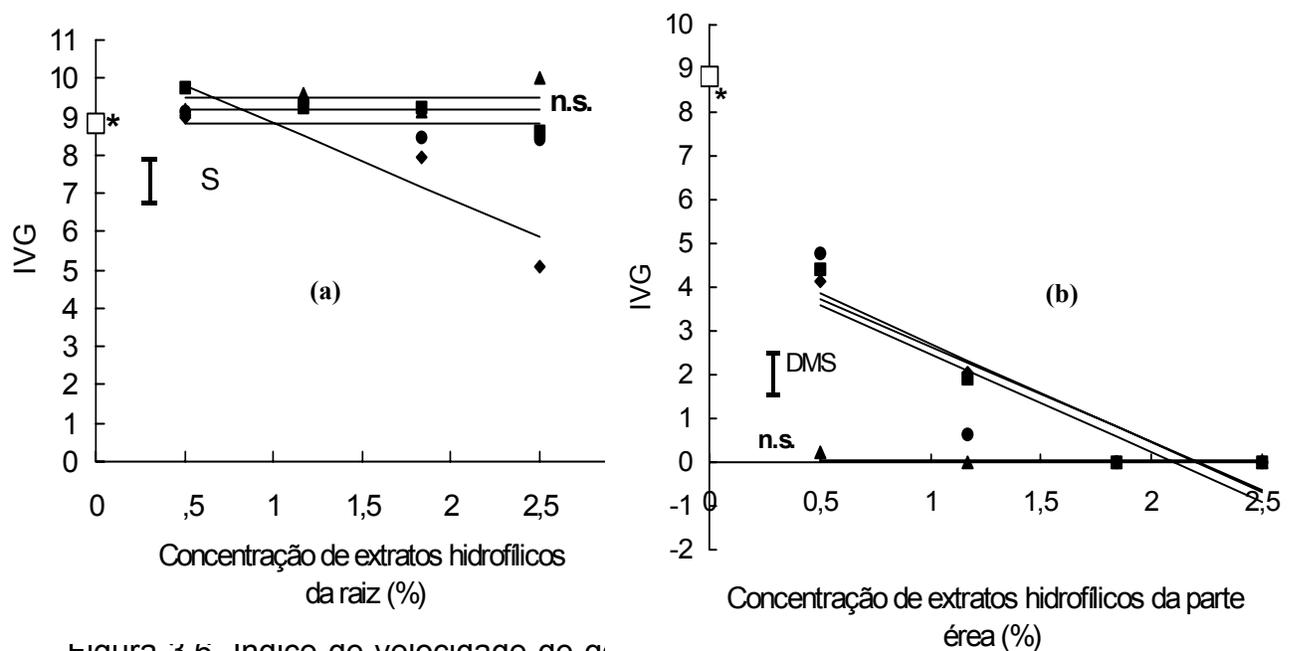


Figura 3.6. Índice de velocidade de germinação em função da concentração de extratos hidrofílicos das raízes (a) e da parte aérea (b) das cultivares de sorgo BR 304 (■), BR 601 (●), RS 11(◆), da cultivar Comum de milho (▲) e da testemunha (*). Valores transformados para arcsen

$x/100$. Valor de DMS (5%) = 1,11. Equações, coeficientes de determinação e significância da regressão encontram-se na Tabela 3.5. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tabela 3.5. Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentração de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e o índice de velocidade de germinação (IVG) de alface. Valores transformados para $\arcsen x/100$. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Cultivar	Extrato	Equação	r^2	F
Sorgo BR 304	raiz	Média = 9,20	---	3,30 ^{n.s.}
	p. aérea	$y = 4,99 - 2,27 x$	0,87	65,78**
Sorgo BR 601	raiz	Média = 8,84	---	2,76 ^{n.s.}
	p. aérea	$y = 4,72 - 2,24 x$	0,71	64,04**
Sorgo RS 11	raiz	$y = 10,80 - 1,97 x$	0,77	49,47**
	p. aérea	$y = 4,81 - 2,17 x$	0,89	60,08**
Milheto Comum	raiz	Média = 9,48	---	1,05 ^{n.s.}
	p. aérea	Média = 0,06	---	0,16 ^{n.s.}
Testemunha		Média = 8,83		

** Significativo a 1%.

^{n.s.} Não significativo.

germinabilidade e velocidade de germinação entre os materiais. Nessa concentração os materiais com maior potencial inibitório foram a cultivar Comum de milho e a cultivar BR 601 de sorgo. Na concentração de 0,5% p/v foi observada maior ação do milho em relação aos genótipos de sorgo (Figura 3.5.b e 3.6.b e Tabelas 3.4 e 3.5).

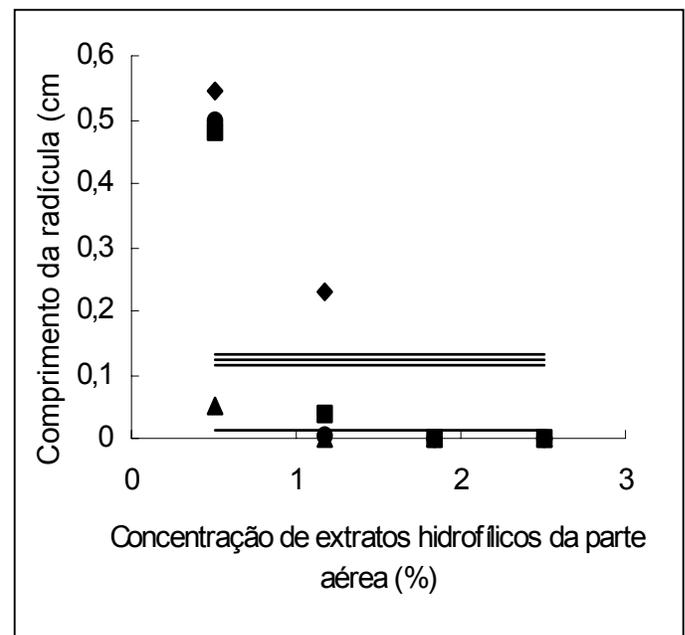
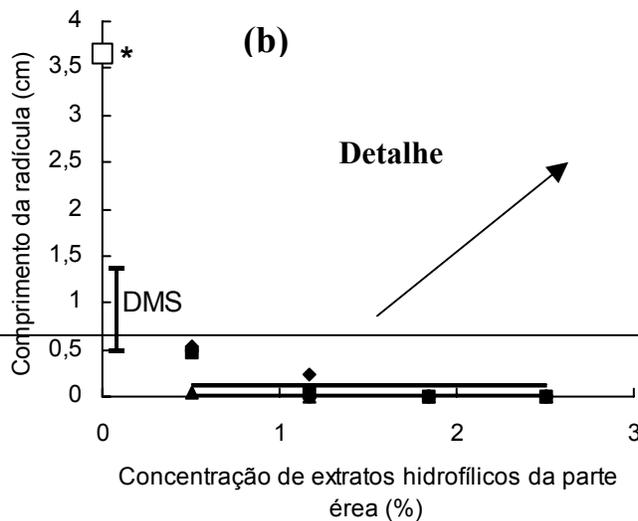
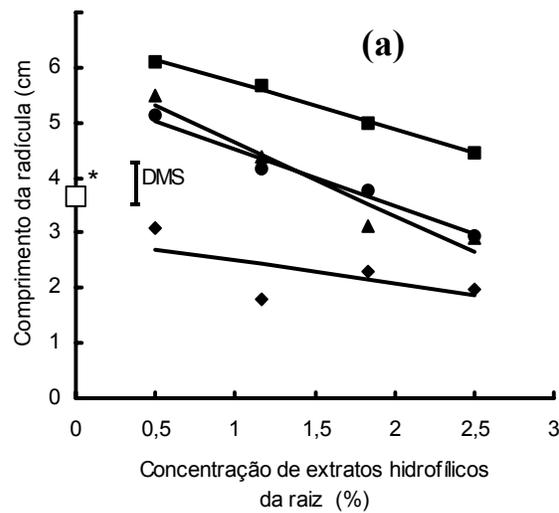
Ao testarem a autotoxicidade de diferentes concentrações de extratos aquosos de *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. (gênero do milho), Saxena et al. (1996b) observaram estimulação da germinação na concentração mais baixa (2% p/v) e inibição em concentrações maiores (4, 6 e 8% p/v) de extratos radiculares e da parte aérea. Eles verificaram que a velocidade de germinação declinou a partir da concentração mais baixa de extratos radiculares ou da parte aérea. Ao contrário do presente experimento, aqueles autores verificaram maior similaridade entre a ação inibitória proporcionada pela parte aérea e sistema radicular das plantas. Em outro experimento (Panasiuk et al., 1986), houve inibição da germinação de *Amaranthus* e *Echinochloa* devido à utilização de extratos concentrados (não foi informada a concentração) obtidos de raízes de sorgo.

Muitas vezes, o efeito alelopático não ocorre sobre o percentual final de germinação no tempo, mas sobre a velocidade de germinação ou outra variável relacionada (Ferreira & Aquila, 2000). A velocidade de germinação é uma variável importante para o estabelecimento das plântulas, pois é um indicativo da rapidez e da capacidade de emergência das mesmas. Sementes com germinação mais lenta demoram mais a emergir e são mais propensas ao ataque de predadores, pragas e patógenos. Plantas com emergência atrasada podem apresentar menor crescimento do que as que emergirem precocemente e sofrer competição intra e interespecífica por recursos do meio (Merotto Jr. et al., 1999; Fleck et al., 2002) ou podem ser excluídas da comunidade (Radosevich et al., 1997).

Os efeitos dos extratos radiculares hidrofílicos sobre o comprimento da radícula de alface variaram de estimulatórios a inibitórios, dependendo da cultivar e da concentração. Em geral, elevadas concentrações reduziram de forma linear o comprimento da radícula (Figura 3.7.a e Tabela 3.6). Em relação à testemunha, extratos hidrofílicos das raízes de sorgo cultivar BR 304 foram estimulatórios em todas as concentrações testadas. Os extratos de BR 601 e milho foram estimulatórios apenas na concentração mais baixa (0,5% p/v); enquanto os de RS 11 foram inibitórios ao desenvolvimento das raízes de alface em concentrações maiores que 0,5% p/v (Figura 3.7.a e Tabela 3.6).

Os extratos radiculares hidrofílicos estimularam o desenvolvimento da parte aérea das plântulas de alface em relação à testemunha (Figura 3.8.a e Tabela 3.7), exceto na menor concentração dos extratos de sorgo BR 601 e de milho. Essa estimulação foi incrementada linearmente com a elevação da concentração dos extratos radiculares das cultivares BR 304 e BR 601 e de milho, mas não sofreu acréscimo com a variação na concentração dos extratos radiculares de RS 11 (Figura 3.8.a e Tabela 3.7).

A ação de substâncias alelopáticas muitas vezes não é somente inibitória, pois há relatos de casos em que houve ação estimulatória sobre o desenvolvimento das plantas (Barbosa et al., 1998b; Santos et al., 2002). Ocasionalmente, plantas tratadas com doses muito baixas de herbicidas apresentam crescimento superior ao da testemunha, fenômeno conhecido como efeito hormônio (Santos et al., 2000).



e alface em resposta a ação de extratos da parte aérea (b) das cultivares de sorgo S 11(♦), da cultivar Comum de milho (▲) e transformados para $\text{arsen} \times 100$. Valor quações, coeficientes de determinação e

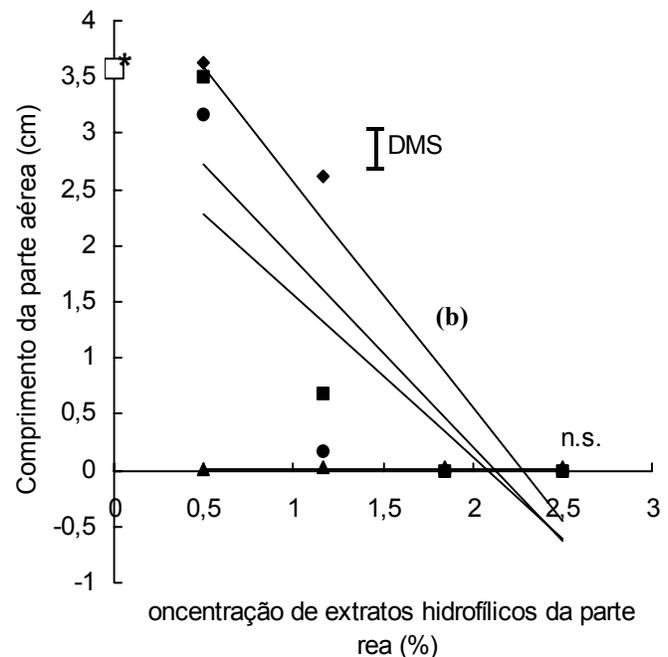
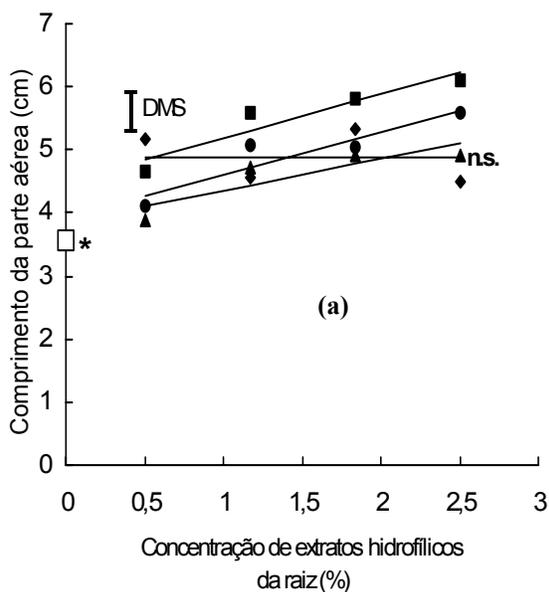
significância da regressão encontram-se na Tabela 3.6. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tabela 3.6. Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentração de extratos hidrofílicos das raízes e da parte aérea e o comprimento da radícula de alface. Valores transformados para $\arcsen \sqrt{x/100}$. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Cultivar	Extrato	Equação	r^2	F
Sorgo BR 304	raiz	$y = 6,57 - 0,84 x$	0,99	26,35**
	p. aérea	Média = 0,12	---	1,79 ^{n.s.}
Sorgo BR 601	raiz	$y = 5,55 - 1,03 x$	0,98	39,53**
	p. aérea	Média = 0,13	---	1,83 ^{n.s.}
Sorgo RS 11	raiz	$y = 2,93 - 0,42 x$	0,42	6,74*
	p. aérea	Média = 0,11	---	2,92 ^{n.s.}
Milheto Comum	raiz	$y = 6,0 - 1,34 x$	0,93	67,38**
	p. aérea	Média = 0,01	---	0,02 ^{n.s.}
Testemunha		Média = 3,66		

** Significativo a 1% pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo.



extratos hidrofílicos das raízes (a) e da parte aérea (b) de cultivares de sorgo BR 304 (■), BR 601 (●), RS 11(◆), da cultivar Comum de milho (▲) e da testemunha (*). Valores transformados para $\arcsen \sqrt{x/100}$. Valor de DMS (5%) = 0,64. Equações, coeficientes de determinação e significância da regressão encontram-se na Tabela 3.7. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tabela 3.7. Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre concentração de extratos hidrofílicos das raízes (a) e da parte aérea (b) e o comprimento da parte aérea de alface. Valores transformados para $\arcsen \sqrt{x/100}$. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Cultivar	Extrato	Equação	r ²	F
Sorgo BR 304	raiz	y = 4,50 + 0,68 x	0,89	18,88**
	p. aérea	y = 3,56 - 1,68 x	0,75	112,64**
Sorgo BR 601	raiz	y = 3,94 + 0,67 x	0,86	18,08**
	p. aérea	y = 3,01 - 1,45 x	0,64	84,18**
Sorgo RS 11	raiz	Média = 4,89	---	1,52 ^{n.s.}
	p. aérea	y = 4,59 - 2,02 x	0,89	163,72**
Milheto Comum	raiz	y = 3,87 + 0,49 x	0,75	9,60**
	p. aérea	Média = 0,02	---	0,0001 ^{n.s.}
Testemunha		Média = 3,58		

**Significativo a 1% pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo.

Os resultados do presente trabalho contrastam, em parte, com os obtidos por Forney & Foy (1985), que constataram ação tóxica das frações hidrofóbicas de raízes de plantas de sorgo sobre o desenvolvimento de azevém e alfafa, enquanto as frações de natureza hidrofílica não produziram efeito apreciável. Também, extratos hidrofílicos de raízes de plantas de sorgo inibiram o desenvolvimento da radícula e da parte aérea de plantas de *Amaranthus* sp. (Panasiuk et al., 1986) e de trigo (Ben-Hammouda et al., 1995a). Já, extratos aquosos de radículas de *Pennisetum glaucum* foram estimulatórios ou inibitórios ao seu próprio desenvolvimento, dependendo das concentrações utilizadas (Saxena et al., 1996b).

Os extratos hidrofílicos da parte aérea de todas as cultivares foram extremamente inibitórios ao desenvolvimento radicular e da parte aérea de plântulas de alface, exceto a menor concentração de extratos da parte aérea de sorgo, que não influenciou o desenvolvimento da parte aérea de alface (Figura 3.7.b e 3.8. b e Tabelas 3.6. e 3.7). Contudo, enquanto o desenvolvimento radicular não foi influenciado pela variação da concentração dos extratos da parte aérea e pela cultivar, o desenvolvimento da parte aérea sofreu a influência destes fatores (Figura 3.7.b e 3.8. b e Tabelas 3.6. e 3.7). Isto ocorreu devido à maior toxicidade dos extratos da parte aérea ao desenvolvimento radicular, desde as concentrações mais baixas de extratos (0,5 e 1,17% p/v). Na média das cultivares

e concentrações de extratos da parte aérea, houve inibição de 97% do desenvolvimento radicular, em comparação à testemunha.

O comprimento da parte aérea de alface declinou linearmente com a elevação da concentração dos extratos da parte aérea das cultivares de sorgo, destacando-se BR 601 por ocasionar maior inibição na concentração mais discriminatória (1,17% p/v) (Figura 3.8 b e Tabela 3.7). Como os extratos da parte aérea de plantas de milho causaram inibição à alface mesmo nas concentrações mais baixas, não houve variação do comprimento da parte aérea, com a variação nas concentrações de extratos de milho (Figura 3.8 b e Tabela 3.7).

Foi identificada maior atividade tóxica de extratos aquosos do caule de plantas de sorgo a radículas de trigo, em relação a outras partes da planta (Ben-Hammouda et al., 1995a). Neste trabalho, também foi observada capacidade inibitória diferencial entre híbridos de sorgo, a qual variou com a estação de crescimento. Foi verificada inibição expressiva da massa seca de plantas daninhas (49%) pela aplicação em pós-emergência de extratos hidrofílicos da parte aérea de plantas de sorgo (Cheema & Khaliq, 2000). O desenvolvimento de raízes e da parte aérea de *Pennisetum glaucum* foi estimulado por extratos hidrofílicos desta planta nas menores concentrações utilizadas, e inibido nas concentrações mais elevadas (Saxena et al., 1996b).

No presente experimento a ação tóxica foi mais pronunciada dos extratos hidrofílicos da parte aérea das plantas de sorgo e milho do que do sistema radicular. Diferenças bem menos pronunciadas identificadas em outros trabalhos (Ben-Hammouda et al., 1995a; Saxena et al., 1996b) podem dever-se a diferentes métodos de extração dos compostos, às concentrações empregadas, ou mesmo à utilização de diferentes materiais genéticos produtores e receptores das substâncias alelopáticas.

Foram identificadas diferenças na capacidade inibitória, dependentes da concentração dos extratos da parte aérea, entre os genótipos de sorgo. Na concentração mais discriminatória (1,17%), destacou-se a cultivar BR 601 de sorgo. No entanto, a parte aérea da cultivar Comum RS de milho demonstrou potencial tóxico superior aos genótipos de sorgo. O fato de extratos da parte aérea das cultivares de sorgo e, especialmente de milho, terem proporcionado reduções expressivas na

germinação e desenvolvimento inicial das plantas de alface indica que podem ser potencialmente úteis no manejo de plantas daninhas.

Dentre as substâncias de natureza hidrofílica potencialmente alelopáticas isoladas de sorgo, destacam-se os ácidos fenólicos, especialmente o p-cumárico (Guenzi & McCalla, 1966) e o vanílico (Ben-Hammouda et al., 1995b). O conteúdo total de ácidos fenólicos em tecidos de sorgo varia com a parte da planta considerada, com o híbrido e entre estações de crescimento (Ben-Hammouda et al., 1995b). A variação e o limite superior de produção de ácidos fenólicos totais na parte aérea de plantas de sorgo (4 a 156 kg.ha⁻¹) são maiores do que nas raízes (1 a 16 kg.ha⁻¹) (Sène et al., 2001). Essa informação poderia respaldar as diferenças inibitórias obtidas entre extratos da parte aérea e de radículas de plantas de sorgo, no presente experimento.

3.4. CONCLUSÕES

Nas condições de condução dos experimentos, conclui-se que:

1. Não há efeito dos extratos radiculares hidrofóbicos de sorgo sobre a germinação total final, nem sobre a velocidade de germinação de sementes de alface.
2. A relação entre os efeitos da concentração de extratos hidrofóbicos de radículas de sorgo e do comprimento de raízes e das partes aéreas de plantas de alface e *Bidens* sp. é inversamente proporcional.
3. Os efeitos de extratos hidrofílicos radiculares de sorgo na germinação e no comprimento de raízes e da parte aérea de alface variam entre estimulatório, neutro ou inibitório, dependendo da cultivar e da concentração utilizada.

Extratos hidrofílicos da parte aérea de plantas de sorgo são mais inibitórios à germinação e ao comprimento de raízes e da parte aérea de plantas de alface do que os extratos hidrofílicos das raízes.

Na concentração que discriminou melhor os efeitos de extratos hidrofílicos da parte aérea (1,17%), BR 601 é a cultivar de sorgo que causa maior inibição à germinabilidade, velocidade de germinação e ao comprimento da parte aérea de alface.

4. CAPÍTULO III - POTENCIAL DE EXTRATOS RADICULARES HIDROFÓBICOS E DA COBERTURA VEGETAL DE PLANTAS DE SORGO NA SUPRESSÃO DE PLANTAS DANINHAS EM CONDIÇÃO DE CAMPO

4.1. INTRODUÇÃO

A supressão de plantas daninhas por coberturas mortas é atribuída a fatores de natureza física, química e biológica. Atualmente, a capacidade supressora de plantas daninhas por culturas de cobertura é amplamente reconhecida e explorada (Putnam et al., 1983; Almeida, 1988; Einhellig & Rasmussen, 1989; Teasdale & Mohler, 1993; Vidal & Bauman, 1996; Theisen et al., 2000), embora não se conheça precisamente a importância relativa dos efeitos físicos e alelopáticos sobre este fenômeno.

Os efeitos físicos estão relacionados principalmente à redução da disponibilidade da radiação solar (Facelli & Pickett, 1991; Vidal, 1995) e à redução da amplitude térmica na camada superficial do solo (Teasdale & Mohler, 1993; Vidal,

1995). Dezenas de milhares de compostos secundários de plantas já foram isolados e estima-se que centenas de milhares existam na natureza. Há evidências de que a maioria dos metabólitos secundários liberados pelas plantas esteja envolvida em interações com outros organismos, como outras plantas, insetos, fungos e herbívoros, ou seja, apresentam potencial para exercer alelopatia em agroecossistemas (Duke, 1986). Existe forte relação de dependência entre a produção destes metabólitos e condições de ambiente (Einhellig, 1996), o que dificulta a interpretação de resultados a campo.

O conhecimento das potencialidades alelopáticas de culturas pode ser utilizado em benefício do controle de plantas daninhas. A palha de sorgo é amplamente utilizada como cobertura, objetivando a supressão de plantas daninhas (Putnam et al., 1983; Einhellig & Rasmussen, 1989). A atividade alelopática de plantas de sorgo pode estar relacionada tanto a compostos de natureza hidrofóbica quanto hidrofílica.

Raízes de diferentes espécies de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Sorghum vulgare* Pers., *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf. e *Sorghum halepense* (L.) Pers.) exsudam várias benzoquinonas de cadeias longas com elevado potencial alelopático (Netzly & Butler, 1986). Sorgoleone, a principal destas benzoquinonas, é exsudado por raízes vivas (Fate et al., 1990) e representa 90% ou mais dos extratos radiculares extraídos com solventes hidrofóbicos (Nimbal et al., 1996). Em experimentos conduzidos em laboratório e casa de vegetação, sorgoleone inibiu o desenvolvimento de espécies como *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter, *Lemna minor* L., *Lactuca sativa* L. e *Amaranthus retroflexus* L., mas não afetou o desenvolvimento de *Sorghum bicolor*, *Ipomoea purpurea* (L.) Roth. e *Abutilon theophrasti* Medik. (Netzly

et al., 1988; Einhellig & Souza, 1992; Nimbal et al., 1996). Sorgoleone é um potente inibidor da respiração mitocondrial (Rasmussen et al., 1992) e também do transporte de elétrons no fotossistema II, atuando competitivamente no mesmo local de ação de herbicidas como atrazine e diuron (Einhellig et al., 1993; Nimbal et al., 1996; Gonzalez et al., 1997).

Foi observada pequena variação na produção de sorgoleone em coleções de 12 (Hess et al., 1992) e dez (Rodrigues et al., 2001) genótipos de sorgo, embora Hess et al. (1992) tenham indicado que a produção variou segundo condições de ambiente. No entanto, obteve-se variação considerável nas quantidades de sorgoleone produzidas por 25 genótipos de sorgo (Nimbal et al., 1996).

Resíduos de sorgo em decomposição liberam compostos de natureza hidrofílica, em sua maioria ácidos fenólicos, como os ácidos ferúlico, vanílico, siríngico, p-hidroxibenzóico e, especialmente, p-cumárico (Guenzi & McCalla, 1966, Nicollier et al. 1983; Weston et al., 1999). Variações consideráveis destes compostos foram encontradas em tecidos vegetais e no solo quando foram comparados três genótipos de sorgo (Ben-Hammouda et al., 1995b).

O potencial das substâncias alelopáticas pode ser melhor avaliado sob condição de campo (Inderjit & Weston, 2001), onde estão sujeitas aos processos de retenção, transporte e transformação, que determinam sua dinâmica no solo (Cheng, 1992). Embora sorgoleone migre das raízes para o solo (Netzly et al., 1988), é provável que, em função de sua elevada hidrofobicidade, a ação deste composto fique restrita à área próxima das plantas liberadoras. A concentração de ácidos fenólicos encontrada no solo muitas vezes é considerada abaixo da necessária para produzir atividade biológica em laboratório (Dalton, 1999). Desconsidera-se, neste

(%)	(%)	---(mg.dm ⁻³)---		-----cmol.L ⁻¹ -----				(%)		
2,9	29	5,5	30	205	0,0	2,5	3,6	2,0	8,6	71

¹ Matéria orgânica.

² Capacidade de troca de cátions.

³ Saturação de bases.

correspondeu aos primeiros 48 (1999/2000) ou 63 dias (2000/2001) após a semeadura (estádios V₇ ou V₆, respectivamente, em sorgo ou milho).

Em 1999/2000 e em 2000/2001, cada unidade experimental apresentou, respectivamente, 32 (2 x 16 m) e 16 m² (4 x 4 m). Os tratamentos foram compostos pelos genótipos de sorgo RS 11, BR 601 e BR 304, representantes de três classes de produção de extratos radiculares hidrofóbicos (definidas em experimento conduzido em laboratório, ver Capítulo 2); do genótipo de milho Comum RS; e de uma testemunha sem culturas. As semeaduras foram realizadas em 16/11/99 e 31/10/2000; no primeiro experimento, sobre cobertura de plantas de ervilhaca, e no segundo, sobre cobertura de plantas daninhas que se desenvolveram no local, ambas dessecadas previamente com 720 g.ha⁻¹ de glyphosate. Utilizou-se sementes visando o estabelecimento de 1.200.000 plantas.ha⁻¹, para cada genótipo de sorgo e de 4.000.000 plantas.ha⁻¹ de milho.

Aos 30 dias após a semeadura, em 1999/2000, e aos 14 dias após a semeadura, em 2000/2001, efetuou-se contagem e identificação das espécies daninhas em uma área de 0,175 m² (0,45 x 0,39 m), com distinção de linha (0,06 m²) e entrelinha (0,115 m²) da cultura apenas em 2000/2001. Posteriormente, as plantas daninhas foram secadas em estufa a 60°C, para determinação da massa seca. Após

a contagem e identificação das espécies daninhas aos 14 dias após a semeadura, em 2000/2001, efetuou-se desbaste das plantas de sorgo, estabelecendo-se população de 1.200.000 plantas.ha⁻¹ para todos os genótipos. Para comparação da densidade populacional e massa seca de plantas daninhas entre médias de tratamentos, utilizou-se o teste da diferença mínima significativa (DMS), após os dados serem submetidos à análise de variância. Procedeu-se, também, análise de correlação entre população de plantas daninhas e densidade de plantas de sorgo.

A segunda fase foi realizada após a dessecação das plantas de sorgo e milho com 720 g.ha⁻¹ de glyphosate. Os experimentos foram organizados em parcelas sub-subdivididas, considerando-se como parcelas principais os genótipos de sorgo (BR 304, BR 601 e RS 11) e de milho (Comum RS); como subparcelas a utilização ou não de herbicida gramínicida + óleo mineral (sethoxydim 230 g.ha⁻¹ + Assist 1,5 L.ha⁻¹) para o controle de plantas daninhas gramíneas em pós-emergência; e, como sub-subparcelas, níveis de palha sobre o solo. Em 1999/2000, através da movimentação da palha a partir das quantidades originalmente produzidas, quatro níveis de palha foram estabelecidos nas sub-subparcelas: ausência de cobertura de partes aéreas, nível original produzido no tratamento, metade e o dobro do nível original. Em 2000/2001 foram estabelecidos apenas dois níveis, através da movimentação dos resíduos: ausência de cobertura e 4 t.ha⁻¹. A utilização ou não de herbicida gramínicida foi concebida em função da interferência predominante que papuã (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch.) pode exercer sobre espécies dicotiledôneas, em áreas com infestações mistas de plantas daninhas. Cada unidade experimental (sub-subparcela) consistiu de área de 4 m² (2 x 2 m). A

aplicação de herbicida em pós-emergência ocorreu 15 e 17 dias após a movimentação da palha (DAM), respectivamente, em 1999/2000 e 2000/2001.

Identificou-se as espécies de plantas daninhas e determinou-se sua densidade em uma área de 0,175 m², aos 22 e 50 DAM em 1999/2000 e aos 21 e 56 DAM em 2000/2001. Aos 50 e 56 DAM, respectivamente, no primeiro e segundo períodos experimentais, também se determinou a massa seca das plantas daninhas, conforme descrito previamente. Esses resultados foram analisados conforme já foi relatado na primeira fase e, quando apropriado, aplicou-se o teste DMS entre médias de tratamentos e regressões entre níveis de palha e variáveis dependentes.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Etapa anterior à dessecação

A primeira etapa (antes da dessecação das plantas de sorgo e milho) do primeiro ano experimental (1999/2000) permitiu avaliar a infestação global de plantas daninhas, sem distinção de ocorrência nas linhas e entrelinhas. As espécies daninhas predominantes foram *Brachiaria plantaginea* (BRAPL) e *Sida rhombifolia* L. (SIDRH).

Foi testada a hipótese de haver infestação e crescimento diferenciado destas espécies, em função da produção de extratos hidrofóbicos, comparando-se a densidade e o crescimento de plantas daninhas a campo entre os diferentes genótipos de sorgo e destes com milho, espécie que não produz sorgoleone.

A densidade e o crescimento de plantas daninhas (SIDRH e BRAPL) foi semelhante entre os genótipos de sorgo e com milho, indicando ausência de efeito

supressor de exsudatos hidrofóbicos (Tabela 4.2). No entanto, observou-se reduções de 41 % de infestação e de 74 % de massa seca total de plantas daninhas, comparando-se as áreas cobertas com culturas à testemunha descoberta (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Densidade de plantas de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e total e massa seca total de plantas daninhas, avaliadas aos 30 dias após a semeadura das culturas, em resposta à presença de diferentes coberturas verdes sobre o solo. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Tratamento	BRAPL (plantas.m ⁻²)	SIDRH (plantas . m ⁻²)	Total de plantas daninhas (plantas . m ⁻²)	Matéria seca total de plantas daninhas (g.m ⁻²)
Sorgo BR 304	58 a ¹	150	223 a	30 a
Sorgo RS 11	48 a	73	142 a	22 a
Sorgo BR 601	59 a	87	214 a	39 a
Milheto Comum	39 a	142	149 a	20 a
Testemunha	202 b	89	309 b	109 b
Valor de F (tratamentos)	12,45**	0,77 ^{n.s.}	3,35*	18,06**
DMS ²	59,41	123,36	113,88	27,04
CV ³	47,49	74,00	35,64	40,15

¹ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

** Significativo a 1%.

* Significativo a 5%.

^{n.s.} Não significativo.

² Diferença mínima significativa a 5%.

³ Coeficiente de variação.

A primeira etapa do segundo ano experimental (2000/2001) permitiu avaliar as diferenças de infestação de plantas daninhas posicionadas nas linhas e entrelinhas das culturas, aos 14 dias após a semeadura das mesmas. A interação entre os fatores genótipos/espécies e posições das plantas daninhas em relação às linhas da cultura foi significativa para as infestações de BRAPL, *Bidens* sp. (BIDSS) e total de plantas daninhas, mas não para as populações de SIDRH (Tabela 4.3). As

infestações de BRAPL, SIDRH e BIDSS presentes nas linhas ou nas entrelinhas de semeadura não diferiram entre os genótipos de sorgo e milho. A variabilidade da infestação natural de plantas daninhas na área pode ter impedido a identificação de diferenças de infestação por espécie. No entanto, nas linhas de semeadura, para o

Tabela 4.3. Densidade de plantas de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH), *Bidens* sp. (BIDSS) e total de plantas daninhas aos 14 dias após a semeadura das culturas, em resposta à presença de diferentes genótipos e à posição das plantas daninhas na área de amostragem. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

Tratamento	Densidade de plantas daninhas (plantas. m ⁻²)							
	BRAPL		SIDRH		BIDSS		Total	
	Linha	Entre-linha	Linha	Entre-linha	Linha	Entre-linha	Linha	Entre-linha
Sorgo BR 304	a ¹ 1192 A	a 873 B	75 ^{n.s.}	64 ^{n.s.}	a 643 A	a 903 A	a 2354 A	a 1881 B
Sorgo BR 601	a 840 A	a 849 A	74	106	a 190 A	a 504 A	c 1328 A	a 1501 A
Sorgo RS 11	a 1054 A	a 913 A	132	99	a 664 A	a 554 A	ab 1915 A	a 1627 A
Milheto Comum RS	a 887 A	a 840 A	107	122	a 180 B	a 456 A	bc 1434 A	a 1490 A
Testemunha	a 905 A	a 905 A	65	65	a 475 A	a 923 A	ab 2000 A	a 2000 A
Causas de Variação	-----Valores de F ² -----							
Genótipos	0,21 ^{n.s.}		0,30 ^{n.s.}		0,61 ^{n.s.}		2,59 ^{n.s.}	
Posições	5,08*		0,005 ^{n.s.}		0,29 ^{n.s.}		1,39 ^{n.s.}	
Genótipos x Posições	1,81 ³		0,88 ^{n.s.}		2,50 ⁴		2,81 ⁵	
CV (%) (genótipo)	5,12		18,85		22,57		2,98	
CV (%) (posições)	2,03		7,43		3,16		1,62	

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro de cada espécie invasora, não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

* Significativo a 5%.

^{n.s.} Não significativo.

² Dados transformados para log (x+10).

³ Significativo a 18%.

⁴ Significativo a 9%.

⁵ Significativo a 6%.

genótipo BR 601 de sorgo ocorreu menor infestação total do que nos outros dois genótipos de sorgo e, também, em relação à testemunha (Tabela 4.3). Nas entrelinhas da cultura não se verificaram diferenças entre os genótipos de sorgo e de milho.

Verificou-se correlação negativa ($r = - 0,92$) entre o número total de plantas cultivadas em genótipos de sorgo e o número de plantas daninhas nas linhas de semeadura. Como o número de plantas da cultivar de sorgo BR 304 nas linhas é inferior aos verificados nos genótipos BR 601 e RS 11 e na cultivar de milho (Tabela 4.4), admite-se que a relação entre populações de plantas cultivadas e daninhas nas linhas de semeadura possa ter aumentado a densidade de plantas daninhas do genótipo BR 304 em relação aos demais genótipos de sorgo.

Tabela 4.4. Densidade de plantas cultivadas na linha de semeadura, aos 14 dias após a semeadura das culturas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

Genótipo/espécie	Densidade de plantas cultivadas na linha (plantas.m ⁻²)
Sorgo BR 304	143 c ¹
Sorgo BR 601	214 b
Sorgo RS 11	154 bc
Milho cv. Comum RS	480 a
Valor de F (tratamentos)	60,09**
CV (%)	16,45

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

** Significativo a 1%.

Alelopatia e competição poderiam estar envolvidas no fenômeno relatado anteriormente. Sorgoleone é o principal exsudato hidrofóbico de raízes de sorgo (Netzley & Butler, 1986), embora se desconheça exatamente qual a sua taxa de liberação pelas raízes. A baixa mobilidade de sorgoleone no solo, devido à ausência de solubilidade em água (Netzly & Butler, 1986) e, possivelmente, à elevada adsorção aos colóides do solo (Hess et al., 1992 e Capítulo 4), limitam consideravelmente a possibilidade de absorção de sorgoleone pelas plantas. Sua liberação em local próximo de absorção e/ou o contato entre raízes de plantas de sorgo e raízes de plantas daninhas poderia ser maneiras de produzir efeitos alelopáticos. Populações maiores de plantas liberadoras de substâncias alelopáticas aumentariam a chance de absorção de sorgoleone por plantas daninhas. Desta forma, é possível que a menor população de plantas do genótipo BR 304 nas linhas de semeadura resultaram em maior população de plantas daninhas. Como resultado disto, maior população de plantas daninhas poderia reduzir a disponibilidade de substâncias alelopáticas no meio para gerar efeito alelopático (Weidenhamer et al., 1989).

Efeitos reduzidos sobre plantas daninhas nas entrelinhas das culturas são atribuídos a compostos com baixa mobilidade no solo, fato observado apenas com populações de BIDSS nas entrelinhas de milho (Tabela 4.3.). No entanto, deve-se considerar que outros fatores, como o revolvimento diferencial do solo em linhas e entrelinhas, podem influenciar a emergência de plantas daninhas. O fato do genótipo BR 304 apresentar maior infestação de plantas daninhas nas linhas (Tabela 4.3), embora dele se obtivessem alta quantidade de sorgoleone por extração com

solvente, pode significar que, para esta substância especificamente, a proximidade entre sistemas radiculares seja mais importante que as diferenças de produção de substâncias alelopáticas entre genótipos, ou, que a extração com solventes não forneça estimativa adequada das quantidades exsudadas pelas raízes. Como milheto não produz sorgoleone, mas também reduziu a população total de plantas daninhas nas linhas de semeadura, em relação à BR 304 (Tabela 4.3), é possível que esta espécie produza outras substâncias alelopáticas capazes de inibir o desenvolvimento de plantas daninhas. Não está afastada, também, a possibilidade de que os genótipos de sorgo produzam outras substâncias alelopáticas, que não sorgoleone, as quais poderiam resultar em desenvolvimento diferencial de plantas daninhas nas linhas de semeadura.

A competição por recursos do meio também pode justificar densidades de plantas daninhas mais elevadas em genótipos de plantas cultivadas com menor população. As plantas são hábeis em perceber precocemente alterações no comprimento de onda luminosa resultantes da presença de plantas na vizinhança, desencadeando, desta forma, mudanças em seu desenvolvimento (Radosevich et al., 1997; Almeida, 1998). No entanto, é pouco provável que a população de plantas seja modificada tão precocemente (aos 14 dias após a semeadura da cultura) pela interferência competitiva.

Etapa posterior à dessecação

Na segunda etapa do primeiro ano experimental (1999/2000), conduzida após a dessecação das plantas de sorgo e milheto, foram obtidas as seguintes quantidades originais de palha sobre a superfície: sorgo BR 304 (1,0 t.ha⁻¹), sorgo

BR 601 (1,0 t.ha⁻¹), sorgo RS 11 (0,6 t.ha⁻¹) e milho comum RS (0,8 t.ha⁻¹). A partir do nível original, foram obtidos os níveis zero, metade, uma vez e o dobro. Nestas condições, hipotetizou-se que, em níveis semelhantes de palha na superfície do solo, as variações em infestação de plantas daninhas seriam devidas às diferenças na produção de extratos radiculares hidrofóbicos. Para testar essa hipótese, utilizou-se duas abordagens: na primeira, comparou-se o efeito dos genótipos de sorgo e milho na ausência de palha (mas na presença de sistema radicular sob a superfície do solo); na segunda, comparou-se os genótipos de sorgo BR 304 e BR 601, que produziram níveis equivalentes de palha na superfície do solo, quanto à capacidade em reduzir a infestação de plantas daninhas.

As espécies daninhas predominantes na área experimental foram BRAPL e SIDRH, embora também houvesse ocorrência esparsa de plantas de BIDSS. Na ausência de palha sobre a superfície do solo, não foram observadas diferenças nas densidades de SIDRH e BRAPL entre os genótipos de sorgo e milho (Tabela 4.5. e Figura 4.1), em quaisquer das épocas avaliadas (22 e 50 DAM). A massa seca

Tabela 4.5. Resumo da análise da variância das características densidade de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL) e *Sida rhombifolia* (SIDRH), aos 22 e 50 dias após a movimentação da palha (DAM), em função dos fatores cultivar/espécie e uso de graminicida. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Causa de variação	BRAPL (plantas.m ⁻²)		SIDRH (plantas.m ⁻²)	
	22 DAM	50 DAM	22 DAM	50 DAM
	-----Valores de F ¹ -----			
Genótipos/es- pécies	0,23 ^{n.s.}	0,25 ^{n.s.}	0,25 ^{n.s.}	0,19 ^{n.s.}
Graminicida	57,37**	57,29**	3,41 ^{n.s.}	3,87 ^{n.s.}

Genótipos*graminicida	0,16 ^{n.s.}	0,17 ^{n.s.}	1,98 ^{n.s.}	1,34 ^{n.s.}
CV (%)	12,43	11,31	23,22	16,10

^{n.s.} Não significativo.

** Significativo a 1%.

¹ Dados originais transformados para log (x+10)

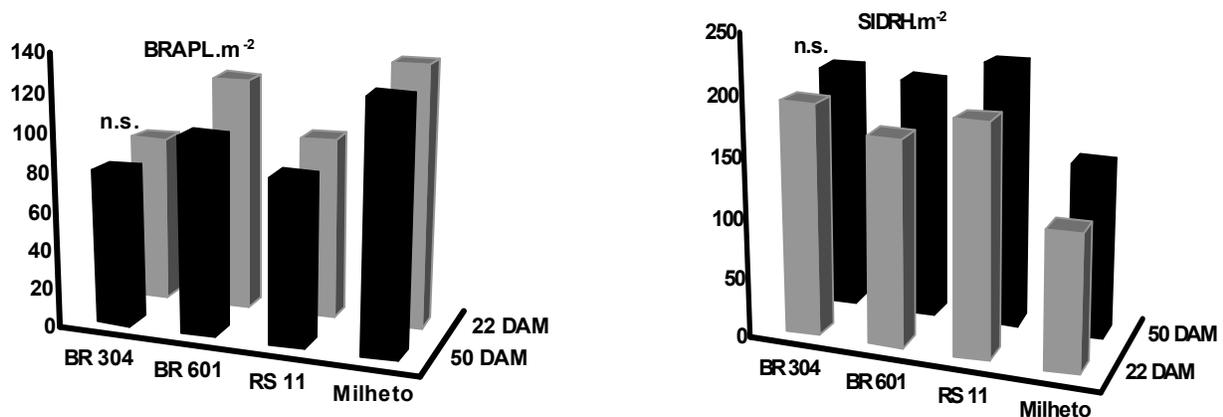


Figura 4.1. Infestações de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL) e *Sida rhombifolia* (SIDRH) emergidas em três genótipos de sorgo e um de milho, na ausência de palha das culturas sobre a superfície do solo. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000. n.s = comparação entre genótipos/espécie não significativa a 5% pelo teste F.

de SIDRH foi superior onde não houve competição desta espécie com plantas daninhas gramíneas, em comparação ao tratamento com competição (Tabelas 4.6 e 4.7). Em função da utilização ou não de herbicida graminicida, foi constatada significância do fator graminicida para a variável massa seca de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL) (Tabela 4.6).

Da mesma forma, não se observaram diferenças nas densidades de BRAPL, SIDRH e total entre os genótipos de sorgo BR 304 e BR 601 em quaisquer dos

níveis de palha testados, em ambas as avaliações, com exceção da ocorrência de maior população total de plantas daninhas no genótipo BR 601 em relação ao BR 304, no tratamento com duas vezes a quantidade original de palha, aos 22 DAM

Tabela 4.6. Resumo da análise da variância das características massa seca de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL) e *Sida rhombifolia* (SIDRH), em função dos fatores cultivares/espécies e do uso de herbicida graminicida, na ausência de palha na superfície do solo. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Causa de variação	Massa seca de BRAPL (g.m ⁻²)	Massa seca de SIDRH (g.m ⁻²)
	-----Valores de F-----	
Genótipos/espécies	1,79 ^{n.s.}	0,45 ^{n.s.}
Graminicida	94,70**	71,13**
Genótipos*graminicida	2,04 ^{n.s.}	0,64 ^{n.s.}
CV (%)	15,21	19,33

^{n.s.} Não significativo.

** Significativo a 1%.

¹ Dados originais transformados para log (x+10).

Tabela 4.7. Massa seca de plantas de *Sida rhombifolia* (SIDRH), em função da utilização ou não de herbicida graminicida, médias de três genótipos de sorgo e de um de milheto, sem o uso de palha das culturas na superfície. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Uso de graminicida	Massa seca de SIDRH (g. m ⁻²)
Sem	40 b ¹
Com	110 a

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a 1% pelo teste DMS.

(Tabelas 4.8. e 4.9). A análise de variância mostrou significância para os níveis de palha para as populações de BRAPL, SIDRH e total, tanto aos 22 como aos 50 DAM

(Tabela 4.8). As significâncias do efeito principal do fator graminicida, relativa às populações de BRAPL e total, e da interação entre graminicida e níveis de palha, relativa às populações de BRAPL (Tabela 4.8), ocorreram em função da mortalidade das plantas de BRAPL causada pela utilização do herbicida graminicida, que contrasta com o tratamento em que o mesmo não foi utilizado.

Tabela 4.8. Resumo da análise da variância das características população de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e total de plantas daninhas, em função dos fatores genótipos, herbicida graminicida e níveis de palha. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Causa da variação	BRAPL (plantas.m ⁻²)		SIDRH (plantas.m ⁻²)		Total (plantas.m ⁻²)	
	22 DAM	50 DAM	22 DAM	50 DAM	22 DAM	50 DAM
	-----Valores de F ¹ -----					
Genótipos	0,19 ^{n.s.}	0,08 ^{n.s.}	5,21 ^{n.s.}	0,73 ^{n.s.}	1,76 ^{n.s.}	1,35 ^{n.s.}
Graminicida	37,91**	27,48**	0,03 ^{n.s.}	2,11 ^{n.s.}	14,51**	2,97 ^{n.s.}
Genótipos x graminicida	0,23 ^{n.s.}	0,11 ^{n.s.}	0,64 ^{n.s.}	0,02 ^{n.s.}	0,53 ^{n.s.}	0,12 ^{n.s.}
Palha	3,57*	6,87**	11,48**	13,09**	17,03**	22,01**
Genótipos x palha	0,40 ^{n.s.}	0,07 ^{n.s.}	1,06 ^{n.s.}	0,86 ^{n.s.}	2,61 ²	1,27 ^{n.s.}
Graminicida x palha	3,57 ^{n.s.}	6,87**	1,12 ^{n.s.}	0,47 ^{n.s.}	2,56 ^{n.s.}	1,41 ^{n.s.}
Genótipos x graminicida x palha	0,40 ^{n.s.}	0,07 ^{n.s.}	0,39 ^{n.s.}	0,41 ^{n.s.}	0,42 ^{n.s.}	0,23 ^{n.s.}
CV (%)	44,92	34,97	56,27	52,48	45,77	41,31

^{n.s.} Não significativo.

* Significativo a 5%,

** Significativo a 1%.

¹ Valores originais transformados para log (x+10).

² Significativo a 8%.

Aos 22 DAM, houve redução das densidades populacionais de BRAPL, SIDRH e total, respectivamente, em 26, 65 e 95 plantas.m⁻² para cada tonelada de

palha presente na superfície do solo, nas médias dos genótipos BR 304 e BR 601(Figura 4.2. e Tabela 4.10), em relação aos tratamentos sem resíduo na superfície. Aos 50 DAM, taxas aproximadas de redução foram obtidas em relação à avaliação em 22 DAM, correspondendo a 26, 71 e 100 plantas.m⁻² para cada

Tabela 4.9. Densidade populacional total de plantas daninhas em resposta aos genótipos de sorgo BR 304 e BR 601 e quatro níveis de palha na superfície do solo, aos 22 e 50 dias após a movimentação da palha (DAM). UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Genótipos	Densidade total de plantas daninhas (plantas.m ⁻²)			
	Sem palha na superfície	0,5 t.ha ⁻¹	1,0 t.ha ⁻¹	2,0 t.ha ⁻¹
22 DAM				
BR 304	a* 309	a 147	a 120	b 33
BR 601	a 291	a 140	a 200	a 136
50 DAM				
BR 304	a 313	a 136	a 104	a 35
BR 601	a 294	a 168	a 194	a 135

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

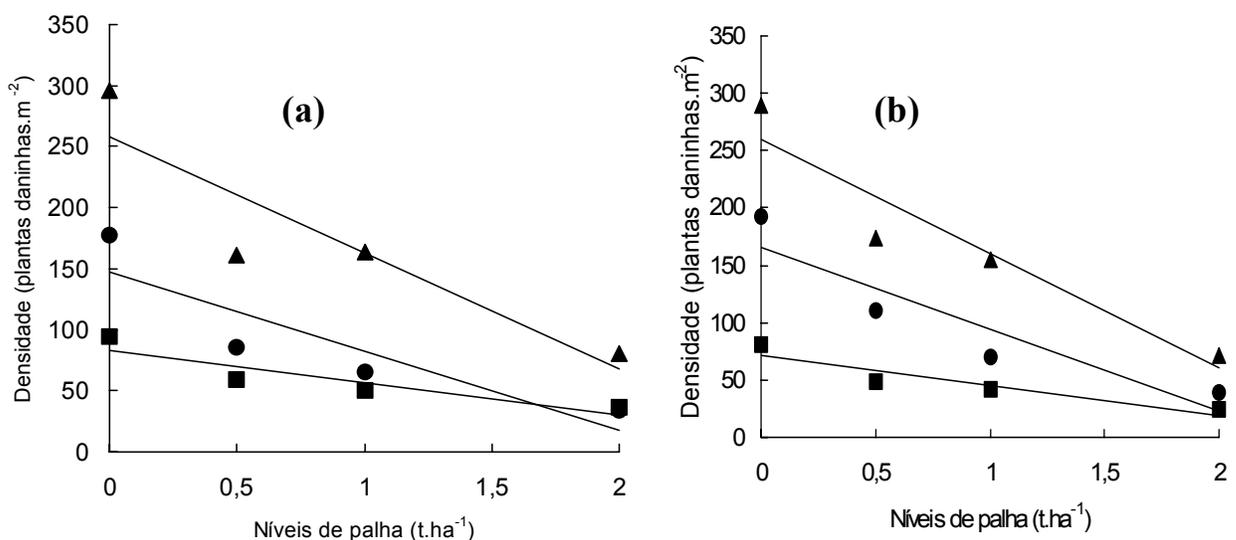


Figura 4.2. Densidade populacional de *Brachiaria plantaginea* (■), *Sida rhombifolia* (●) e total (▲), em função de níveis crescentes de palha sobre o solo, aos 22 (a) e 50 (b) dias após a sua movimentação (DAM), na média dos genótipos BR 304 e BR 601. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000. Equações de regressão linear, seus coeficientes de determinação e significância de F, encontram-se na Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Equações, valores dos coeficientes de determinação e significância da regressão linear entre níveis de palha de sorgo e densidades de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e total, aos 22 e 50 dias após a movimentação da palha (DAM). UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 1999/2000.

Variável dependente	Época de avaliação	Equação	r ²	F ¹
Densidade de BRAPL	22 DAM	y = 83,0 – 26,11 x	0,82	3,73 ²
	50 DAM	y = 71,5 – 26,04 x	0,87	6,54 *
Densidade de SIDRH	22 DAM	y = 147,3 – 64,79 x	0,80	7,25*
	50 DAM	y = 165,7 – 71,60 x	0,85	5,88*
Densidade total	22 DAM	y = 258,5 – 95,29 x	0,83	5,22*
	50 DAM	y = 260,0 – 100,03 x	0,90	8,00**

* Significativo a 5%.

** Significativo a 1%.

¹ Valores originais transformados para log (x+10).

² Significativo a 6%.

tonelada de palha adicionada, respectivamente, para BRAPL, SIDRH e total (Figura 4.2. e Tabela 4.10).

Redução mais efetiva da densidade de plantas daninhas poderia ser obtida se a dessecação fosse realizada em estádios de desenvolvimento mais avançados do que o foram (V₆ ou V₇), obtendo-se, assim, maiores quantidades de palha na superfície do solo. Em comparação ao solo desnudo, no mínimo 6 t.ha⁻¹ de palha de trigo foram necessárias para reduzir em 50% a infestação de *Setaria faberi* R. Herrm. (Vidal & Bauman, 1996). No presente experimento, em geral, quantidades de palha de sorgo (médias dos genótipos BR 304 e BR 601 e de duas avaliações) de apenas 1,47 t.ha⁻¹ e 1,14 t.ha⁻¹ foram necessárias, respectivamente, para reduzir as

infestações BRAPL e SIDRH em 50% (Tabela 4.10). No entanto, quantidade de palha de *Avena strigosa* Schreb. de 10 t.ha⁻¹ não foi suficiente para impedir totalmente o estabelecimento de plantas de BRAPL em soja (Theisen et al., 2000).

No segundo ano experimental (2000/2001) foram realizadas comparações entre todos os genótipos/espécies na ausência ou presença de 4 t.ha⁻¹ de palha na superfície do solo, considerando-se também a utilização ou não de herbicida gramínica. As Tabelas 4.11. e 4.12. mostram os resumos das análises de variância das variáveis dependentes. Os valores significativos dos efeitos simples ou das interações envolvendo o fator gramínica, relativos às variáveis BRAPL e total (população ou produção de matéria seca) são esperados, em função de mortalidade das plantas de BRAPL causada pela utilização do herbicida, que contrasta com o tratamento sem seu uso.

Tabela 4.11. Resumo da análise de variância das características população de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e *Bidens* sp. (BIDSS) aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em função dos fatores genótipos de sorgo e milho, uso de herbicida gramínica e níveis de palha. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

Causas da variação	BRAPL (plantas.m ⁻²)		SIDRH (plantas.m ⁻²)		BIDSS (plantas.m ⁻²)	
	21 DAM	56 DAM	21 DAM	56 DAM	21 DAM	56 DAM
-----Valores de F ¹ -----						
Genótipos	1,28 ^{n.s.}	1,06 ^{n.s.}	1,82 ^{n.s.}	1,43 ^{n.s.}	0,26 ^{n.s.}	0,58 ^{n.s.}
Gramínica	107,07**	100,36**	8,16*	0,0003 ^{n.s.}	0,58 ^{n.s.}	1,24 ^{n.s.}
Genótipos x gramínica	0,64 ^{n.s.}	0,50 ^{n.s.}	0,12 ^{n.s.}	0,50 ^{n.s.}	0,54 ^{n.s.}	0,42 ^{n.s.}
Palha	115,60**	52,92**	100,47**	49,04**	7,57*	0,08 ^{n.s.}
Genótipos x palha	1,16 ^{n.s.}	0,88 ^{n.s.}	0,06 ^{n.s.}	0,19 ^{n.s.}	1,13 ^{n.s.}	0,36 ^{n.s.}

Graminícida x palha	115,60 **	52,92**	0,53 ^{n.s.}	0,20 ^{n.s.}	2,45 ²	0,008 ^{n.s.}
Genótipos x gramínícida x palha	1,16 ^{n.s.}	0,88 ^{n.s.}	1,06 ^{n.s.}	0,63 ^{n.s.}	0,46 ^{n.s.}	0,85 ^{n.s.}

^{n.s.} Não significativo.

* Significativo a 5%.

** Significativo a 1%.

¹ Valores originais transformados para log (x+10)

² Significativo a 13%.

Tabela 4.12. Resumo da análise de variância das características densidade total de plantas daninhas, e matéria seca de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Bidens* sp. (BIDSS), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e total de plantas daninhas, em função dos fatores genótipos de sorgo/milheto, uso de herbicida gramínícida e níveis de palha. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

	Densidade Total (plantas.m ⁻²)		MS BRAPL (g.m ⁻²)	MS BIDSS (g.m ⁻²)	MS SIDRH (g.m ⁻²)	MS Total (g.m ⁻²)
Causas da variação	21 DAM	56 DAM	56 DAM	56 DAM	56 DAM	56 DAM
-----Valores de F ¹ -----						
Genótipos	0,45 ^{n.s.}	0,71 ^{n.s.}	0,63 ^{n.s.}	0,48 ^{n.s.}	1,70 ^{n.s.}	1,85 ^{n.s.}
Gramínícida	22,05**	13,51 **	55,95**	7,28 *	9,33 **	3,75 ^{n.s.}
Genótipos x gramínícida	0,71 ^{n.s.}	0,79 ^{n.s.}	0,38 ^{n.s.}	0,22 ^{n.s.}	2,09 ⁴	0,73 ^{n.s.}
Palha	80,22**	69,24**	33,52**	0,01 ^{n.s.}	18,09**	30,49**
Genótipos x palha	1,99 ²	1,51 ^{n.s.}	1,94 ³	0,34 ^{n.s.}	0,07 ^{n.s.}	0,66 ^{n.s.}
Gramínícida x palha	8,75**	8,96**	33,51 **	2,54 ^{n.s.}	4,12 *	0,01 ^{n.s.}
Genótipos x gramínícida x palha	0,20 ^{n.s.}	0,58 ^{n.s.}	1,94 ^{n.s.}	0,69 ^{n.s.}	1,18 ^{n.s.}	0,51 ^{n.s.}

^{n.s.} Não significativo.

* Significativo a 5%.

** Significativo a 1%.

¹ Valores originais transformados para log (x+10)

² Significativo a 13%.

³ Significativo a 14%.

⁴ Significativo a 15%.

A eliminação das plantas daninhas gramíneas pela utilização de graminicida não afetou a densidade de BIDSS, mas reduziu a população de plantas de SIDRH na primeira avaliação, aos 21 DAM (Tabela 4.13). Aos 56 DAM, não se verificou este efeito, provavelmente em função da mortalidade de plantas (auto-desbaste) que se verifica sob populações elevadas (Radosevich et al., 1997). No entanto, a massa

Tabela 4.13. Densidades populacionais de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e *Bidens* sp. (BIDSS) aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em resposta à presença ou não de cobertura morta de sorgo/ milho e de espécies daninhas gramíneas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

		Densidade de plantas daninhas (plantas.m ⁻²)							
Herbicida graminicida	BRAPL			SIDRH			BIDSS		
	Com palha	Sem palha	Médias	Com palha	Sem palha	Médias	Com palha	Sem palha	Médias
21 DAM									
Sem	21 B*	579 A	300	14	195	104 a	a 39 B	a 96 A	115
Com	-	-	-	6	96	51 b	a 46 A	a 59 A	52
Médias	-	-		10 B	145 A		43	76	
56 DAM									
Sem	22 B	346 A	184	16	115	65 ^{n.s.}	35 ^{n.s.}	38	36 ^{n.s.}
Com	-	-	-	19	104	61	44	45	44
Médias	-	-		18 B	109 A		39^{n.s.}	41	

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

^{n.s.} Não significativo.

seca.m⁻² das plantas destas espécies daninhas foi superior na ausência de competição com gramíneas, efeito observado apenas nos tratamentos sem cobertura morta na superfície do solo (Tabela 4.14). Isto pode ser explicado pelas densidades

populacionais superiores de plantas daninhas em estádios precoces nos tratamentos sem cobertura morta e sem uso de herbicida graminicida (Tabela 4.13), em comparação aos tratamentos com presença de palha na superfície do solo.

A presença apenas das raízes em decomposição, das cultivares de sorgo BR 601 e RS 11 e da cultivar de milho Comum RS incrementou a população de plantas daninhas aos 21 DAM, em comparação à testemunha sem as culturas

Tabela 4.14. Massa seca de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL), *Sida rhombifolia* (SIDRH) e *Bidens* sp. (BIDSS), determinada aos 56 dias após a movimentação de palha (DAM), em função da presença ou não de palha de sorgo/milho na superfície do solo e de espécies daninhas gramíneas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

Herbicida graminicida	Massa seca de plantas daninhas (g.m ⁻²)							
	BRAPL		SIDRH			BIDSS		
	Com palha	Sem palha	Com palha	Sem palha	Médias	Com palha	Sem palha	Médias
Sem	23 B*	141 A	a 3 A	b 10 A	6	a 29 A	b 20 A	24
Com	-	-	a 4 B	a 32 A	18	a 40 A	a 59 A	49
Médias	-	-	3	21		34	39	

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

(Tabela 4.15). Este efeito não foi observado aos 56 DAM. As populações médias totais de plantas daninhas na testemunha sem a presença de cobertura foram de 604 e 483 plantas.m⁻², respectivamente, aos 21 e 56 DAM; enquanto, na presença de raízes em decomposição, foram de 1217 e 745 plantas.m⁻², respectivamente, na média dos genótipos (Tabela 4.15). No experimento que testou o efeito de extratos radiculares de natureza hidrofílica, descrito no Capítulo 2, verificou-se estimulação do crescimento da radícula e da parte aérea de plântulas de alface, mas não se

verificou incremento na germinação final, nem houve aumento na velocidade de germinação desta espécie (Capítulo 2).

A presença de 4 t.ha⁻¹ de palha de sorgo ou milho na superfície do solo reduziu a população de SIDRH em 93% e 83%, respectivamente, aos 21 e 56 DAM, em relação à ausência de palha na superfície do solo (mas com presença das raízes das plantas) (Tabela 4.13). No tratamento em que não se utilizou herbicida

Tabela 4.15. Densidade total de plantas daninhas avaliada aos 21 e 56 dias após a movimentação de palha (DAM), em genótipos de sorgo e milho, na ausência de herbicida gramínicida e de palha na superfície do solo (mas na presença de raízes em decomposição), em comparação com testemunha sem presença de resíduos da parte aérea e de raízes das culturas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

Tratamentos	Densidade total de plantas daninhas (plantas.m ⁻²)	
	21 DAM	56 DAM
Sorgo BR 304	1078 ab ¹	631 ^{n.s.}
Sorgo BR 601	1098 a	694
Sorgo RS 11	1400 a	830
Milho Comum RS	1293 a	824
Testemunha sem cultura	604 b	483
Valores de F (tratamentos)	3,80*	1,34 ^{n.s.}
CV (%)	28,6	36,0

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

^{n.s.} Não significativo.

* Significativo a 5%.

gramínicida, a presença de palha reduziu as densidades de BRAPL, em 96 e 94%, respectivamente, aos 21 e 56 DAM, e de BIDSS em 59%, aos 21 DAM (Tabela 4.13). Sem uso de herbicida gramínicida, a população total de plantas daninhas foi reduzida em 91 e 84%, respectivamente, aos 21 e 56 DAM, em relação à ausência de palha na superfície do solo. Com a utilização de herbicida gramínicida, as reduções da

população total foram de 72 e 60%, respectivamente, aos 21 e 56 DAM (Tabela 4.16).

Houve redução média de 62% na massa seca total de plantas daninhas pelo efeito da palha (Tabela 4.16), devido principalmente à redução de 84% da massa de BRAPL, no tratamento sem uso de herbicida gramínico e de 87% da massa de SIDRH, no tratamento com utilização de gramínico (Tabela 4.14). Níveis de controle de *Galinsoga parviflora* Pav. e de *Richardia brasiliensis* (Moq.), de 92 e

Tabela 4.16. População e massa seca total de plantas daninhas avaliadas aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em função da presença ou não de palha na superfície do solo e de espécies daninhas gramíneas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

Herbicida gramínico	População total (plantas.m ⁻²)		Massa seca total (g.m ⁻²)		
	Com palha	Sem palha	Com palha	Sem palha	
21 DAM					
Sem	a 104 B*	a 1115 A	-	-	
Com	a 57 A	b 203 B	-	-	
56 DAM					
Sem	a 107 B	A 682 A	78	213	b 46
Com	a 81 B	b 201 A	50	116	a 83
Média			63 B	164 A	

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

83%, respectivamente, com cobertura morta de sorgo obtida pela densidade de semeadura de 200.000 plantas.ha⁻¹, foram observados por Peixoto et al. (2000).

Nas duas datas de avaliação, nos tratamentos com cobertura de palha, houve menor densidade total de plantas daninhas no genótipo de sorgo BR 601 do que em RS 11 (Tabela 4.17). Também, constatou-se, nos tratamentos com palha, menor massa seca de BRAPL em BR 601 e BR 304, em relação à cultivar Comum de milho (Tabela 4.18). Por outro lado, não foram detectadas diferenças entre

genótipos nos tratamentos sem cobertura de palha. A cultivar de sorgo BR 601 também reduziu com maior intensidade a população total de plantas daninhas nas linhas de semeadura, em relação aos demais genótipos de sorgo, na fase em que as plantas da cultura estavam vivas, no experimento conduzido 2000/2001 (Tabela 4.3). Estes resultados concordam, em parte, com os verificados no experimento com extratos hidrofílicos (Capítulo 2). Na concentração mais discriminatória de extratos

Tabela 4.17. Densidade total de plantas daninhas aos 21 e 56 dias após a movimentação da palha (DAM), em função da presença ou não de cobertura morta na superfície do solo e genótipos/espécies de plantas cultivadas. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

		Genótipos/Espécies			
		Sorgo BR 304	Sorgo BR 601	Sorgo RS 11	Milheto
		-----Densidade total de plantas daninhas (plantas.m ⁻²)-----			
Palha	Aos 21 DAM				
	Com	b* 64 AB	b 42 B	b 131 A	b 98 AB
Sem	a 506 A	a 533 A	a 407 A	a 480 A	
		Aos 56 DAM			
Com	b 87 AB	b 57 B	b 134 A	b 113 AB	
Sem	a 362 A	a 407 A	a 360 A	a 361 A	

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna dentro do fator genótipos/espécies ou níveis de palha, não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

Tabela 4.18. Massa seca de *Brachiaria plantaginea* (BRAPL) e *Sida rhombifolia* (SIDRH), em função dos fatores genótipos/espécies, presença ou não de palha na superfície do solo e do uso de herbicida graminicida. UFRGS, Eldorado do Sul, RS, 2000/2001.

		Genótipos/Espécies			
		BR 304	BR 601	RS 11	Milheto

Palha		Massa seca de BRAPL (g.m ⁻²)			
Com	b* 7 B	b 12 B	b 27 AB	a 70 A	
Sem	a 167 A	a 123 A	a 143 A	a 133 A	
Graminícida		Massa seca de SIDRH (g.m ⁻²)			
Com	a 6 AB	b 1,5 B	a 7 AB	a 13 A	
Sem	a 6 B	a 19 AB	a 14 AB	a 22 A	

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna dentro do fator genótipos/espécies ou herbicida gramínicida, não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

hidrofílicos da parte aérea (1,17%), a cultivar de sorgo BR 601 foi mais tóxica que as demais. Porém, naquela condição, os extratos da parte aérea de milho foram mais tóxicos do que os dos genótipos de sorgo, ao contrário do que se verificou no presente experimento.

Comparando efeitos de diferentes partes de plantas de sorgo em um experimento em baldes, Hoffman et al. (1996) não observaram diferenças sobre a emergência de *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv e *Abutilon theophrasti* Medik., mas verificaram redução mais pronunciada no crescimento das raízes do que da parte aérea das plantas. Os resultados apresentados no presente capítulo indicam pequena probabilidade de exsudatos radiculares hidrofóbicos de sorgo exercerem efeito sobre a emergência e o desenvolvimento de plantas daninhas após a dessecação das plantas de sorgo.

Sorgoleone, o principal componente dos extratos hidrofóbicos de sorgo, é liberado das raízes para o solo (Netzly et al., 1988), mas em função de sua baixa mobilidade neste meio (Capítulo 4), é provável que sua ação, caso exista alguma, restrinja-se à região próxima às raízes das plantas.

A presença de resíduos da parte aérea das plantas das culturas foi mais inibitória a plantas daninhas do que a presença de resíduos de raízes. A parte aérea das plantas pode mostrar maior atividade sobre plantas daninhas devido a efeitos físicos ou alelopáticos. A redução na disponibilidade de radiação solar (Facelli & Pickett, 1991; Vidal, 1995) e na amplitude térmica na camada superficial do solo coberto com palha (Teasdale & Mohler, 1993; Vidal, 1995) podem resultar em menores taxas de germinação e emergência de plantas daninhas. Além disso, é necessário soma térmica mínima para desencadear o processo germinativo de espécies como BRAPL (Carollo et al., 1997).

Efeitos inibitórios sobre plantas daninhas foram mais pronunciados em alguns genótipos de sorgo. Como se trabalhou com quantidades de palha equivalentes entre os genótipos, estas diferenças podem dever-se a variações qualitativas e quantitativas na liberação de substâncias pela parte aérea das plantas em decomposição. Resíduos de sorgo em decomposição liberam quantidades expressivas de substâncias hidrofílicas, em sua maioria ácidos fenólicos, como ferúlico, vanílico, p-hidroxibenzóico, p-cumárico e sirínico (Guenzi & McCalla, 1966, Nicollier et al. 1983; Weston et al., 1999). As concentrações totais de substâncias fenólicas em plantas de sorgo variam entre genótipos, com a parte da planta e com a estação de crescimento (Ben-Hammouda et al., 1995b).

4.4. CONCLUSÕES

1. A produção diferencial de extratos radiculares hidrofóbicos em laboratório por genótipos de sorgo não se relaciona à densidade de plantas e ao desenvolvimento

de *Brachiaria plantaginea* e *Sida rhombifolia* em condição de campo, seja na fase de plantas de sorgo em pé ou após a sua dessecação.

2. A densidade total de plantas daninhas nas linhas de semeadura relaciona-se inversamente com a população de plantas de sorgo cultivadas neste local, embora ela não mostre efeito sobre a população de plantas daninhas nas entrelinhas.
3. O incremento da cobertura do solo com palha de sorgo reduz linearmente as infestações de *B. plantaginea*, *S. rhombifolia* e total de plantas daninhas.
4. A presença de resíduos da parte aérea de sorgo é mais importante na supressão de plantas daninhas do que a presença de resíduos das raízes dessa cultura.

5. CAPÍTULO IV – SORÇÃO DE SORGOLEONE NO SOLO E SUA QUANTIFICAÇÃO EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

5.1. INTRODUÇÃO

A liberação de um composto alelopático no meio não garante, necessariamente, sua eficiência biológica. No solo, estes compostos estão sujeitos aos processos de retenção, transporte e transformação, que determinam sua disponibilidade. Para que um composto exerça ação alelopática em condições de campo, ele deve estar presente na solução do solo em concentração adequada e por tempo suficiente (Cheng, 1992; Waller et al., 1999).

Sorção é um termo geral que engloba os principais processos de retenção de substâncias no solo: adsorção, precipitação e absorção (Koskinen & Harper, 1990). Enquanto a adsorção trata da interação em escala bidimensional, a absorção envolve a interação com uma matriz tridimensional (Schwarzenbach et al., 1993). A sorção é extremamente importante porque pode influenciar sobremaneira o

comportamento e o impacto das substâncias no ambiente. Como este processo controla a quantidade de substâncias alelopáticas na solução do solo, é determinante de sua atividade biológica, persistência, mobilidade e volatilização.

O processo de sorção é extremamente complexo, pois depende de características do solo, como conteúdo e tipo de argilas e matéria orgânica, umidade e forças iônicas. Também depende de características físico-químicas das substâncias envolvidas, como natureza, acidez ou alcalinidade dos grupos funcionais, tamanho e forma das moléculas, polaridade, carga e polarizabilidade (McBride, 1994; Meurer et al., 2000). O processo de sorção é dinâmico, pois moléculas são continuamente transferidas da fase sólida do solo para a solução e vice-versa, por isto, muitas vezes, o processo é chamado de sorção/dessorção. A sorção de compostos apolares relaciona-se predominantemente aos constituintes da matéria orgânica do solo (Chiou et al., 1983; Schwarzenbach et al., 1993; McBride, 1994), embora também possa relacionar-se às superfícies de materiais inorgânicos (Rogers et al., 1980; Murphy et al., 1990; Schwarzenbach et al., 1993).

A sorção de substâncias é comumente representada por isotermas de sorção, que relacionam a quantidade de substância sorvida (sorbato) à fase sólida (sorvente), a sua concentração na solução. Os tipos mais comuns de isotermas são as dos tipos L, S, C e H. Na isoterma do tipo L, há uma afinidade relativamente alta entre sorbato e sorvente, que é reduzida à medida que os locais vão sendo ocupados; na do tipo S, também denominada sorção cooperativa, em baixas concentrações ocorre baixa sorção, e ela aumenta à medida que se eleva o número de moléculas na superfície. No caso do tipo C, há afinidade constante do sorbato pelo sorvente e esse distribui-se na superfície do sorvente sem nenhuma ligação

específica com este; já, na isoterma do tipo H, o sorbato apresenta altíssima afinidade pelo sorvente, o que indica a presença de ligações iônicas ou covalentes com colóides do solo (McBride, 1994; Meurer et al., 2000).

Devido à elevada hidrofobicidade de sorgoleone (Netzly & Butler, 1986), supõe-se que este composto apresente elevada sorção e baixa mobilidade no solo, o que poderia reduzir sua ação alelopática a campo. Em função da característica hidrofóbica deste composto, os trabalhos de adsorção só podem ser conduzidos se for adicionado outro solvente à água, em proporção que viabilize a solubilização de sorgoleone. Hipotetiza-se que, além da ação limitada pela retenção no solo, sorgoleone também possa estar presente em quantidades insuficientes na solução para gerar efeitos sobre plantas.

Sorgoleone é exsudado pelas raízes das plantas de sorgo (Netzly & Butler, 1986; Fate et al., 1990; Czarnota et al., 2001). A exsudação pelas raízes estabelece um gradiente, com concentração decrescente à medida que aumenta a distância das raízes. Em meio de ágar, em placas de petri, aos 14 dias de desenvolvimento das plântulas, a concentração de sorgoleone variou de 10^{-6} M (0,36 ppm), junto às raízes, até 10^{-7} M (0,036 ppm), na zona de 1 a 1,5 cm de afastamento (Fate et al., 1990). A tentativa de determinar a concentração de sorgoleone em um sistema onde plantas de sorgo são cultivadas em solução nutritiva, em esquema tipo “stair-step”, revelou-se frustrada (Barbosa et al., 1998a).

A obtenção de informações sobre o destino de sorgoleone é um passo importante para o conhecimento do comportamento desse composto no ambiente e de seu potencial em inibir o desenvolvimento de plantas daninhas a campo. Por esta razão este estudo foi conduzido com os objetivos de avaliar o comportamento sortivo

de sorgoleone em Argissolo em dois sistemas de solventes e quantificar e determinar o destino de sorgoleone produzido por plantas de sorgo em solução nutritiva.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Solubilização de sorgoleone

Em função de sorgoleone ser virtualmente insolúvel em água (Netzly & Butler, 1986), inicialmente realizou-se a determinação da proporção adequada de metanol:água (MeOH:H₂O) que viabilizasse sua solubilização. Para determinar a solubilização de sorgoleone e para os experimentos que se seguiram, utilizou-se MeOH 99% P.A. e água deionizada. Quantidade de 1 mg de sorgoleone padrão, purificado e identificado conforme descrito no Capítulo 1, e 25 ml de solução, foram testadas em proporções de 10:90, 17:83, 29:71, 40:60 e 60:40 v/v de MeOH:H₂O. Após preparo dos diversos sistemas, estes permaneceram em repouso durante 12 horas, à temperatura ambiente. A verificação da solubilização foi realizada qualitativamente (visualmente), em que a completa solubilização foi caracterizada pela solução límpida e ausência de precipitados ou micelas de sorgoleone junto às paredes do recipiente.

Determinação do coeficiente de partição de sorgoleone

Estimou-se o coeficiente de partição octanol/água, também conhecido apenas como coeficiente de partição (k_{ow}) de sorgoleone, através de método que utiliza a cromatografia líquida de alta performance (HPLC), segundo recomendações da OECD (OECD, 1989).

O método baseou-se na injeção, em HPLC, de substâncias com k_{ow} conhecido (Tabela 5.1) e do padrão de sorgoleone, o que permitiu determinar os tempos de retenção (TR's). Posteriormente, a relação entre log TR's de substâncias conhecidas

Tabela 5.1. Substâncias utilizadas como referência para estimar o coeficiente de partição de sorgoleone, seus respectivos log k_{ow} 's e comprimentos de onda usados para sua detecção em HPLC. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Substância	Log k_{ow}	Comprimento de onda utilizado para detecção (nm)
Nitrobenzeno	1,9	260
Atrazina	2,6	225
Naftaleno	3,6	220
1,2,4-triclorobenzeno	4,2	225
DDT	6,2	225

e seus log k_{ow} 's, foi ajustada por regressão linear. Este método permitiu estimar o valor de k_{ow} de sorgoleone.

Utilizou-se cromatógrafo Shimadzu LC-10AD, nas seguintes condições: detector ultra-violeta (UV) a comprimentos de onda variáveis de acordo com a substância injetada, determinados através de varredura em espectrofotômetro (Tabela 5.1); coluna fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm) e 'loop' de injeção com capacidade de 50 μ L; temperatura do forno de 30°C; fase móvel acetonitrila:água 70:30 (v/v) em fluxo de 0,8 mL.min⁻¹. Previamente à injeção, as amostras foram filtradas em membranas com diâmetro de poros de 0,45 μ m.

Sorção de sorgoleone ao solo

A sorção de sorgoleone foi avaliada em dois sistemas de solventes: solução de MeOH:H₂O, na proporção mínima de MeOH que viabilizasse a solubilização (60:40 v/v), e metanol (MeOH). Através da utilização de MeOH buscou-se verificar o efeito que este solvente exerce sobre o processo de sorção de sorgoleone.

Para cada sistema de solvente, a sorção foi conduzida agitando-se 500 mg de solo com 10 mL de solução contendo 0, 5, 10, 15, 25, 40 e 60 mg.L⁻¹ de padrão de sorgoleone, durante 24 horas. Esta mistura foi separada por centrifugação a 4000 rpm por 30 min., retirando-se o sobrenadante com auxílio de uma pipeta do tipo Pasteur. Utilizou-se solo do horizonte superficial (0-5 cm de profundidade) de um solo Argissolo Vermelho Distrófico típico (Pvd) (Streck et al., 1999), manejado em ausência de preparo para cultivo por período superior a 5 anos consecutivos. A Tabela 5.2. descreve as principais características do solo utilizado.

Tabela 5.2. Composição química e textural do solo utilizado na sorção de sorgoleone. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

M.O. ¹	Argila	pH H ₂ O	P	K	Al	H+Al	Ca	Mg	C.T.C. ²	S.B. ³
(%)	(%)		---(mg.dm ⁻³)---		-----cmol.L ⁻¹ -----					(%)
2,9	29	5,5	30	205	0,0	2,5	3,6	2,0	8,6	71

¹ Matéria orgânica.

² Capacidade de troca de cátions.

³ Saturação de bases.

A concentração de sorgoleone na solução de equilíbrio (sobrenadante) foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Utilizou-se o mesmo equipamento e condições cromatográficas do item anterior (“Determinação do coeficiente de partição de sorgoleone”), com exceção do comprimento de onda e fluxo da fase móvel, que foram, respectivamente, 280 nm e 1,0 mL.min⁻¹.

Foram utilizadas duas provas em branco: sorgoleone na concentração de 25 mg.L⁻¹, sem adição de solo, para verificar possível degradação da substância durante o procedimento de sorção e com solo contendo somente os sistemas de solventes, para confirmar a inexistência na solução de substâncias orgânicas com pico cromatográfico com tempo de retenção similar ao de sorgoleone. O trabalho confirmou não haver degradação significativa do composto durante o procedimento de agitação e, também, a inexistência de composto com tempo de retenção similar ao de sorgoleone. A diferença entre a concentração inicial e a concentração de equilíbrio foi assumida ser a quantidade de sorgoleone sorvida ao solo.

Neste ensaio, utilizou-se delineamento completamente casualizado, com duas repetições, arranjado em um fatorial 2 x 6 (sistemas de solvente x concentrações de equilíbrio de sorgoleone na solução do solo). As quantidades de sorgoleone sorvidas foram submetidas à análise de variância, seguindo modelo fatorial. A relação entre a quantidade sorvida e a concentração de equilíbrio foi ajustada segundo os modelos linear ($x/m = a + K_d C_e$) e de Freundlich ($x/m = K_f C_e^{1/n}$), onde: x/m é a quantidade de sorgoleone sorvida ao solo (mg.kg⁻¹); C_e é a concentração de sorgoleone em equilíbrio na solução do solo (mg.L⁻¹); K_f (coeficiente de adsorção de Freundlich) e n são constantes refletindo, respectivamente, a intensidade de sorção e o grau de linearidade entre a quantidade sorvida e a concentração de equilíbrio da substância na solução do solo; os valores de K_d (coeficiente de partição no solo) e “a”, no modelo linear, são constantes que representam, respectivamente, a intensidade de sorção e o valor do intercepto da equação linear no eixo das

ordenadas. O valor de K_{oc} (coeficiente de partição em relação ao carbono orgânico do solo) foi definido pela equação: $K_{oc} (L.kg^{-1}) = (K_d / \%C) \times 100$.

O modelo de ajuste mais adequado foi selecionado, comparando-se os coeficientes de determinação das curvas obtidas. Os valores de K_d , K_{oc} e K_f foram então comparados através do teste t.

Quantificação e determinação do destino de sorgoleone em solução nutritiva

Este experimento foi conduzido em ambiente de casa de vegetação, para avaliar quali e quantitativamente a exsudação de sorgoleone por raízes de plantas de sorgo. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, arranjados em um esquema fatorial, onde o fator A consistiu do número de dias de desenvolvimento das plantas em solução nutritiva (5 e 10 dias) e o fator B, o local de deposição dos exsudatos (solução nutritiva e paredes internas do recipiente).

Sementes do genótipo BR 304 de sorgo foram acondicionadas em rolos de papel filtro umedecidos com água destilada, desenvolvidas por 3 dias em câmara de crescimento (BOD), à temperatura de 27 °C, até que as plântulas possuíssem duas folhas não desenroladas. Três destas plântulas foram colocadas em cada recipiente de vidro, com capacidade para 150 mL de solução nutritiva (Tabela 5.3), elaborada segundo adaptação da técnica referida por Camargo & Oliveira (1981). Os recipientes tiveram suas paredes recobertas com papel laminado, tampados com isopor e aerados com um sistema circulador de ar. Aos 10 dias de desenvolvimento

das plantas de sorgo em solução nutritiva, as plantas foram coletadas para extração e quantificação gravimétrica dos extratos hidrofóbicos, conforme descrito no item “Quantificação de extratos radiculares hidrofóbicos e determinação da pureza de sorgoleone”, (Capítulo 1). Após a extração, as raízes foram secadas em estufa, para posterior determinação da massa seca de raízes. Aos 5 e 10 dias de desenvolvimento em solução nutritiva foram analisadas as substâncias presentes no meio e nas paredes internas dos recipientes.

Tabela 5.3. Composição da solução nutritiva utilizada no experimento de exsudação de sorgoleone. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Substância	Concentração (mM)
Ca(NO ₃).24 H ₂ O	4
MgSO ₄ .H ₂ O	2
KNO ₃	4
(NH ₄)SO ₄	0,43
KH ₂ PO ₄	0,5
MnSO ₄ .H ₂ O	0,02
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0003
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,0008
NaCl	0,03
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0001
H ₃ BO ₃	0,01
FeSO ₄ . 7H ₂ O	8,6
NaEDTA.2H ₂ O	8,6

Adaptado de: Camargo & Oliveira (1981).

A recuperação de sorgoleone da solução nutritiva retirada dos recipientes foi realizada através de extração líquido-líquido. Neste procedimento, no interior de uma pera de decantação, foram adicionados 50 mL de diclorometano e 20 mL de metanol à solução nutritiva (150 mL). Após agitação vigorosa da mistura, aguardou-se a decantação e formação de duas fases de solventes (metanol:água e

diclorometano). A extração líquido-líquido foi dificultada, em função da formação de micelas entre as duas fases (diclorometano e metanol:água). As micelas formadas e o diclorometano foram retirados da pera de decantação e estas frações foram utilizadas para uma repetição do procedimento de extração.

As paredes internas dos recipientes utilizados para cultivar as plantas de sorgo foram cuidadosamente lavadas com 20 mL de diclorometano por unidade. Os resíduos de água contidos nestas amostras foram retirados, passando-as em colunas de sulfato de sódio, utilizando-se como eluente 20 mL de diclorometano. As amostras contendo diclorometano, resultantes da extração líquido-líquido (solução nutritiva) e da lavagem das paredes internas dos recipientes, foram evaporadas em evaporador rotatório e, posteriormente, diluídas em metanol para injeção em HPLC, onde foram comparadas com o padrão de sorgoleone. As concentrações de sorgoleone foram submetidas à análise de variância pelo teste F e as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste da diferença mínima significativa (DMS).

Através da análise da variância, foram comparados os dados obtidos nesse experimento, conduzido inicialmente em câmara de crescimento e, posteriormente, em solução nutritiva, com os do experimento conduzido em câmara de crescimento, descrito no Capítulo 1 desta tese.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Solubilização de sorgoleone

Das diferentes combinações de MeOH:H₂O testadas (10:90; 17:83; 29:71; 40:60 e 60:40 v/v), apenas em 60:40 v/v houve formação de uma solução uniforme, após manutenção por 12 horas em temperatura ambiente (Tabela 5.4). A proporção de 60:40 (MeOH:H₂Ov/v), que viabilizou a solubilização de sorgoleone, foi utilizada nos experimentos para determinar sua sorção.

Tabela 5.4. Análise qualitativa da solubilização de sorgoleone em diferentes combinações de metanol:água (MeOH:H₂O). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

	Proporção MeOH:H ₂ O				
	10:90	17:83	29:71	40:60	60:40
Solubilização de sorgoleone	Não ¹	Não	Não	Não	Sim ²

¹ Não = ausência de solubilização completa.

² Sim = formação de solução uniforme. Resultados baseados na avaliação visual da coloração e da presença ou não de sorgoleone precipitado ou em micelas na solução.

Determinação do coeficiente de partição de sorgoleone

Os valores dos tempos de retenção (TR's), determinados por cromatografia líquida, das substâncias utilizadas como referência para determinar o k_{ow} de sorgoleone encontram-se na Tabela 5.5. A relação entre log TR e log k_{ow} (conhecido) destas substâncias, foi ajustada por regressão linear (Figura 5.1). A partir da equação de regressão, estimou-se o log k_{ow} de sorgoleone em 6,1 (k_{ow} = 1258925). Este valor situa-se muito próximo ao log k_{ow} do inseticida DDT (2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1,1,-trichloroethane), que é de 6,2 (OECD, 1989), e é considerado muito alto. Isso indica elevada hidrofobicidade de sorgoleone.

Tabela 5.5. Tempos de retenção em HPLC das substâncias utilizadas como referências para determinação de k_{ow} de sorgoleone. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Substâncias	Tempo de retenção (min.)
Nitrobenzeno	2,53
Atrazine	2,71
Naftaleno	3,77
1,2,4-triclorobenzeno	5,52
DDT	10,31
Sorgoleone	10,04

Sorção de sorgoleone ao solo

Os sistemas de solventes utilizados (MeOH:H₂O 60:40 v/v e MeOH) influenciaram diferentemente a sorção de sorgoleone (Tabela 5.6). A relação entre as concentrações de equilíbrio de sorgoleone na solução e as quantidades

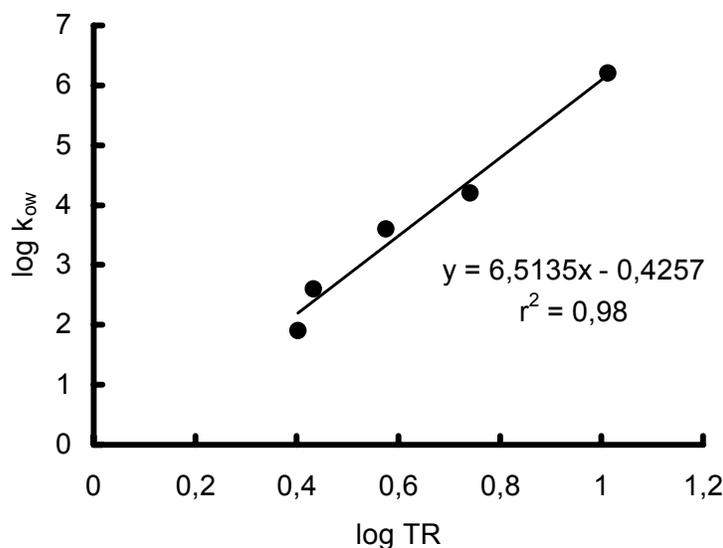


Figura 5.1. Relação entre os tempos de retenção (TR's) das substâncias utilizadas como referência para estimação do k_{ow} de sorgoleone, e de seus respectivos coeficientes de partição. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

Tabela 5.6. Resumo da análise de variância para sorção de sorgoleone em solo Argissolo Vermelho Distrófico típico. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Causas de variação	G.L.	F	Prob. > F
Sistema de solvente	1	0,010	0,919
Concentração (sistemas de solvente)	12	856,71	0,00001
Concentração de sorgoleone (MeOH:H ₂ O)	6	930,88	0,00001
Concentração de sorgoleone (MeOH)	6	782,53	0,00001
Resíduo	14		
CV (%)		4,40	

CV = coeficiente de variação;

Prob. = probabilidade;

GL = graus de liberdade.

sorvidas foram ajustadas pelos modelos linear e de Freundlich (Tabela 5.7).

Comparou-se a adequabilidade dos modelos utilizados, tendo como base os coeficientes de correlação (Tabela 5.7). O modelo de Freundlich ajustou um pouco melhor a relação entre as concentrações de equilíbrio e as quantidades sorvidas em MeOH do que o modelo linear. No entanto, quando o sistema de solventes foi MeOH:H₂O, ambos os modelos ajustaram igualmente tal relação (Tabela 5.7).

Tabela 5.7. Coeficientes de partição ao solo (K_d), de partição em relação ao teor de carbono orgânico (K_{oc}), de Freundlich (K_f e 1/n) e de correlação (r), na sorção de sorgoleone em Argissolo Vermelho Distrófico Típico em dois sistemas de solventes. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001/2002.

Sistema de solvente	K _d	K _{oc}	K _f	1/n	Coeficientes de correlação (r)	
					Linear	Freundlich
		-----(L.kg ⁻¹)-----				
MeOH:H ₂ O	37,01 a ¹	2130 a	31,4 b	1,05 a	0,99	0,99
MeOH	26,7 b	1410 b	124,3 a	0,55 b	0,94	0,98
Valor de t calculado	3,20*	3,20*	49,26**	7,69 ²		

¹ Comparações na coluna efetuadas pelo teste t.

* Significativo a 5%.

** Significativo a 1%.

² Significativo a 8%.

O valor superior de K_f no sistema que utilizou somente MeOH como solvente (Tabela 5.7), indica maior afinidade de sorgoleone ao solo neste meio mais hidrofóbico, quando comparado a MeOH:H₂O. O valor de $1/n$ do sistema MeOH (Tabela 5.7) foi significativamente menor do que 1 ($t = 29,27^*$, $P < 0,05$), o que caracteriza uma isoterma do tipo “L” (convexa) (Figura 5.2). Isotherma do tipo “L” indica afinidade relativamente alta entre sorbato e sorvente, que é reduzida à medida que os locais de sorção vão sendo ocupados pelo sorbato (McBride, 1994).

Em contrapartida, no sistema MeOH:H₂O (Tabela 5.7), o parâmetro $1/n$ não diferiu significativamente de 1 ($t=0,97$, $P > 0,50$), o que é indicativo de isoterma do tipo “C” (Figura 5.2). A isoterma do tipo “C” indica afinidade relativamente constante entre sorbato e sorvente e é típica do fenômeno de partição, onde não ocorre nenhuma ligação específica entre as espécies envolvidas (McBride, 1994).

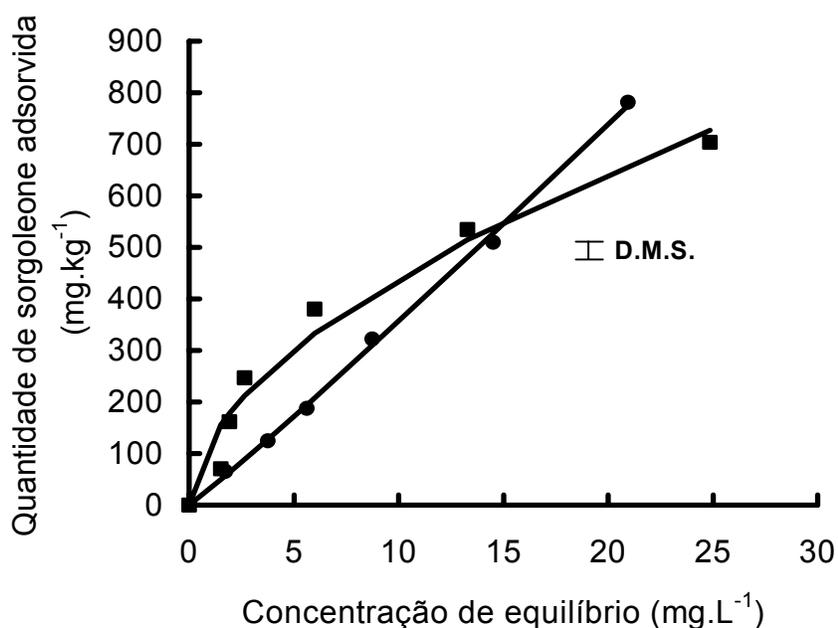


Figura 5.2. Relação entre quantidades adsorvidas e concentração de equilíbrio de sorgoleone nos sistemas de solventes compostos por • MeOH:H₂O ($y = 31,76 x^{1,05}$) e ■ MeOH ($y = 124,19 x^{0,55}$). UFRGS, Porto Alegre (RS), 2001. A barra vertical representa a diferença mínima significativa (teste DMS) a 5%.

O fato do meio mais hidrofóbico (MeOH) proporcionar sorção mais elevada em concentrações mais baixas de sorgoleone relativamente ao meio mais hidrofílico (MeOH:H₂O), segundo os valores de K_f, sugere que o metanol exerce efeito semelhante ao provocado pela adição de ácidos monocarboxílicos ao meio contendo matéria orgânica, como foi observado por Piccolo et al. (1999). A adição de ácidos monocarboxílicos rompe ligações hidrofóbicas fracas (forças de van der Waals), características dos componentes apolares da matéria orgânica, favorecendo a formação de ligações mais fortes, como pontes de hidrogênio, tendo, como consequência, o rearranjo das moléculas húmicas em agregados de tamanho menor (Piccolo et al., 1999). No presente estudo, as mudanças conformacionais na estrutura da matéria orgânica, devidas à adição de metanol ao meio, poderiam estar favorecendo a sorção de sorgoleone.

Os valores de K_d para MeOH:H₂O e MeOH foram, respectivamente, 37,06 e 24,55 L.kg⁻¹ (Tabela 5.7). Como a sorção de compostos apolares relaciona-se predominantemente à fração orgânica do solo (Chiou et al., 1983; Schwarzenbach et al., 1993; McBride, 1994), este fenômeno é mais adequadamente estimado pelos valores de K_{oc}. Os valores de K_{oc} dos sistemas MeOH:H₂O e MeOH foram, respectivamente, de 2130 e 1411 L.kg⁻¹ (Tabela 5.7). Isto significa que adição de água ao sistema, o que o aproxima à situação real de campo, leva ao aumento de 50% na sorção de sorgoleone. Estes valores estão próximos do limite estabelecido

por McBride (1994), que estimou que valores de K_{oc} maiores do que 1720 são indicativos de forte sorção e imobilidade de compostos no solo. Portanto, os coeficientes de sorção de sorgoleone ao solo Argissolo Vermelho, nos sistemas de solventes testados neste trabalho, permitem caracterizá-lo como altamente sorvido e, portanto, de baixa mobilidade no solo.

Não foram encontrados na literatura outros trabalhos tratando da sorção de sorgoleone, mas foi possível comparar os dados obtidos, com os de substâncias de natureza apolar. Os valores de K_{oc} de compostos não polares estão fortemente correlacionados aos seus valores de K_{ow} (Shea, 1989; McBride, 1994). Para efeitos comparativos, é importante citar conjuntamente aos valores de K_{oc} , os de K_{ow} . Em experimento conduzido para verificar a sorção de acetochlor ($K_{ow} = 300$), herbicida com característica neutra, na camada de 0 a 10 cm de um Argissolo Vermelho Distrófico típico, proveniente de área adjacente à do presente experimento, foi obtido valor de 88 L.kg^{-1} para K_{oc} (Ferri, 2001). Valores de K_{oc} entre 92 e 100 foram obtidos para sorção de benzeno ($K_{ow} = 134,9$) a solos com, 31 e 34% de argila, respectivamente (Rogers et al., 1980). As sorções de 1,2,4-triclorobenzeno ($K_{ow} = 10741$) e de 2,2,4-pentaclorobenzeno ($K_{ow} = 416869$) a um solo com 21% de argila, revelaram valores de K_{oc} de 291 e 13914, respectivamente (Chiou et al., 1983).

Esperava-se obtenção de valores para k_{oc} de sorgoleone (1410 a 2130) (Tabela 5.7) mais elevados, em função do elevado coeficiente de partição estimado para este composto ($\log K_{ow} = 6,1$). Karickhoff (1981) apud Shea (1989) estabeleceu para um grupo de hidrocarbonetos policíclicos (compostos não ionizáveis) uma relação linear ($r^2 = 0,997$) entre $\log K_{oc}$ e $\log K_{ow}$ ($\log K_{oc} = 0,989 \log K_{ow} - 0,346$). Estimando-se valor de K_{oc} de sorgoleone através desta equação, encontrar-se-ia valor de 486.295, muito acima do valor determinado pelo método de agitação das amostras de solo (Tabela 5.7). Isto talvez se deva ao fato de que, embora sorgoleone apresente em sua estrutura uma “cauda” apolar, a porção quinônica da molécula (“cabeça”) apresenta capacidade para se ionizar. É provável que a molécula, em sua forma ionizada, sofra menor sorção do que sua forma protonada. Aliado a isso, vale lembrar que, à medida que se adicionou 40% de água ao sistema de solventes, aumentou-se o K_{oc} de sorgoleone (Tabela 5.7), como referido antes. Assim, especula-se que, caso fosse

possível medir a sorção de sorgoleone utilizando-se apenas água, o K_{oc} esperado seria muito superior ao realmente obtido.

Quantificação e destino de sorgoleone em solução nutritiva

As análises cromatográficas detectaram concentração de sorgoleone três ordens de magnitude superior nas raízes, comparativamente às concentrações nas paredes internas dos recipientes onde se encontrava a solução nutritiva (Tabela 5.8). Não foi detectado sorgoleone na solução nutritiva. Trabalhando com um sistema “stair-step” e utilizando resina do tipo XAD-4 para concentrar sorgoleone, Barbosa et al. (1998a) também não lograram êxito em detectar esta substância em solução nutritiva. O caráter fortemente hidrofóbico de sorgoleone (Netzly & Butler, 1986), provavelmente provoque sua migração do meio aquoso para as paredes do recipiente, onde fica adsorvido.

Tabela 5.8. Concentrações de sorgoleone em resposta a períodos de desenvolvimento das plantas de sorgo e local de coleta, em experimento em solução nutritiva. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

Período de desenvolvimento em solução nutritiva (dias)	Concentração de sorgoleone (ppb) ¹		
	Solução	Parede do recipiente	Raízes
5	0,0	0,52 ^{n.s. 2}	- ³
10	0,0	0,34	363
Teste F (Tratamentos)		0,05	
Probabilidade > F		0,84	
DMS (5%)		0,45	
CV (%)		3,34	

¹ Valores relativos a 150 ml de solução nutritiva.

² Valores transformados por $\log(x+10)$.

³ Não determinado.

^{n.s.} Comparação na coluna não significativa ao nível de 5% pelo teste DMS. Médias entre colunas não comparadas.

Aos 14 dias de desenvolvimento de plântulas de sorgo em ágar preparado com água, Fate et al. (1990) observaram variação nas concentrações de sorgoleone de 10^{-6} M (0,36 ppm), junto às raízes, até 10^{-7} M (0,036 ppm), na zona de 1 a 1,5 cm de distância delas. No presente experimento, foram detectadas concentrações muito mais baixas de sorgoleone (0,5 e 0,34 ppb, respectivamente, aos 5 e 10 dias) (Tabela 5.8). O cálculo da concentração foi baseado no volume total de solução nutritiva em cada recipiente (150 ml), enquanto Fate et al. (1990) determinaram a concentração em secções de ágar. Assim sendo, as diferenças em concentrações entre os dois trabalhos podem ser parcialmente devidas às diferenças no volume total de solvente analisado.

Duas explicações podem ser dadas para as grandes diferenças de concentração de sorgoleone reveladas entre os tecidos das raízes e o meio de desenvolvimento das plantas em solução: primeiramente, sorgoleone poderia se acumular nos tecidos das raízes e apenas uma pequena porção produzida pelas plantas seria exsudada; alternativamente, sorgoleone poderia ser produzido e exsudado ativamente para o meio, como acreditam Czanorta et al. (2001), mas seria gradativamente degradado após sua liberação em meio aquoso (Fate et al., 1990). Esta última explicação suportaria também o fato de não terem sido constatadas variações significativas nas concentrações de sorgoleone entre os períodos de desenvolvimento das plantas em solução nutritiva (Tabela 5.8).

É possível comparar os dados obtidos no presente experimento, que foi conduzido inicialmente em câmara de crescimento e, posteriormente, em solução nutritiva, com os do experimento conduzido em câmara de crescimento, descrito no Capítulo 1. A concentração de sorgoleone no tecido, em plântulas com 5 dias de

desenvolvimento, em câmara de crescimento, foi muito superior em relação à concentração no tecido de plântulas após 3 e 10 dias de desenvolvimento, respectivamente, em câmara de crescimento e solução nutritiva (Tabela 5.9). Com o decorrer do tempo, as raízes mais velhas perdem sua funcionalidade, reduzindo sua capacidade metabólica de absorção de nutrientes. A atividade metabólica reduzida em raízes mais velhas pode significar, também, diminuição na produção de compostos do metabolismo secundário das plantas, como sorgoleone. Isto pode indicar que esta substância mostre maior importância em estádios precoces de desenvolvimento das plantas de sorgo, quando elas estão definindo seu nicho

Tabela 5.9. Concentrações de sorgoleone nos tecidos das raízes, aos 5 e 13 dias após a sementeira do genótipo de sorgo BR 304. UFRGS, Porto Alegre, RS, 1999 e 2002.

Local e período de desenvolvimento	Massa seca total de raízes (mg)	Concentração (mg.g ⁻¹ massa seca de raízes)
Câmara de crescimento (5 dias) ¹	504 ³	7,18 a ^{5,6}
Câmara de crescimento e solução nutritiva (3+10 dias) ²	345 ⁴	0,18 b
Teste F (Tratamentos)		58,41
Probabilidade > F		0,0012
CV (%)		28,72

¹ Experimento descrito no Capítulo 1.

² Experimento descrito no presente capítulo.

³ Provenientes de 200 radículas.

⁴ Provenientes de raízes de três plantas.

⁵ Valores corrigidos em função da pureza em relação ao padrão (71,4%).

⁶ Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a 5% pelo teste DMS.

ecológico (Radosevich et al., 1997). Além disso, a baixa mobilidade desta substância no solo, determinada pelos valores de K_{oc} (Tabela 5.7), indica que sua ação deve restringir-se à região da rizosfera.

5.4. CONCLUSÕES

1. Sorgoleone é composto altamente hidrofóbico, com $\log K_{ow} = 6,1$.
2. Os sistemas de solventes testados demonstram que sorgoleone apresenta elevada sorção ao solo.
3. A afinidade de sorgoleone ao solo é 50% maior no sistema de solventes composto por 60% MeOH : 40% H₂O, em relação ao sistema com 100% MeOH.
4. Em plantas de sorgo crescendo em solução nutritiva, apenas um milésimo do Sorgoleone contido nas raízes é detectado no ambiente externo a elas e o sorgoleone exsudado das raízes não está disponível na solução, ficando retido nas paredes do frasco.

6. DISCUSSÃO GERAL

A abordagem utilizada no presente trabalho pressupõe atividade alelopática diferencial entre genótipos de sorgo com produção de diferentes quantidades de sorgoleone. Por isto, realizou-se uma modificação na ordem do postulado de Koch, adaptado por Fuerst & Putnam (1983). Realizou-se, inicialmente, a separação e identificação de sorgoleone e sua quantificação em genótipos de sorgo (Capítulo 1), para, posteriormente, identificar e quantificar sintomas em laboratório, a partir de extratos hidrofóbicos e hidrofílicos (Capítulo 2) e, também, testar o potencial alelopático em experimentos a campo (Capítulo 3). Na última etapa (Capítulo 4), novamente foram utilizados trabalhos em laboratório e em casa de vegetação para investigar aspectos do comportamento da substância sorgoleone no ambiente.

Até a concepção inicial deste trabalho, não havia consenso na literatura consultada a respeito da variabilidade na produção de extratos hidrofóbicos contendo predominantemente sorgoleone, em genótipos de sorgo do Brasil. No entanto, já fora relatado variabilidade na produção total de sorgoleone e na sua concentração em radículas de genótipos de sorgo dos Estados Unidos (Nimbal et al., 1996).

A detecção de elevada variabilidade na produção total de sorgoleone e na sua concentração em tecidos de radículas em 41 genótipos de sorgo brasileiros (p. 27 e 28) possibilitou a escolha de alguns destes genótipos com produção contrastante de sorgoleone para se avaliar seu potencial alelopático em trabalhos em laboratório e a campo.

O fato de extratos hidrofóbicos contendo sorgoleone serem tóxicos ao crescimento das raízes e da parte aérea de plantas de alface e *Bidens* sp. (p. 39 a 42) indica que estas duas espécies poderiam ser utilizadas como plantas-teste em ensaios com sorgoleone. A dose necessária para produzir 50% de inibição do crescimento (I_{50}) de *Bidens* sp. foi inferior à de alface, o que indica maior sensibilidade da primeira espécie à ação tóxica do composto (p. 39 a 43).

Critérios bem definidos devem guiar a seleção de espécies como plantas alvo, em testes de alelopatia. A utilização de espécies cultivadas pode facilitar a condução

dos ensaios, já que, muitas vezes, sementes de espécies daninhas necessitam interrupção prévia de sua dormência para serem utilizadas. Além disso, os resultados de ensaios conduzidos diretamente com sementes de espécies daninhas são mais variáveis do que os conduzidos com espécies cultivadas, pela maior diversidade genética que apresentam (Ollofsdotter, 2001a). No entanto, para que não haja simplificação dos resultados, é necessário que os efeitos sobre espécies cultivadas apresentem correlações positivas com os efeitos sobre espécies de real interesse (Ebana et al., 2001; Ollofsdotter & Mallik, 2001).

A simplicidade relativa de estudos com extratos de plantas faz com que sejam amplamente utilizados na investigação de alelopatia. Embora a avaliação da toxicidade dos extratos represente apenas o potencial alelopático, algumas vezes são obtidos resultados satisfatórios através deste método de seleção de genótipos. Por exemplo, a investigação do efeito supressivo de dez cultivares de arroz identificou toxicidade superior dos extratos das folhas de genótipos que tinham sido previamente considerados como alelopáticos (Ebana et al., 2001).

A avaliação dos efeitos de extratos hidrofílicos de genótipos de sorgo e milho sobre a germinação e desenvolvimento inicial de alface indicou maior toxicidade dos extratos oriundos da parte aérea daquelas espécies, em relação aos extratos obtidos das raízes (p. 46, 48, 51 e 52). Extratos da parte aérea do genótipo de sorgo BR 601 foram mais tóxicos, em relação aos demais genótipos de sorgo, na concentração mais discriminatória, de 1,17% p/v (p. 46, 48 e 52).

O método de isolamento assistido por bioensaio é uma das alternativas que se dispõe para isolamento e identificação de composto ativo não conhecido (Rimando et al., 2001; Duke et al., 2002), como no caso dos extratos hidrofílicos no presente experimento. Esta metodologia permite a realização de sucessivos fracionamentos, seguidos de testes biológicos, até que o(s) composto(s) puro(s) seja(m) obtido(s). Desta forma, a utilização do isolamento assistido por bioensaio cumpre duas etapas da comprovação de alelopatia, conforme foi proposta por Fuerst & Putnam (1983), quais sejam: isolamento da substância e comprovação de sua atividade biológica.

Em caso de prosseguimento do presente trabalho com extratos hidrofílicos, o método do isolamento assistido por bioensaios poderia ser uma ferramenta valiosa no isolamento e detecção da(s) substância(s) com maior potencial alelopático. Estrategicamente, no entanto, seria adequado avaliar um número maior de genótipos, para que se pudesse explorar melhor a variabilidade genética existente entre eles.

Entre as vantagens que podem ser obtidas com a identificação do composto responsável pela fitotoxicidade, está a geração de cultivares mais alelopáticas, através do melhoramento tradicional. Até recentemente, contudo, grandes esforços foram empreendidos para identificar genótipos com capacidade superior de produção de substâncias alelopáticas, sem resultar em lançamento de cultivares com características alelopáticas superiores (Ollofsdotter & Mallik, 2001).

A identificação de substâncias alelopáticas também é importante para entender os mecanismos envolvidos na alelopatia e para uso como marcadores na identificação de genes (Ollofsdotter, 2001a), que poderiam ser transferidos para outras plantas. Tais cultivares, transgênicas ou não, poderiam ser utilizadas em estratégias de manejo de plantas daninhas, visando diminuir a dependência de herbicidas (Rimando et al., 2001).

A descoberta de novas moléculas de substâncias isoladas de plantas e de outros organismos representa nova alternativa para controle de plantas daninhas e de seletividade para espécies cultivadas, sendo uma das formas mais promissoras para identificação de novos mecanismos de ação de herbicidas (Devine et al., 1993; Duke et al., 2002). A descoberta de novos locais de ação de herbicidas é cada vez maior, em função da necessidade de prevenção e combate à evolução da resistência de plantas daninhas aos herbicidas.

Estudos conduzidos em laboratório são importantes para se compreender diferentes etapas do processo alelopático, de forma isolada, o que auxilia no entendimento total do fenômeno. No entanto, o campo é o melhor local para investigar se estas etapas atuam em conjunto para desencadear alelopatia (Foy & Inderjit, 2001; Inderjit & Weston, 2001).

Nos experimentos a campo nesse trabalho (Capítulo 3) foram avaliados os efeitos alelopáticos de plantas de sorgo e milho, antes e após a sua dessecação com herbicidas, em duas estações de crescimento. A hipótese de que genótipos mostrando maior produção de extratos contendo sorgoleone em laboratório deveriam ser aqueles com maior atividade alelopática a campo não foi comprovada pois, em apenas uma situação, em que foram comparados os genótipos de sorgo BR 601 e BR 304, houve menor densidade total de plantas daninhas em BR 304 (Tabela 4.9, p. 73). Além disso, em 2000/2001, os resíduos das raízes de alguns genótipos de sorgo e do genótipo de milho foram estimulatórios à emergência de plantas daninhas, comparativamente à testemunha sem presença daquelas espécies cultivadas (Tabela 4.15, p. 79).

As demais situações experimentais a campo, em que houve diferenças de potencial alelopático entre genótipos, ocorreram em 2000/2001. Nestas situações, antes (Tabela 4.3, p. 65) ou após a dessecação das culturas (Tabelas 4.17 e 4.18, p. 81), a cultivar de sorgo BR 601 compôs o grupo com maior potencial alelopático. Esta informação está de acordo, em parte, com os resultados obtidos no experimento com extratos hidrofílicos, em que, na concentração mais discriminatória dos extratos da parte aérea (1,17%), a cultivar BR 601 causou maior inibição à germinabilidade (p. 46), velocidade de germinação (p. 48) e comprimento da parte aérea (p. 52) de alface, em relação aos demais genótipos de sorgo. Portanto, há indícios de que compostos hidrofílicos liberados pela parte aérea de plantas de sorgo sejam responsáveis, ao menos em parte, pela redução diferencial da população de plantas daninhas a campo. Considerando-se que na fase após dessecação comparou-se genótipos com níveis de palha semelhantes, é pouco provável que as diferenças entre genótipos decorram exclusivamente de efeitos físicos gerados pela presença da palha na superfície do solo. Contudo, os efeitos totais da presença da palha na superfície devem resultar do somatório dos efeitos físicos e alelopáticos. Tanto em 1999/2000 como em 2000/2001, observou-se que a elevação do nível de palha na superfície do solo resultou na maximização destes efeitos.

Os fatos de que muitos compostos fenólicos derivados de sorgo são potencialmente alelopáticos, especialmente os ácidos p-cumárico (Guenzi & McCalla, 1966) e vanílico (Ben-Hammouda et al., 1995b), e de que a variação e o limite de produção de compostos fenólicos totais

são maiores na parte aérea desta espécie do que nas raízes (Sène et al., 2001), podem respaldar as diferenças inibitórias entre estas partes, observadas no presente trabalho.

Para testar o envolvimento de compostos fenólicos em alelopatia, seria necessário testar sua persistência e sua concentração no solo (Inderjit et al., 1999). Embora as concentrações destes compostos no solo sejam, freqüentemente, inferiores às necessárias para produzir efeitos comparáveis a bioensaios em condições controladas (Dalton, 1999), os compostos podem interagir sinergicamente (Einhellig, 1996). Além disso, as amostragens de solo normalmente não consideram a distribuição destas substâncias em gradientes, ao redor de fragmentos de material vegetal em decomposição (Dalton, 1999).

A maior toxicidade de extratos hidrofilicos da parte aérea da cultivar de milheto Comum RS (p. 46, 48 e 52), exercida em laboratório, em relação aos genótipos de sorgo, não se refletiu em capacidade alelopática superior em nível de campo (p. 64, 65, 80 e 81). Diferenças de sensibilidade entre as plantas-alvo testadas a campo (BRAPL, SIDRH e BIDSS) e em laboratório (alface), embora não avaliadas, talvez expliquem as diferenças de comportamento observadas entre as duas condições. Também, para que as substâncias alelopáticas exerçam ação sobre as plantas-alvo, diferentes etapas devem ser cumpridas. Os compostos devem ser liberados das plantas doadoras em taxas adequadas, apresentar concentrações suficientes na solução do solo, ser absorvidos e translocados e agir sobre algum mecanismo bioquímico relevante, que resultará em inibição comprometedora à planta. Assim, não há garantias de que substâncias potencialmente alelopáticas, presentes em extratos hidrofilicos da parte aérea de milheto, atendam a todas estas etapas de modo a exercer ação fitotóxica superior em nível de campo.

O custo metabólico para produção de compostos do metabolismo secundário é relativamente grande, comparado ao custo para produzir compostos do metabolismo primário (Gershenzon, 1994). Caso a produção do metabólito secundário não resulte em benefício para o organismo produtor mas, por outro lado, onere outras funções, o processo de seleção natural se encarregaria de eliminá-lo do organismo (Duke et al., 2000). Seguindo esta linha de raciocínio, é provável que sorgoleone desempenhe algum benefício ecológico para as plantas de sorgo. No trabalho desenvolvido a campo, houve menor infestação total de plantas daninhas nas linhas de semeadura nos genótipos com maior

população de plantas de sorgo nas linhas (p. 65 e 66). Em função da elevada sorção de sorgoleone no solo (Capítulo 4), é provável que a ação desta substância restrinja-se à região da rizosfera das plantas e, portanto, quanto maior for a população de plantas de sorgo maior será a probabilidade de inibir plantas daninhas. A aproximação espacial entre a planta produtora do composto alelopático e a planta-alvo otimizaria o aproveitamento das substâncias alelopáticas antes que estas fossem inativadas no solo. Trabalhos desenvolvidos com cultivares alelopáticas de arroz indicam que os efeitos alelopáticos aumentam com o incremento da densidade de plantas cultivadas e diminuem com o aumento da densidade de plantas daninhas (Ollofsdotter, 2001b).

A elevada hidrofobicidade de sorgoleone ($\log k_{ow} = 6,1$) (p. 95) sugere que este composto permaneça adsorvido às estruturas lipofílicas da planta (membranas), o que impediria sua translocação, a exemplo dos herbicidas inibidores da polimerização da tubulina (Vidal, 2002). Sorgoleone poderia atuar, portanto, sobre plântulas recém germinadas, agindo como um inibidor da respiração mitocondrial, conforme foi sugerido por Rasmussen et al. (1992).

Sorgoleone é produzido em pêlos radiculares, sendo depositado entre a plasmalema e a parede celular, embora o exato local de produção e os mecanismos de transporte dentro da célula não estejam bem elucidados (Czarnota et al., 2001). Este composto é, então, exsudado pelas raízes de sorgo, embora não se saiba exatamente a que taxas. Demonstrou-se que a quantidade de sorgoleone acumulada nos tecidos das raízes é três ordens de magnitude maior do que a encontrada no meio externo às raízes (p. 101). Este fato talvez explique-se pela degradação (não medida) desta substância quando em solução, como sugerem Fate et al. (1990). No entanto, a investigação da persistência de sorgoleone, conduzida artificialmente através da incubação da substância em solo, demonstrou que cerca de 35% do sorgoleone adicionado permaneceu no solo após 7 dias (Czarnota et al., 2001). No entanto, como se desconhecem as taxas reais exsudadas pelas plantas, é impossível precisar se sorgoleone estaria presente em concentração significativa na solução do solo de modo a causar toxicidade a plantas daninhas.

Caso as taxas de sorgoleone exsudadas pelas raízes sejam suficientes para causar inibição, a contínua reposição do composto pelas mesmas poderia manter sua atividade fitotóxica no solo. As quantidades de sorgoleone extraídas dos tecidos

das radículas de diferentes genótipos de sorgo (Capítulo 1) podem não se relacionar às quantidades efetivamente exsudadas pelos diferentes genótipos. Isto explicaria a falta de associação entre a produção de sorgoleone em laboratório (p. 28) e a infestação de plantas daninhas a campo nas linhas de semeadura, para os genótipos de sorgo testados (p. 65). É possível que taxas insuficientes de exsudação de sorgoleone pelas raízes, aliadas à elevada sorção de sorgoleone ao solo (Capítulo 4), limitem significativamente sua ação a campo. Este processo também impediria o estabelecimento de relação entre produção de sorgoleone em laboratório e infestação de plantas daninhas a campo. Assim sendo, outras substâncias, provavelmente de natureza hidrofílica, liberadas pela parte aérea das plantas de sorgo, poderiam exercer o efeito fitotóxico a plantas daninhas nas linhas de semeadura de sorgo.

Constatou-se menor concentração de sorgoleone nos tecidos de raízes à medida que estas ficaram mais velhas (p. 103). Toxicidade diferencial de plantas de arroz em função do estágio de desenvolvimento também foi relatada por Ebaná et al. (2001). Isto pode indicar que a exsudação de sorgoleone seja fundamental para a definição precoce do nicho (Radosevich et al., 1997), no período de estabelecimento das plantas de sorgo. Desta forma, é possível que a alelopatia contribua para fornecer maior capacidade competitiva nos estádios iniciais do desenvolvimento das plantas.

É provável, portanto, que tanto sorgoleone quanto outras substâncias alelopáticas de natureza hidrofóbica exerçam função de defesa contra a presença de plantas que tentam se estabelecer na vizinhança. Ou seja, contrariamente à ação de herbicidas residuais que atuam a partir da solução do solo, especula-se que compostos alelopáticos de natureza hidrofóbica interfiram em plantas vizinhas somente quando são liberados muito próximos do local de absorção pelas plantas, ou quando as raízes de espécies distintas entram em contato. Por exemplo, o contato de raízes da mesma planta de *Ambrosia dumosa* não resultou em inibição de seu crescimento. No entanto, isso ocorreu quando há contato de raízes de plantas diferentes dessa espécie (Mahall & Callaway, 1992). A aproximação

especial entre planta liberadora do composto alelopático e planta alvo otimizaria o aproveitamento dos aleloquímicos antes que eles fossem inativados no solo, por processos como sorção e decomposição microbiana.

7. CONCLUSÕES GERAIS

O presente trabalho demonstrou existir variabilidade entre genótipos de sorgo na produção de extratos hidrofóbicos.

Extratos hidrofóbicos de raízes de plantas de sorgo inibem o crescimento de alface e de espécies daninhas em laboratório. Extratos hidrofílicos da parte aérea de plantas de sorgo inibem o crescimento de alface em laboratório.

Não há relação de dependência entre a produção diferencial de extratos hidrofóbicos contendo sorgoleone por genótipos de sorgo em laboratório e sua capacidade de supressão de plantas daninhas a campo.

Há relação de dependência entre a supressão diferencial de plantas daninhas pela parte aérea de genótipos de sorgo a campo e a ação fitotóxica diferencial de extratos hidrofílicos da parte aérea de genótipos de sorgo em laboratório, embora as diferenças entre genótipos a campo só se manifestassem em um dos anos do estudo. O genótipo de sorgo BR 601 apresenta potencial alelopático superior, segundo a concentração mais discriminatória de extratos hidrofílicos da parte aérea das plantas, e pertence ao grupo com maior efeito alelopático a campo.

A ação da substância sorgoleone a campo é limitada pela elevada sorção ao solo, demonstrada em laboratório. A presença desta substância em concentração muito baixa no ambiente externo às raízes e o local em que se deposita, também podem ser causas de sua limitada ação em condição de campo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASE, J.K.; TANAKA, D.L. Reflectances from four wheat residue cover densities as influenced by three soil backgrounds. **Agronomy Journal**, Madison, v. 83, n. 3, p. 753-757, 1991.

ALMEIDA, F.S. **A alelopatia e as plantas**. Londrina: Fundação IAPAR, 1988. 60 p. (IAPAR, Circular 53, 1988).

ALSAADAWI, I.S.; AL-UGAILI, J.K.; AL-RUBEAA, A.J.; AL-HADITHY, S.M. Allelopathic suppression of weed and nitrification by selected cultivars of *Sorghum bicolor* (L.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 12, n. 1, p. 209-219, 1986.

ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; RIZZARDI, M.A.; BARUFFI, M.J.; LOPES, M.C.B. Manejo do nitrogênio no milho em semeadura direta em sucessão a espécies de cobertura de solo no inverno e em dois locais. II - Efeito sobre o rendimento de grãos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 587-593, 1999.

BARBOSA, T.M.L.; FERREIRA, F.A.; BARBOSA, L.C.de A.; SOUZA, I.F. de Método químico de análise dos exsudatos radiculares coletados de plantas intactas de sorgo 'BR 007A'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 2, n. 4, p. 490-498, 1998a.

BARBOSA, T.M.L.; FERREIRA, F.A.; SOUZA, I.F.; BARBOSA, L.C.A.; CASALI, V.W.D. Caracterização química e efeitos alelopáticos de exsudatos radiculares de plântulas de sorgo sobre alface. **Planta Daninha**, Botucatu, v.16, n. 2, p. 153-162, 1998b.

BEN-HAMMOUDA, M.; KREMER, R.J.; MINOR, H.C. Phytotoxicity of extracts from sorghum plant components on wheat seedlings. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 6, p. 1652-1656, 1995a.

BEN-HAMMOUDA, M.; KREMER, R.J.; MINOR, H.C.; SARWAR, M. A chemical basis for differential allelopathic potencial of sorghum hybrids on wheat. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 21, n. 6, p. 775-786, 1995b.

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: allelochemical interactions. Boca Raton, 1999, p. 17-23.

CAMARGO C.E.O.; OLIVEIRA, O.F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas, v.40, n. 3, p.21-31, 1981.

CAROLLO, C.M.; THEISEN, G.; VIDAL, R.A.; FLECK, N.G. Germinação de leiteira (*Euphorbia heterophylla*) e papuã (*Brachiaria plantaginea*) submetidos a diferentes tratamentos de temperatura. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 9, 1997. Porto Alegre, RS, Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS/PROPESQ, 1997, p. 99.

CHANG, M.; NETZLY, D.H.; BUTLER, L.G.; LYNN, D.G. Chemical regulation of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica*. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 108, n. 24, p. 7858-7860, 1986.

CHEEMA, Z.A.; KHALIQ, A. Use of sorghum allelopathic properties to control weeds in irrigated wheat in a semi arid region of Punjab. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 79, n 1, p. 105-112, 2000.

CHENG, H.H. A conceptual framework for assessing allelochemicals in the soil environment. IN: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Ed.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992, p. 21-29.

CHIOU, C.T.; PORTER, P.E.; SCHMEDDING, D.W. Partition equilibria of nonionic organic compounds between soil organic matter and water. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 17, n. 4, p. 227-231, 1983.

CZARNOTA, M.A.; REX, N.P.; DAYAN, F.E.; NIMBAL, C.; WESTON, L.A. Mode of action, localization of production, chemical nature, and activity of sorgoleone: a potent inhibitor in *Sorghum* spp. root exsudates. **Weed Technology**, Lawrence, v. 15, n. 4, p. 813-825, 2001.

DA ROS, A.O.; AITA, C. Efeito de espécies de inverno na cobertura do solo e fornecimento de nitrogênio ao milho em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 135-140, 1996.

DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L.; INDERJIT. Allelopathy: one component in a multifaceted approach to ecology. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (Eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 3-14.

DALTON, B.R. Physicochemical and biological processes affecting the recovery of exogenously applied ferulic acid from tropical forest soils. **Plant and Soil**, Wageningen, v. 115, n. 1, p. 13-22, 1989.

DALTON, B.R. The occurrence and behavior of plant phenolic acids in soil environments and their potential involvement in allelochemical interference interactions: methodological limitations in establishing conclusive proof of allelopathy. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 57-74.

DALTON, B.R.; BLUM, U.; WEED, S.B. Differential sorption of exogenously applied ferulic, p-coumaric, p-hydroxybenzoic, and vanillic acids in soil. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 53, n. 3, p. 757-762, 1989.

DEKKER, J.H.; MEGGITT, W.F.; PUTNAM, A.R. Experimental methodologies to evaluate allelopathic plant interactions: the *Abutilon theophrasti*-*Glycine max* model. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 9, n.8, p. 945-981, 1983.

DE SCISCIOLO, B.; LEOPOLD, D.J.; WALTON, D.C. Seasonal patterns of juglone in soil beneath *Juglans nigra* (black walnut) and influence of *J. nigra* on understory vegetation. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 16, n. 4, p. 1111-1132, 1990.

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. **Physiology of herbicide action**. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, 1993. 441 p. Capitulo 18: Naturally occurring chemicals as herbicides.

DUKE, S. O. Naturally occurring chemical compounds as herbicides. **Reviews of Weed Science**, Champaign, v. 2, p. 15-44, 1986.

DUKE, S.O.; DAYAN, F.E.; RIMANDO, A.M. Natural products and herbicide discovery. In: COBB, A.H. & KIRKWOOD, R.C. (eds.). **Herbicides and mechanisms of action**. Mansion House: Sheffield Academic Press, 2000. p. 105-133.

DUKE, S.O.; DAYAN, F.E.; RIMANDO, A.M.; SCHRADER, K.K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J.G. Chemicals from nature for weed management. **Weed Science**, Lawrence, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

EBANA, K.; WENGUI, Y.; DILDAY, R.; NAMAI, H.; OKUNO, K. Variation in the allelopathic effect of rice with water soluble extracts. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 12-16, 2001.

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

EINHELLIG, F.A.; RASMUSSEN, J.A. Prior cropping with grain sorghum inhibits weeds. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 15, n. 3, p. 951-960, 1989.

EINHELLIG, F.A.; RASMUSSEN, J.A.; HEJL, A.M.; SOUZA, I.F. Effects of root exudate sorgoleone on photosynthesis. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, n. 2, p. 369-375, 1993.

EINHELLIG, F.A.; SOUZA, I.F. Allelopathic activity of sorgoleone. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 18, n. 1, p. 1-11, 1992.

- FACELLI, J.M.; PICKETT, S.T.A. Plant litter: light interception and effects of an old-field plant community. **Ecology**, Durham, v. 72, n. 3, p. 1024-1031, 1991.
- FATE, G.; CHANG, M.; LYNN, D.G. Control of germination in *Striga asiatica*: chemistry of spatial definition. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 93, n. 1, p. 201-207, 1990.
- FAY, P.K.; DUKE, W.B. An assessment of allelopathic potential in *Avena* germplasm. **Weed Science**, Champaign, v. 5, n. 1, p. 224-228, 1977.
- FERREIRA, A.F.; AQUILA, M.E.A.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12 (Edição especial), p. 175-204, 2000.
- FERRI, M.V.W. **Dinâmica do herbicida acetochlor em argissolo vermelho submetido a dois sistemas de preparo**. 2001. 124 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- FLECK, N.G.; RIZZARDI, M.A.; VIDAL, R.A.; MEROTTO JR., A.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT JR., A.A. Período crítico para controle de *Brachiaria plantaginea* em função de épocas de semeadura da soja após dessecação da cobertura vegetal. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 53-62, 2002.
- FORNEY, D.R.; FOY, C.L. Phytotoxicity of products from rhizospheres of a sorghum sudangrass hybrid (*Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*). **Weed Science**, Champaign, v. 33, n. 5, p. 597-604, 1985.
- FOY, C.L.; INDERJIT Understanding the role of allelopathy in weed interference and declining plant diversity. **Weed Technology**, Lawrence, v. 15, n. 4, p. 873-878, 2001.
- FUERST, E.P.; PUTNAM, A.R. Separating the competitive and allelopathic components of interference: theoretical principles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 9, n. 8, p. 937-944, 1983.
- GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 8, p. 1281-1383, 1994.
- GONZALEZ, V.M.; KAZIMIR, J.; NIMBAL, C.; WESTON, L.; CHENIAE, G.M. Inhibition of a photosystem II electron transfer reaction by the natural product sorgoleone. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, Easton, v. 45, p. 1415-1421, 1997.
- GUENZI, W.D.; McCALLA, T.M. Phenolic acids in oats, wheat, sorghum, and corn residues and their phytotoxicity. **Agronomy Journal**, Madison, v. 58, n. 3, p. 303-304, 1966.
- HEISEY, R.M.; DELWICHE, C.C. Allelopathic effects of *Trichostema lanceolatum* (Labiatae) in the California annual grassland. **The Journal of Ecology**, Oxford, v. 73, p. 729-742, 1985.
- HESS, D.E.; EJETA, G.; BUTLER, L.G. Selecting sorghum genotypes expressing a quantitative biosynthetic trait that confers resistance to *Striga*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 493-497, 1992.
- HOFFMAN, M. L.; WESTON, L.A.; SNYDER, J.C.; REGNIER, E.E. Separating the effects of sorghum (*Sorghum bicolor*) and rye (*Secale cereale*) root and shoot residues on weed development. **Weed Science**, Champaign, v. 44, n. 2, p. 402-407, 1996.
- HUANG, P.M.; WANG, T.S.C.; WANG, M.K.; WU, M.H.; HSU, N.W. Retention of phenolic acids by noncrystalline hydroxy-aluminum and iron compounds and clay minerals of soils. **Soil Science**, Baltimore, v. 123, n. 4, p. 213-219, 1977.

INDERJIT; CHENG, H.H.; NISHIMURA, H. Plant phenolics and terpenoids: transformation, degradation, and potential for allelopathic interactions. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 255-266.

INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, New York, v. 61, n. 1, p. 29-44, 1995.

INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. Bioassays for allelopathy: interactions of soil organic and inorganic constituents. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 35-44.

INDERJIT; DEL MORAL, R. Is separating resource competition from allelopathy realistic? **The Botanical Review**, New York, v. 63, n. 3, p. 221-230, 1997.

INDERJIT; MALLIK, A.U. Effect of phenolic compounds on selected soil properties. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 11-18, 1997.

ITO, I.; KOBAYASHI, K.; YONEYAMA, T. Fate of dehydromatricaria ester added to soil and its implications for the allelopathic effect of *Solidago altissima* L.. **Annals of Botany**, London, v. 82, p. 625-630, 1998.

INDERJIT; WESTON, L.A. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 9, p. 2111-2118, 2000.

JACOBI, U.S. **Avaliação do potencial alelopático de genótipos de aveia**. 1997. 165 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

KIL, B.; YIM, Y.J. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on undergrowth of red pine forest. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 9, n. 8, 1135-1151, 1983.

KLEIN, K.; BLUM, U. Effect of soil nitrogen level on ferulic acid inhibition of cucumber leaf expansion. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.16, n. 8, p. 1371-1383, 1990.

KOSKINEN, W.C.; HARPER, S.S. The retention process: mechanisms. In: CHENG, H.H. (Ed). **Pesticide in the soil environment: processes, impacts and modeling**. Madison, 1990, p. 52-77.

LEATHER, G.R. Sunflowers (*Helianthus annuus*) are allelopathic to weeds. **Weed Science**, Champaign, v. 31, n. 1, p. 37-42, 1983.

LOVETT, J.; RYUNTYU, M. Allelopathy: broadening the context. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Ed.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992, p. 11-19.

MAHALL, B.E.; CALLAWAY, R.M. Root communication mechanisms and intracommunity distributions of two Mojave desert shrubs. **Ecology**, Durham, v. 73, n. 6, p. 2145- 2151, 1992.

MARINI-BÈTTOLO, G.B.; NICOLETTI, M.; PATAMIA, M. Plant screening by chemical and chromatographic procedures under field conditions. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 213, n. 1, p. 113-127, 1981.

MCBRIDE, M. Organic pollutants in soil. In: **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1994, p. 343-393.

MEROTTO JR, A.; SANGOI, L.; ENDER, M.; GUIDOLIN, A.F.; HAVERROTH, H.S. A desuniformidade de emergência reduz o rendimento de grãos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 595-601, 1999.

MEURER, E.J.; RHENHEIMER, D.; BISSANI, C.A. Fenômenos de superfície. In: MEURER, E.J. (ed). **Fundamentos de Química do Solo**. Porto Alegre, 2000, p. 77-125.

MURPHY, E.M.; ZACHARA, J.M.; SMITH, S.C. Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 24, n. 10, p. 1507-1516, 1990.

NAIR, M.G.; WHITENACK, C.J.; PUTNAM, A. 2,2'-oxo-1,1'-azobenzene: a microbially transformed allelochemical from 2,3-benzoxazolinone. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.16, n. 2, p. 353-364, 1990.

NARWAL, S.S. Allelopathy in weed management. In: NARWAL, S.S. (Ed.). ALLELOPATHY update: basic and applied aspects. Enfield: Science Publishers, 1999. v. 2. p. 203-254.

NETZLY, D.H.; BUTLER, L.G. Roots of sorghum exude hydrophobic droplets containing biologically active components. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 4, p. 775-780, 1986.

NETZLY, D.H.; RIOPEL, J.L.; EJETA, G; BUTLER, L.G. Germination stimulant of witchweed (*Striga asiatica*) from hydrophobic root exudate of sorghum (*Sorghum bicolor*). **Weed Science**, Champaign, v. 36, n. 4, p. 441-446, 1988.

NICOLLIER, J.F.; POPE, D.F.; THOMPSON, A.C. Biological activity of dhurrin and other compounds from johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 31, n. 4, p. 744-748, 1983.

NILSSON, M-C. Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. **Oecologia**, Berlin, v. 98, n. 1, p. 1-7, 1994.

NIMBAL, C.I.; PEDERSON, J.; YERKES, C.N.; WESTON, L.; WELLER, S.C. Phytotoxicity and distribution of sorgoleone in grain sorghum germplasm. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, Easton, v. 44, n. 5, p. 1343-1347, 1996.

OECD Partition coefficient (n-octanol/water), high performance liquid chromatography (hplc) method (Original Guideline nº 117, março de 1989) In: OEDC GUIDELINE for testing of chemicals – Section 1: Physical-chemicals properties. Disponível em: <<http://www1.oecd.org/ehs/test/Physical.htm>>. Acesso em 15 jun 2002.

OLLOFSDOTTER, M. Rice – a step toward use of allelopathy. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 3-8, 2001a.

OLLOFSDOTTER, M. Getting closer to breeding for competitive ability and the role of allelopathy – an example from rice (*Oryza sativa*). **Weed Technology**, Lawrence, v. 15, n. 4, p. 798-806, 2001b.

OLLOFSDOTTER, M.; MALLIK, A.U. Allelopathy symposium – introduction. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 1-2, 2001.

PANASIUK, O; BILLS, D.D.; LEATHER, G.R. Allelopathic influence of *Sorghum bicolor* on weeds during germination and early development of seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 12, n. 6, p. 1533-1543, 1986.

- PATTERSON, D.T. Allelopathy. IN: CAMPER, N. D. (Ed.). **Research methods in weed science**. SWSS: Champaign, 1986, p. 111-134.
- PEIXOTO, M.F.; SOUZA, I.F. DE; SIQUEIRA, J.L. de Resíduos culturais de sorgo e doses de imazamox no controle de *Galinsoga parviflora* e *Richardia brasiliensis* na cultura da soja em plantio direto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22, Foz do Iguaçu, PR, 2000. **Resumos...** Londrina, SBCPD, 2000. p. 94.
- PICCOLO, A.; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular association of dissolved humic substances. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 50, n. 12, p. 687-694, 1999.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Agiplan, 1977. 289 p.
- PRATLEY, J.E.; AN, M.; HAIG, T. Following a specific protocol establish allelopathy conclusively – an australian case study. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CUTLER, H.G. (Ed.). **RECENT advances in allelopathy: a science for the future**. Cadiz: Universidade de Cadiz, 1999. p. 63-70.
- PUTNAM, A.R. Weed allelopathy. In: DUKE, S.O. (Ed.) **Weed Physiology**. Boca Raton, CRC, 1987, v. 1: Reproduction and ecophysiology.
- PUTNAM, A.R.; DEFRANK, J.; BARNES, J.P. Exploration of allelopathy for weed control in annual and perennial cropping systems. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.9, n. 8, p. 1001-1010, 1983.
- PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. **Science**, Washington, v. 185, n. 3, p. 370-372, 1974.
- RADOSEVICH, S.; HOLT, J.; GHERSA, C. **Weed ecology: implications for management**. 2. Ed. New York: Wiley, 1997, p. 163-214.
- RASMUSSEN, J.A.; HEHL, A.M.; EINHELLIG, F.A.; THOMAS, J.A. Sorgoleone from root exudate inhibits mitochondrial functions. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 18, n. 1, p. 197-207, 1992.
- RICE, E.L. Allelopathy – an update. **The Botanical Review**, New York, v. 45, n. 1, p. 15-109. 1979.
- RICE, E.L. **Allelopathy**. New York: Academic Press. 1984. 422 p.
- RIMANDO, A.M.; OLOFSDOTTER, M.; DAYAN, F.; DUKE, S.O. Searching for rice allelochemicals: an example of bioassay-guided isolation. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 16-20, 2001.
- RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In: RIZVI, S.J.H.; RIZVI, V. (Ed.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992, p. 443-472.
- RODRIGUES, J.C.; FERREIRA, F.A.; SANTOS, R.H.S.S; MIRANDA, G.V. Determinação do conteúdo de sorgoleona nos exsudatos radiculares de híbridos de sorgo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 275, p. 49-54, 2001.
- ROGERS, R.D.; MCFARLANE, J.C.; CROSS, A.J. Adsorption and desorption of benzene in two soils and montmorillonite clay. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 14, n. 4, p. 457-460, 1980.
- ROSE, S.J.; BURNSIDE, O.C.; SPECHT, J.E.; SWISHER, B.A. Competition and allelopathy between soybeans and weeds. **Agronomy Journal**, Madison, v. 76, n. 5, p. 523-528, 1984.

- ROTH, C.M.; SHROYER, J.P.; PAULSEN, G.M. Allelopathy of sorghum on wheat under several tillage systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, n. 5, p. 855-860, 2000.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant Physiology**, Belmont: Wadsworth Publishing Company. 1992. 682 p.
- SANTOS, J.C.F.; SOUZA, I.F. de; MENDES, A.N.G.; MORAIS, A.R. de; CONCEIÇÃO, H.E.O. da; 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**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 783-790, 2002.
- SAXENA, A.; SINGH, D.V. JOSHI, N.L. Allelopathy in agroecosystems. **Field Crop Abstracts**, Farnham Royal, v. 49, n. 10, p. 891-899, 1996a.
- SAXENA, A.; SINGH, D.V.; JOSHI, N.L. Autotoxic effects of pearl millet aqueous extracts on seed germination and seedling growth. **Journal of Arid Environments**, London, v. 33, n. 1, p. 255-260, 1996b.
- SCHMIDT, S.K. Degradation of juglone by soil bacteria. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 14, n. 7, p. 1561-1571, 1988.
- SCHMIDT, S.K.; LEY, R.E. Microbial competition and soil structure limit the expression of allelochemicals in nature. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (Eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 339-351.
- SCHWARZENBACH, R.; GSCHWEND, P.M.; IMBODEN, D.M. Sorption: solid-aqueous solution exchange. In: **ENVIRONMENTAL organic chemistry**. New York: John Wiley, 1993, p. 255-341.
- SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, Champaign, v. 9, n. 2, p. 218-225, 1995.
- SÈNE, M.; DORÉ, T.; GALLET, C. Relationships between biomass and phenolic production in grain sorghum grown under different conditions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 49-54, 2001.
- SHEA, P.J. Role of humified organic matter in herbicide adsorption. **Weed Technology**, Champaign, v. 3, n. 1, p. 190-197, 1989.
- SOUZA, A.P. de; FERREIRA, F.A.; SILVA, A.A. da; CARDOSO, A.A.; RUIZ, H. Uso da equação logística no estudo da dose-resposta de glyphosate e imazapyr por meio de bioensaios. **Planta Daninha**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 17-28, 2000.
- SOUZA, C.N. de; SOUZA, I.F. de; PASQUAL, M. Extração e ação de sorgoleone sobre o crescimento de plantas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 331-338, 1999.
- STRECK, E.V.; KAMPF, N.; KLAMT, E. **Atualização da classificação taxonômica das unidades de mapeamento do levantamento e reconhecimento dos solos do Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER, v. 16, n. 9, 1999, 5 p. (Série Solos).
- THEISEN, G.; VIDAL, R.A.; FLECK, N.G. Redução da infestação de *Brachiaria plantaginea* em soja pela cobertura do solo com palha de aveia-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 753-756, 2000.

TEASDALE, J.R.; MOHLER, C.L. Light transmittance, soil temperature, and soil moisture under residue of hairy vetch and rye. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, n. 3, p. 673-680, 1993.

VIDAL, R.A. **Amount of crop residues in no-till farming affects weed-crop ecosystems**. West Lafayette (EUA): Purdue University, 1995, 161 p. Tese de Doutorado. Purdue University, West Lafayette, EUA. 1995.

VIDAL, R.A. **Ação dos herbicidas**. Volume 1: Absorção, translocação e metabolização. Porto Alegre: Ribas Vidal, 2002, 89 p.

VIDAL, R.A.; BAUMAN, T.T. Surface wheat (*Triticum aestivum*) residues, giant foxtail (*Setaria faberi*), and soybean (*Glycine max*) yield. **Weed Science**, Champaign, v. 44, n. 5, p.939-943, 1996.

WALLER, G.R.; FENG, M.-C.; FUJII, Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. In: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (Eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 75-98.

WEIDENHAMER, J.D. Distinguishing resource competition and chemical interference: overcoming the methodological impasse. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 866-875, 1996.

WEIDENHAMER, J.D.; HARTNETT, D.C.; ROMEO, J.T. Density dependent phytotoxicity: distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 26, p. 613-624, 1989.

WEIDENHAMER, J.D.; MACIAS, F.A.; FISCHER, N.H.; WILLIAMSON, G.B. Just how insoluble are monoterpenes? **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, n. 8, p. 1799-1807, 1993.

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

WESTON, L.A.; NIMBAL, C.I.; JEANDET, P. Allelopathic potential of grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] and related species. IN: INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (eds.). **PRINCIPLES and practices in plant ecology: allelochemical interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1999, p. 467-478.

WHITTAKER, R.H.; FEENY, P.R. Allelochemicals: chemical interaction between species. **Science**, Washington, v. 171, p. 757-770, 1971.

YENISH, J.P.; WORSHAM, A.D.; CHILTON, W.S. Disappearance of DIBOA-glucoside, DIBOA, and BOA from rye (*Secale cereale*) cover crop residue. **Weed Science**, Champaign, v. 43, n. 1, p. 18-20, 1995.

9. VITA

Michelangelo Muzell Trezzi, é filho de Gentil Justo Trezzi e de Helena Muzell Trezzi. Nasceu em Carazinho, Estado do Rio Grande do Sul, em 15 de novembro de 1964. cursou o primeiro grau nas escolas Municipal Princesa Isabel e Sinodal Rui Barbosa, e o segundo grau nos colégios Estadual João Batista Sorg e La Salle, em Carazinho. Em 1982 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde obteve o grau de Engenheiro Agrônomo, em 1987. Exerceu atividade como Engenheiro Agrônomo na Minuano Assistência e Planejamento Agrícola (Carazinho), em 1987 e 1988; na Cooperativa Regional Triticola Serrana (COTRIJUI) (Coronel Bicaco, RS), em 1988 e 1989; e na Cooperativa Mista Vale do Piquiri (COOPERVALE) (Palotina, PR), de 1989 a 1991. Em março de 1991, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, onde obteve o grau de Mestre em Fitotecnia, em 1993. Em janeiro de 1995, foi aprovado em concurso público no Curso de Agronomia do Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná (CEFET/PR – Unidade de Pato Branco) e passou a ministrar as disciplinas de Plantas Daninhas e Seu Controle e Cereais e Leguminosas. Em março de 1998, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, nível de doutorado, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, obtendo o grau de Doutor em 2002.