



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL
REI PRÓ-REITORIA DE ENSINO
ENGENHARIA AGRÔNOMICA

TALITA CAMARGOS GOMES

Ação de extratos de sorgo na germinação de sementes de milho, soja e picão-preto

Sete Lagoas
2015

TALITA CAMARGOS GOMES

Ação de extratos de sorgo na germinação de sementes de milho, soja e picão-preto

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João Del Rei como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Área de concentração: Plantas daninhas

Orientador: Cidália Gabriela Santos Marinho

Co-orientador: Décio Karam

Sete Lagoas
2015

TALITA CAMARGOS GOMES

Ação de extratos de sorgo na germinação de sementes de milho, soja e picão preto.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João Del Rei como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Sete Lagoas, 22 de junho de 2015.

Banca Examinadora:

Décio Karam – Ph.D. (Embrapa Milho e Sorgo)

Fabiano Okumura – Dr. (Embrapa Milho e Sorgo)

Cidália Gabriela Santos Marinho – Dra. (UFSJ)
Orientadora

*Dedico à minha família,
esposo, pais e irmão,
Dedico com carinho.*

AGRADECIMENTOS

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

Aos meus pais, Sebastião Gomes e Maria Elzi e meu irmão Paulo, pelo apoio sempre prestado e amor incondicional.

Ao meu esposo Wanderson, pela cumplicidade e apoio em todos os sentidos (Amo você!).

Ao Dr. Décio Karam, por sua confiança, presteza e ensinamentos durante todo esse período, o meu eterno obrigado.

À Dra. Bianca Martins, pela amizade, dedicação e orientação durante vários trabalhos no período.

À Dra. Maria Lúcia e ao Dr. Fabiano Okumura, pela pronta e amigável disposição durante a realização dos experimentos.

À Dra. Cidália, pela orientação deste trabalho, o meu muito obrigada.

À Dra. Flávia Cristina dos Santos, pelas oportunidades e conhecimentos durante bolsa de iniciação na área de Fertilidade de Solos.

Ao Dr. Rafael Parrela pelas sementes cedidas.

Aos meus amigos de laboratório, Leonara, Juliana, Wilton, Isabella, Natália, Camila pelos momentos de aprendizagem e alegrias (e brigas também rsrs) e momentos incríveis de descontração, durante esses anos convvidos.

Aos meus amados líderes Pr. Eduardo e Miss. Edésia, e Tânia, pelo todo apoio e orientação durante não somente esse período, mas em toda a minha vida.

À Embrapa Milho e Sorgo e a UFSJ, por esses anos de aprendizado e oportunidades.

À FAPEMIG pela concessão das bolsas de iniciação científica.

*Porque dEle, por Ele
e para Ele foram feitas todas as coisas
(Romanos 11:36)*

RESUMO

Este estudo objetivou a extração, purificação e quantificação de extratos de sorgo com sorgoleone a partir de três genótipos da Embrapa Milho e a avaliação da ação desses extratos na germinação de sementes de milho, soja e picão-preto. Os experimentos foram desenvolvidos nos laboratórios de pesquisa da Embrapa Milho e Sorgo. Os extratos foram obtidos a partir das raízes de 150 sementes de cada genótipo, em solução extratora de ácido acético glacial em diclorometano 0,0025% v/v. Para a obtenção do padrão, foi utilizado o genótipo BR 007 B, em técnica de cromatografia em camada onde foi obtida a curva padrão de sorgoleone através da injeção do padrão de sorgoleone em metanol na concentração de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. A quantificação se deu a partir da injeção dos extratos em cromatógrafo, onde através da integração da área de cada pico foi determinada as concentrações de sorgoleone (382,2, 98,0, 12,6 $\mu\text{g/g}$) dos genótipos CMSXS 206 B, BRS 716 e BR 007 B respectivamente. Para a avaliação da ação dos extratos na germinação das sementes de milho, soja e de picão-preto, os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizados, com quatro repetições por um período de 6 dias no escuro. Caixas gerbox com 25 sementes de cada espécie, em papel de germinação foram usadas e uma alíquota de 4 ml gerbox⁻¹ com a solução de cada extrato foi adicionada, exceto para as parcelas controle. A porcentagem e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram avaliados e seus resultados submetidos à ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Houve diferença do teor de sorgoleone entre os extratos, sendo CMSXS 206 B 96,7% mais concentrado que a cultivar BR 007 B, que obteve menor teor de sorgoleone por grama de extrato dos três testados, enquanto a cultivar BRS 716 obteve a concentração cerca de 74% menor. BR 007 B e CMSXS 206 B reduziram a %G e o IVG de sementes de milho, soja e picão-preto, atuando como supressoras desta daninha e das duas culturas.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, extratos alelopáticos, aleloquímicos, plantas daninhas, *Bidens pilosa*, *Zea mays*, *Glycine max*, alelopatia.

ABSTRACT

This study aimed to the extraction, purification and quantification of sorghum extracts with sorgoleone from three genotypes of Embrapa Maize and evaluation of action of these extracts in germination of corn, soybean and beggartick. The experiments were developed in the research laboratories of Embrapa Maize and Sorghum. The extracts were obtained from roots of 150 seeds of each genotype in extraction solution of glacial acetic acid in dichloromethane 0.0025% v / v. To obtain the standard, we used the genotype BR 007 B in chromatography technique layer which was obtained sorgoleone standard curve by injecting the standard of sorgoleone in methanol at a concentration of 1.0 µg mL⁻¹. The quantification was made from the injection of the extract into the chromatograph, through which the integration of the area of each peak was determined concentrations sorgoleone (382.2, 98.0, 12.6 mg / g) 206 CMSXS genotype B BRS 716 007 B and BR respectively. For assessing the action of the extracts on the germination of corn seed, soybean and beggar-ticks, the treatments were arranged in a completely randomized design with four replications for a period of six days in the dark. Gerbox boxes with 25 seeds of each species in germination paper were used and a rate of 4 ml gerbox-1 with the solution of each extract was added, except for the control plots. The percentage and the germination speed index (GSI) were evaluated and the results submitted to ANOVA and means were compared by Tukey test at 5% Likelihood-of. There was a difference of sorgoleone content between the extracts and CMSXS 206 B 96.7% more concentrated than the cultivar BR 007 B, which had lower sorgoleone content per gram of extract of the three tested, while BRS 716 obtained about the concentration 74% lower. BR 007 B and 206 B CMSXS reduced% F and corn seed IVG, soybeans and beggartick, acting as a suppressor of this weed and two cultures.

Keywords: *Sorghum bicolor*, allelopathic extracts, allelochemicals, weeds, *Bidens pilosa*, *Zea mays*, *Glycine max*, allelopathy.

SUMÁRIO

ILUSTRAÇÕES	10
LISTA DE TABELAS	11
Introdução	12
Revisão bibliográfica	12
Material e métodos.....	16
1.1. Obtenção do material botânico.....	16
1.2. Obtenção do padrão.....	16
1.3. Quantificação dos extratos radiculares.....	17
1.4. Análise dos extratos por LC-MS.....	18
1.5. Testes de germinação	20
1.5.1. Material vegetal	20
1.5.2. Os Bioensaios.....	20
1.6. Análise estatística dos bioensaios	20
2. Resultados e discussão.....	21
2.1. Obtenção do padrão.....	21
2.2. Quantificação dos extratos radiculares.....	21
2.3. Testes de germinação e crescimento	23
3. Conclusão	26
4. Referências bibliográficas	26

ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Placa de sílica pronta para desenvolvimento ascendente (A) e depois, pronta para raspagem (B e C)..... 18
- Figura 2 – Raízes dos genótipos CMSXS 206 B (A), BRS 716 (B) e BR 007 B (C) em solução extratora. 19
- Figura 3 – Extratos com sorgoleone dos genótipos CMSXS 206 B (A), BRS 716 (B) e BR 007 B (C).... 19
- Figura 4 – Estrutura de sorgoleone na forma oxidada {2 hidroxi-5 metoxi-3-[(8'Z, 11'Z)- penta-deca- 8', 11', 14' -Trien-'IL]- p- benzoquinona} 20
- Figura 5 – Curva de calibração (A) e cromatograma de sorgoleone na concentração de 1,3 ng (B). 22
- Figura 6 – Cromatograma de sorgoleone dos genótipos testados. 23
- Figura 7 – Exsudação de sorgoleone nos pelos das raízes das plantas de sorgo, aos sete dias após a emergência (Foto ampliada 60x). Genótipos CMSXS 206 B (A), BRS 716 (B) e BR 007 B (C). 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos acessos de sorgo fornecidos pela Embrapa Milho e Sorgo.....	17
Tabela 2 – Quantidade de sorgoleone (SGL) encontrada a partir de análise cromatográfica.....	23
Tabela 3 – Quantidade de sorgoleone (SGL) contida em 50 mg de extrato e em solução testada.....	24
Tabela 4 – Porcentagem de germinação de sementes de milho, soja e picão-preto, aos 6 dias após adição do extrato de sorgoleone (50 mg) de diferentes cultivares de sorgo.	25
Tabela 5 – Índice de velocidade de germinação de sementes de milho, soja e picão-preto, aos 6 dias após adição do extrato de sorgoleone (50 mg) de diferentes cultivares de sorgo.	26

1. Introdução

A busca por uma agricultura sustentável com produtos mais saudáveis que proporcionem uma saúde melhor, implica na redução do uso de pesticidas que é uma ação de extrema importância e urgência. Entretanto, os problemas fitossanitários estão presentes nas lavouras e precisam ser manejados. Como exemplo, temos a interferência causada pelas plantas invasoras, as quais causam perdas consideráveis na condução das grandes culturas (KARAM et al., 2006; GAZZIERO et al., 2011) promovendo o alto consumo de herbicidas (IEA, 2013), os quais muitas vezes são aplicados da forma incorreta contaminando o meio ambiente (GUIMARÃES, 1987; VARGAS; ROMAN, 2006; QUEIROZ et al., 2011). Por esse motivo, torna-se necessário o desenvolvimento de novas tecnologias para o controle eficaz destas, com o menor impacto possível no ambiente.

Uma alternativa é a utilização de substâncias alelopáticas (ALMEIDA, 1991; WESTON 1996; SOUZA et al., 1999; PIRES et. al., 2001a; PIRES et al., 2001b TREZZI, 2002), ou seja, substâncias que causam interferência no desenvolvimento de plantas e que poderiam ser empregadas na agricultura com o objetivo de suprimir o desenvolvimento de plantas invasoras efetuando assim o seu controle. De acordo com Netzly e Butler (1986), o sorgoleone, substância proveniente do metabolismo secundário de plantas de sorgo, já foi observado causando efeito deletério em plantas. Por esse motivo esta substância vem sendo estudada no manejo de plantas daninhas, como uma forma de controle alternativo, com menos agressividade ao meio ambiente (TREZZI, 2002; TOKURA e NOBREGA, 2006; SERAFIN, 2007) bem como no desenvolvimento de novos modelos de herbicidas naturais (BARBOSA et al., 2001; DAYAN et al., 2003; YANG et al., 2004).

Assim, é de suma importância a realização de estudos que determinem os efeitos do sorgoleone sobre plantas daninhas. Esse estudo poderá fornecer informações sobre essa substância e seus efeitos, propiciando o desenvolvimento de uma nova tecnologia de controle de plantas daninhas que seja menos agressivo ao meio e promova a redução do uso de herbicidas no campo.

2. Revisão bibliográfica

A redução da utilização de produtos fitossanitários na agricultura tem sido uma

grande preocupação do setor agrícola, uma vez que estes produtos promovem a contaminação ambiental e do homem do campo, além de deixar altas taxas de resíduos nos produtos agrícolas prejudicando a saúde do consumidor. Devido a esses problemas, faz-se necessário que antigas tecnologias de produção se voltem aos conceitos modernos da agricultura, a qual preconiza a redução da utilização de agrotóxicos e a implementação de medidas alternativas de manejo dos problemas fitossanitários.

Outro aspecto que merece destaque, é que o Brasil explora grandes extensões de terra com a produção de produtos agrícolas, sendo que essa atividade tem sido conduzida de forma intensiva para atender as demandas por alimentos, tanto para a população, quanto para atender a produção animal. Em consequência disto, a atividade agrícola tem promovido efeitos negativos ao meio como, por exemplo, alterações drásticas na paisagem, evidenciando a interferência sobre o sistema agrícola de produção, em específico de plantas invasoras (SOARES; PORTO, 2007). Assim, o crescimento da agricultura possibilitou o desenvolvimento e aparecimento de inúmeras espécies espontâneas, que se adaptaram ao longo de seu processo evolutivo a diferentes condições de clima, temperatura, solo, disponibilidade de nutrientes, e tenderam a serem flexíveis, interferindo cada vez mais nas práticas agrícolas e produtividade dos agroecossistemas (PITELLI; PITELLI, 2008). Segundo relatórios apresentados pela *Land Care of New Zealand*, a perda anual imposta pela interferência das plantas daninhas na produção de alimentos, a nível mundial, se encontra na casa dos 95 bilhões de dólares (FAO, 2009).

Devido a essas perdas, a procura por técnicas de controle é constante. O controle químico é o que mais tem sido utilizado e com eficiência (MAGALHÃES, et al., 2002; GIANCOTTI et al, 2014), mas alguns problemas precisam ser contornados como, por exemplo, a contaminação do ambiente e ainda a ocorrência de resistência de plantas daninhas a herbicidas (MARTINS; CHRISTOFOLETTI, 2014; QUEIROZ; VIDAL, 2014). Como alternativa, a alelopatia vem sendo estudada quanto a forma de controle de plantas invasoras (SOUZA FILHO et al., 1997; TEIXEIRA et al., 2004; MANO, 2006). O termo alelopatia é derivado das palavras gregas *alleton* (mútuo) e *phatos* (prejuízo) e é definida basicamente como a interferência provocada por substâncias químicas produzidas por certos organismos, afetando de forma benéfica ou maléfica outros organismos no mesmo meio (RICE, 1984). Às substâncias responsáveis por essas propriedades, os aleloquímicos, são compostos encontrados nas mais diferentes concentrações, partes da plantas e ciclo de vida. Assim, quando liberados em quantidade suficiente podem causar efeitos positivos ou negativos na germinação, no crescimento e/ou desenvolvimento de

plantas já estabelecidas, na assimilação de nutrientes, na fotossíntese e na respiração (PUTNAM; DUKE, 1978; CARVALHO, 1993; DURIGAN; ALMEIDA, 1993). Os compostos responsáveis pela alelopatia pertencem à diferentes classes de compostos químicos: fenóis, terpenos, alcaloides, taninos, cumarinas, esteroides, flavonoides, poliacetilenos, ácidos graxos, peptídeos, etc. (PUTNAM; DUKE, 1978). Ainda não se sabe se os aleloquímicos são produtos do metabolismo celular ou se são sintetizados pela planta com função específica (PIRES; OLIVEIRA, 2011). Entretanto, a liberação destes compostos que pode ocorrer por volatilização, lixiviação na parte aérea, decomposição de tecidos vegetais, ou exsudação do sistema radicular é conhecido (MANO, 2006).

Dentre as várias espécies de vegetais que apresentam potencial alelopático, usadas no controle de plantas invasoras, plantas de leucena (*Leucaena leucocephala* Lam. de Wit.) (PIRES et al., 2001), óleos essenciais de *Piper hispidinervium* e *Pogostemon heyneanus* (SOUZA FILHO et al., 2009), *Crinum americanum* (RIBEIRO et al., 2009), canola (*Brassica napus*), nabo-forrageiro (*Raphanus sativus*), trevo-vesiculoso (*Trifolium versiculosum*), azevém (*Lolium multiflorum*) (MORAES et al., 2012), nim (*Azadirachta indica*) (FRANÇA et al., 2008), feijão de porco (*Canavalia ensiformes*) e mucuna preta (*Stilozobium aterrimum*) (CARVALHO et al., 2002). Redução e inibição da germinação e desenvolvimento de plântulas de plantas daninhas foram constatados nestes estudos, além da deformação do limbo foliar e alongamento da radícula. O sorgoleone, por exemplo, é um aleloquímico principalmente encontrado em raízes de espécies do gênero de *Sorghum* (NETZLEY; BUTLER, 1986). Deste é um composto dominante dos exsudatos das raízes de sorgo denominado de 2-hidroxi-5-metoxi-3-[(8'Z,11'Z)-8',11',14'-pentadecatrieno]-p-benzoquinona, obtida pela caracterização de hidrogênio e de carbono-13 por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (CHANG et al., 1986; NETZLY et al., 1988). O sorgoleone e sua 1,4-hidroquinona compõe cerca de 90% da secreção oleosa das raízes de sorgo e o restante é composto por substâncias de comprimentos diferentes e grau de saturação das cadeias alifáticas e substituição do anel de quinona (CZARNOTA et al., 2001; DAYAN et al., 2007 SANTOS et al., 2012).

O sorgo (*Sorghum* spp.), pertencente a família Poaceae, é considerada uma das grandes culturas agrícolas que vem ganhando destaque nacional. É uma gramínea de origem africana e parte asiática, introduzida no Brasil no início do século XX com a chegada dos escravos. O Sorgo vem sendo utilizado tanto para produção de grãos quanto forragem (DOGGETT, 1988). Esta cultura tem sido utilizada unicamente para alimentação animal, apresentando avanços de produtividade e expansão de área plantada

desde os anos 1970 (RODRIGUES, 2010), tornando o país o nono produtor mundial (CONAB, 2014). O sorgo é classificado em graníferos e forrageiros, onde o primeiro é o de maior expressão econômica e está no mercado sendo comercializado através de híbrido e variedades geralmente com porte baixo. O segundo está entre os cinco cereais mais cultivados mundialmente e inclui plantas de porte alto para fins de silagem ou produção de açúcar e álcool, além de serem utilizados para pastejo, corte verde, fenação e cobertura morta (RIBAS, 2008). O sorgo é uma planta C4, de dias curtos, com elevadas taxas fotossintéticas, tolerante a estresse hídrico, e por isso muito utilizada em regiões quentes e secas e em várias faixas de condições de solo (DOGGETT, 1970; MAGALHÃES et al., 2004).

Várias são as espécies do gênero *Sorghum*, que possuem potencialidade alelopática: *S. bicolor*, *S. sudanense*, *S. halepense* e *S. vulgare* (PANASIUK et al., 1986; EINHELLIG; RASMUSSEN, 1989).

A formação de sorgoleone ocorre durante o estabelecimento inicial das plântulas de sorgo. Após a exsudação da hidroquinona (composto instável), esta é oxidada para uma configuração de benzoquinona, a qual é altamente fitotóxica (MARCHI, et al., 2008; SANTOS et al., 2012), e com longa meia-vida no solo devido seu caráter hidrofóbico (HESS et al., 1992; DAYAN et al., 2007). Além disso, esta substância é um forte inibidor da respiração mitocondrial (RAMUSSEN et al, 1992), do transporte de elétrons do fotossistema II, local de ação dos herbicidas atrazine e diuron (EINHELLIG et al., 1993; NIMBAL et al., 1996; GONZALEZ et al., 1997). A ação do sorgoleone sobre plantas através da supressão do seu desenvolvimento é considerada para alguns pesquisadores é uma forma controle biológico de plantas daninhas (TREZZI, 2002; DAYAN et al., 2007; BAERSON et al., 2008; SANTOS et al., 2012). Efeitos de inibição e redução de germinação de plântulas foram constatados em plantas daninhas (PANASIUK et al., 1986; NIMBAL et al., 1996) e culturas de sucessão como a soja (BORTOLINI; FORTES, 2005; SERAFIN, 2007; MAULI et al., 2009), feijão trigo (SOUZA et al., 1999). Efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento da radícula também foram detectados (RIZZARDI et al., 2008; MORAES et al., 2012). Devido a essa possibilidade de utilização do sorgoleone no controle de plantas, faz-se necessário a realização de pesquisas investigativas com o intuito de determinar a viabilidade do uso dessa substância no controle de plantas daninhas e ainda se em caso de utilização à campo se o sorgoleone afetaria a planta cultivada.

Este estudo teve como objetivo a extração, purificação e quantificação de extra-

tos de sorgoleone, a partir de três genótipos de sorgos do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo, bem como a realização da avaliação da ação do sorgoleone sobre a germinação de sementes de milho, soja e picão-preto.

3. Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de pesquisa da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – MG, nos laboratórios de Agroquímica e de Manejo de Plantas Daninhas e Dinâmica de Herbicidas.

3.1. Obtenção do material botânico

Foram utilizados três acessos do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo, sendo eles CMSXS 206 B, BR 007 B e BRS 716. As características dos acessos estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Caracterização dos acessos de sorgo.

Acesso	Espécie	Característica	Cor Semente	Massa seca 150 raízes (g)
CMSXS 206 B	<i>S. bicolor</i>	Linhagem Fêmea	Clara	0,22 ± 0,02
BR 007B	<i>S. bicolor</i>	Linhagem Fêmea	Escura	0,29 ± 0,07
BRS 716	<i>S. bicolor</i>	Linhagem Fêmea	Escura	0,43 ± 0,08

3.2. Obtenção do padrão

Devido o sorgoleone puro não estar disponível comercialmente, a purificação e identificação da substância para obtenção do padrão, para a quantificação dos genótipos de sorgo foi realizada. Para isso, o acesso de sorgo BR 007 B foi utilizado.

Inicialmente 1300 sementes do genótipo BR 007 B foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 2,5% por 10 minutos e em seguida lavadas três vezes com água destilada. As sementes então foram colocadas em caixas gerbox de 250 ml (11x11x3,5 cm) opacas forradas e cobertas com papel-filtro umedecido com 3 ml de água destilada e 3mL de solução de nistatina a 1%. Posteriormente as sementes foram cobertas com ou-

tra camada de papel-filtro e as placas colocadas em câmara de germinação a 30°C durante sete dias no escuro.

Decorrido os sete dias, as raízes foram cortadas, e reunidas em grupos de 150 e mergulhadas numa solução de ácido acético glacial em diclorometano 0,0025% v/v por 5 minutos, para a extração do aleloquímico. Após este procedimento, a solução foi filtrada em algodão e levado para evaporador rotatório a 100°C.

A técnica de cromatografia em camada delgada em uma placa de vidro de 20x20 cm, recoberta com uma camada de 1 mm de espessura de sílica em gel (Sigma-Aldrich-60) com indicador fluorescente de 254 nm, e pré-condicionada em estufa a 100°C por 12 horas foi utilizada. O extrato foi dissolvido previamente em diclorometano e submetido ao desenvolvimento ascendente (Figura 1, A e B). A solução de 100 ml contida na fase móvel da cuba foi de clorofórmio: metanol (95:5). A banda da extremidade superior da placa, de cor rosácea, foi removida com espátula (Figura 1, C) e os compostos aderidos (fator de retenção) à sílica foram extraídos com diclorometano (10ml) e filtrados em papel de filtro comum e postas em balão. O solvente foi posteriormente evaporado em evaporador rotatório.

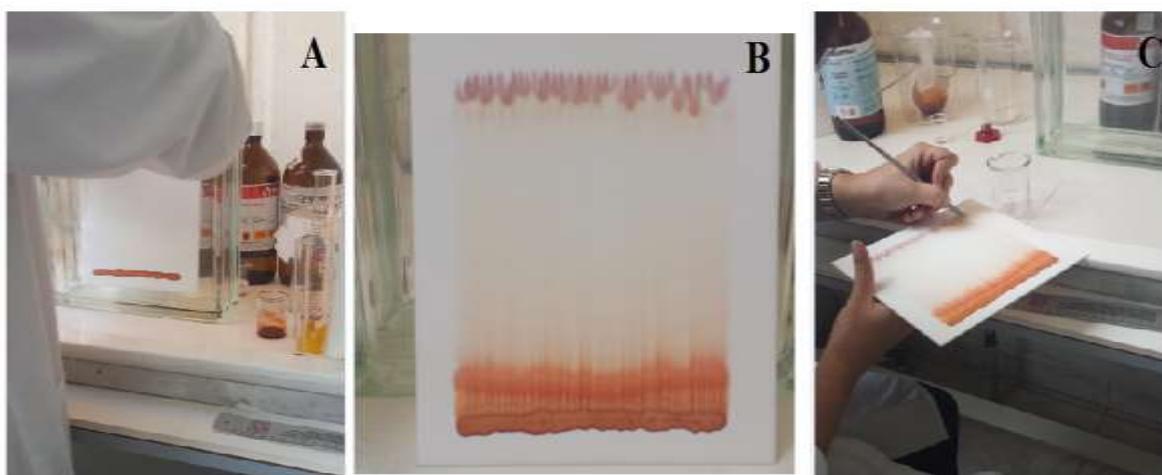


Figura 1: Placa de sílica pronta para desenvolvimento ascendente (A) e depois, pronta para raspagem (B e C).

3.3. Quantificação dos extratos radiculares

Após a obtenção do padrão, foi realizada a quantificação dos outros acessos de sorgos (CNSXS 206 B e BRS 716 BR 007 B). Foram colocadas 15 sementes por placa totalizando 150 raízes para cada genótipo com a mesma metodologia para obtenção do

padrão. Decorridos os sete dias, as raízes foram cortadas e feito o peso fresco para posterior peso seco. As raízes foram mergulhadas em solução de ácido acético glacial e diclorometano 0,0025% v/v por 5 minutos, para a extração do aleloquímico (Figura 2). O produto foi filtrado em algodão para separação do solvente (Figura 3) que foi levado em evaporador rotatório a 100°C e obtido posteriormente a massa seca dos extratos.

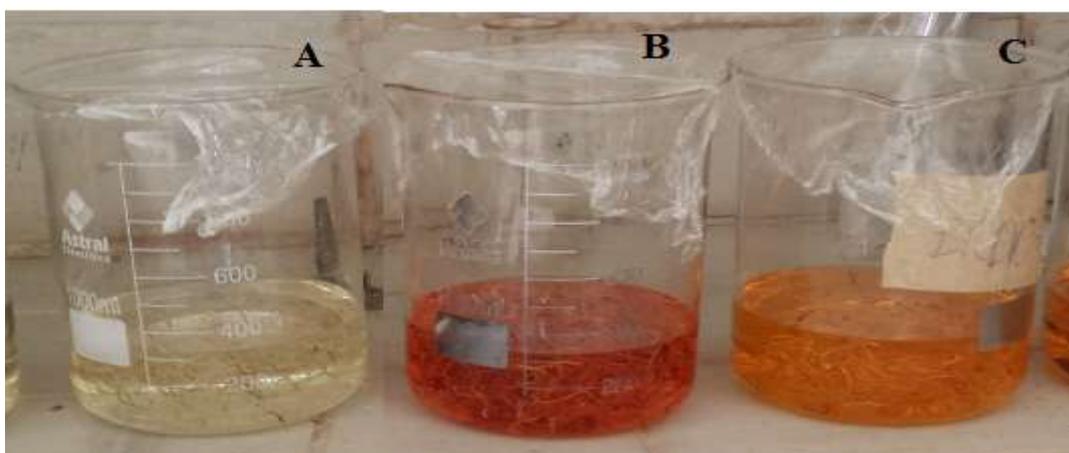


Figura 2: Raízes dos genótipos CMSXS 206 B (A), BRS 716 (B) e BR 007 B (C) em solução extratora.

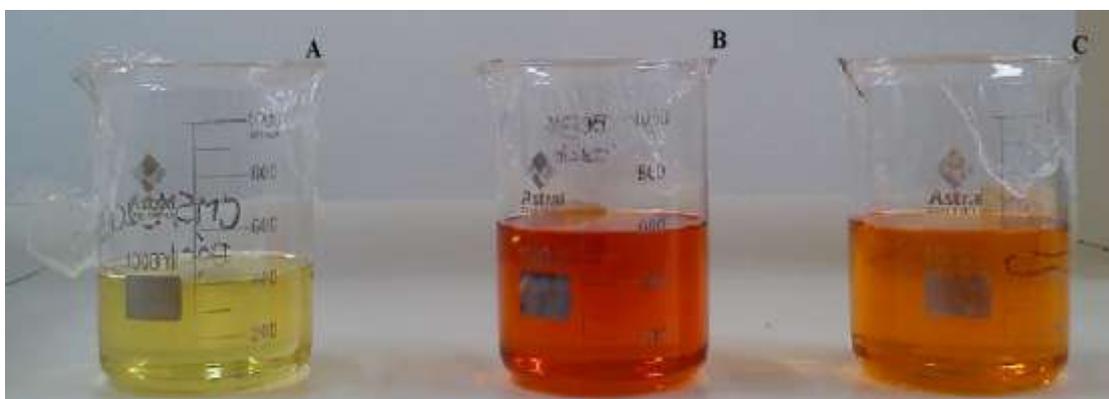


Figura 3: Extratos com sorgoleone dos genótipos CMSXS 206 B (A), BRS 716 (B) e BR 007 B (C) após a remoção das raízes.

A solução com o sorgoleone é apresentada em termos de pureza relativa, a qual representa a quantidade de sorgoleone em relação às substâncias que absorvem apenas na frequência ultravioleta de 254 nm (BRAITHWAITE; SMITH, 1999) e foi calculada integrando a área correspondente ao pico de sorgoleone no cromatograma.

3.4. Análise dos extratos por LC-MS

As amostras foram analisadas em um cromatógrafo líquido acoplado a um detector de espectrometria de massas. A fase móvel utilizada foi solução de ácido acético 0,1% (v/v) e acetonitrila na proporção de 25:75 no modo isocrático em um fluxo de 0,4 mL por minuto.

A coluna utilizada foi uma C18 da ACE Gold, 2,1 × 10 mm, tamanho de partícula de 3 µm. A temperatura do forno da coluna foi de 30°C. As análises cromatográficas foram realizadas em um sistema de cromatografia líquida da Surveyor acoplado ao espectrômetro de massas da Thermo Scientific, modelo TSQ Quantum Access Max de estágio de triplo quadrupolo. O volume de injeção das amostras foi de 5,0 µL.

Os parâmetros de espectrometria de massas utilizados foram: voltagem de -3 kV, temperatura de vaporização de 350°C, temperatura de capilar de 270°C, gás de secagem em vazão de 8 litros por minuto.

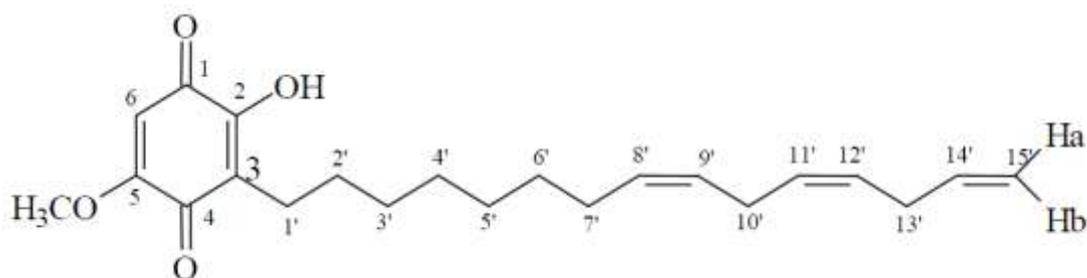


Figura 4: Estrutura de sorgoleone na forma oxidada {2 hidroxil-5 metoxi-3-[(8'Z, 11'Z)- pentadeca- 8', 11', 14' -Trien-'IL]- p- benzoquinona}

Fonte: NETZLY et al., 1988.

O íon molecular de sorgoleone é o m/z 357 (M-H) que perdeu o hidrogênio da hidroxila. As transições analisadas utilizadas foram: 357 → 323 (quantificação), 357 → 290 e 357 → 121 (confirmação).

O fragmento de m/z 323 corresponde ao íon molecular que perdeu um grupo metóxi (OCH₃) da posição 5 e átomo de hidrogênio, posição 6 (flecha roxa).

O fragmento de m/z 290 corresponde à quebra da ligação dupla da cadeia no carbono da posição 11 (flecha verde). O fragmento de m/z 121 corresponde ao íon molecular de sorgoleone com perda do grupo metóxi e da cadeia lateral de quinze carbonos (flecha azul).

3.5. Testes de germinação

3.5.1. Material vegetal

As sementes de milho (BRS Cipotânea), soja (Riber M6210 1 PRO) procederam do banco de sementes da Embrapa Milho, e as sementes de picão-preto (*Bidens pilosa*) da área de coleta de sementes da unidade agropecuária.

3.5.2. Os Bioensaios

Os experimentos de germinação foram realizados no laboratório de Plantas Daninhas e Dinâmica de Herbicidas da Embrapa Milho e Sorgo, em sala de germinação com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 60% no escuro por sete dias após a semeadura. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizados, com quatro repetições. A unidade experimental constou de uma caixa de gerbox com papel de germinação e 25 sementes de cada espécie. Uma alíquota de 50 mg de cada extrato, foi diluída em 10 ml de etanol comum e completados com água deionizada para um volume de 50 ml. A solução (4 ml) foi aplicada nas placas com as sementes exceto para as parcelas controle onde apenas água foi adicionado. Posteriormente, as placas foram umedecidas com água deionizada, conforme a necessidade de cada espécie.

O número de sementes germinadas foi avaliado por 6 dias consecutivos, para obtenção da porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG). A fórmula $G=(N/A)*100$, onde N é o número total de sementes germinadas ao final do experimento e A é o número de sementes colocadas para germinar foi utilizada para determinação da % de germinação (NETO, 2010) enquanto, o IVG foi calculado pela fórmula $IVG=[N1/1+N2/2+N3/3+...Nn/n] \times 100$, proposta por Wardle et al. (1991) onde N é o número de sementes germinadas a cada dia e 1, 2, 3 e n, é o número de dias decorridos para a germinação.

3.6. Análise estatística dos bioensaios

As variáveis de germinação e IVG foram submetidas à análise de variância e os tratamentos comparados por teste de comparação de médias (teste de Tukey) a 5% de probabilidade utilizando o software SYSTAT 13 da Embrapa Milho e Sorgo.

4. Resultados e discussão

4.1. Obtenção do padrão

A curva padrão de sorgoleone foi construída pela injeção do padrão de sorgoleone em metanol na concentração de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ em diferentes volumes de injeção: 1,3, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 μL . A Figura 5 apresenta a curva de calibração (A) e o cromatograma da sorgoleone do genótipo BR 007 B (B).

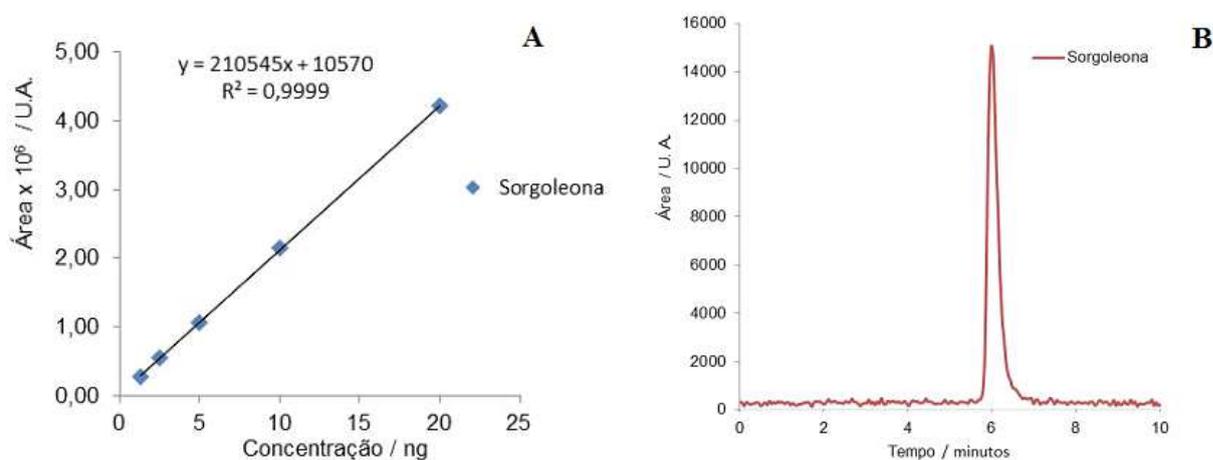


Figura 5: Curva de calibração (A) e cromatograma da sorgoleone na concentração de 1,3 ng (B).

4.2. Quantificação dos extratos radiculares

A figura 6 apresenta o cromatograma com os picos de sorgoleone encontrada nos três genótipos testados. As concentrações obtidas para cada extrato estão apresentadas na Tabela 2. A área do pico do cromatograma do genótipo CMSXS 206 B, ficou fora o intervalo linear da curva padrão, portanto realizou-se diluição em 10 vezes para comparação com os outros dois genótipos.

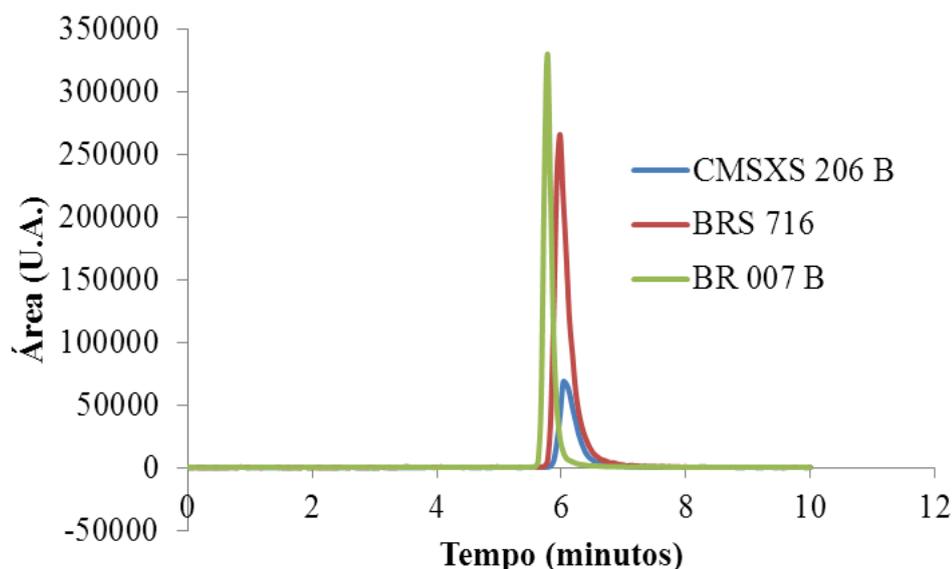


Figura 6: Cromatograma de sorgoleone dos genótipos testados.

O genótipo CMSXS 206 B apresentou uma concentração de sorgoleone por grama de extrato 30 vezes a mais que a cultivar BR 007 B, que obteve menor teor de sorgoleone por grama de extrato. A cultivar BRS 716 obteve a concentração cerca de 7 vezes menor que a mais concentrada.

Tabela 2: Quantidade de sorgoleone (SGL) encontrada a partir de análise cromatográfica.

Genótipo	Extrato bruto / MS de raiz (g g⁻¹)	SGL/extrato (µg g⁻¹)	SGL/ MS raiz (µg g⁻¹)
CMSXS 206 B	0,014	382,2	82,6
BRS 716	0,1	98,0	41,5
BR 007 B	0,032	12,6	3,6

Os dados obtidos estão de acordo com os dados apresentados por FRANCO (2009), que também notou diferenças entre os teores de sorgoleone, dos genótipos CMSXS 206 B e BR 007 B, similares aos detectados neste trabalho. Na Figura 7, observa-se as gotículas de exsudado produzidas pelas raízes de sorgo.

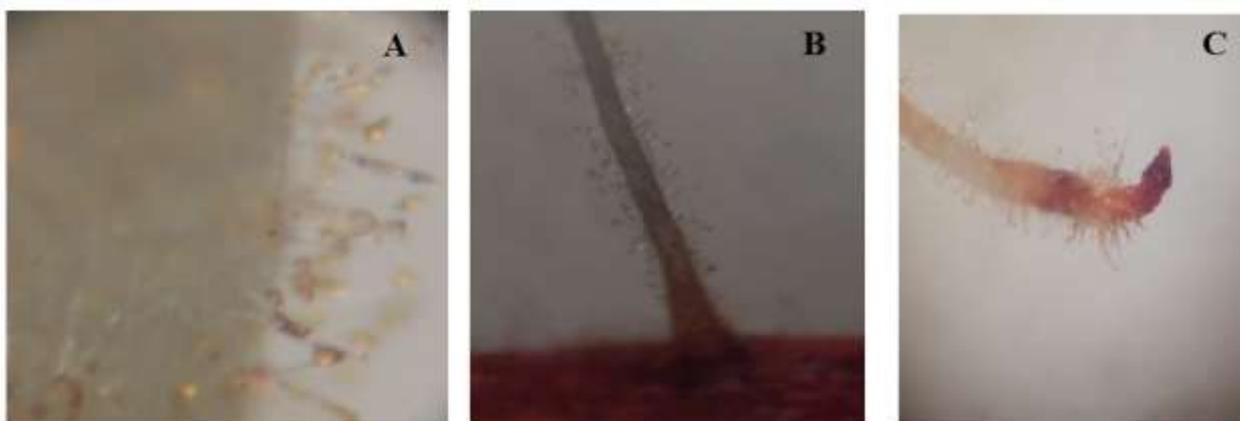


Figura 7: Exsudação de sorgoleone nos pelos das raízes das plantas de sorgo, aos sete dias após a emergência (Foto ampliada 60x). Genótipos CMSXS 206 B (A), BRS 716 (B) e BR 007 B (C).

4.3. Testes de germinação e crescimento

A germinação das sementes das três espécies estudadas foi estatisticamente diferente ($p < 0,05$) em função das testemunhas e dos genótipos. As doses (ppm) testadas de cada genótipo estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Quantidade de sorgoleone (SGL) contida em 50 mg de extrato e em solução testada.

Genótipo	SGL/50 mg de extrato (μg)	[] SLG em de solução (ppm)
CMSXS 206 B	19,11	0,38
BRS 716	4,9	0,098
BR 007 B	0,63	0,0126

Na Tabela 4 estão apresentadas as diferenças entre as médias de porcentagem de germinação, mostrando que para sementes de soja e picão preto não houve diferença significativa entre os três genótipos. Diferenças foram observadas somente para as sementes de milho com o genótipo BR 007 B que inibiu em 90% a porcentagem de germinação em relação média das outras duas cultivares, revelando uma sensibilidade do milho em relação a esse genótipo.

Entre as espécies e suas testemunhas, as sementes de milho e soja tiveram a por-

centagem de germinação afetada pelos três genótipos (Tabela 5). A diferença foi de 100%, 95% e 95% para a soja e 95%, 33% e 58% para milho nos três genótipos de sorgo BR 007 B, BR 716 e CMSXS 206 B respectivamente para cada uma das espécies. CMSXS 206 B reduziu em 97% a porcentagem de germinação de sementes de picão-preto em relação à sua testemunha, demonstrando assim, que o milho é sensível ao exsudado dessa cultivar. De acordo com SHANN e BLUM (1987) a atividade de um aleloquímico depende do limite de resposta da espécie receptora, assim, o seu potencial alelopático irá variar conforme a espécie receptora (SEIGLER, 1996; SOUZA FILHO et al., 1997).

Tabela 4: Porcentagem de germinação de sementes de milho, soja e picão-preto, aos 6 dias após adição do extrato de sorgoleone (50 mg) de diferentes cultivares de sorgo.

Espécie	GENÓTIPOS DE SORGO					
	BR 007 B		BR 716		CMSXS 206 B	
	% GERMINAÇÃO					
<i>Zea mays</i>	5	Bc	67	Ab	41	Ab
<i>Bidens pilosa</i>	17	Abc	27	Acd	1	Ac
<i>Glycine max</i>	0	Ac	5	Ad	5	Ac
TM	100	Aa	100	Aa	99	Aa
TP	33	Ab	36	Ac	35	Ab
TS	100	Aa	99	Aa	98	Aa

Testemunha milho (TM), Testemunha soja (TS), Testemunha picão-preto (TP).

Para cada variável, médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para IVG (Tabela 5), verificou-se diferenças significativas entre os três genótipos analisados para as espécies de milho e picão-preto, mostrando que a velocidade de germinação destas espécies foi afetada pelos extratos com sorgoleone estudados. A cultivar BR 007 B afetou o IVG de sementes de milho em 11 vezes (4,5 dias) a menos que CMSXS 206 B. Esse comportamento se inverte para sementes de picão-preto, em que a cultivar CMSXS 206 B inibiu a velocidade de germinação em cerca de 23 vezes (1 dia) a menos que BR 007 B. Apenas para a espécie de soja, não foi verificada diferença

entre os três genótipos, mas houve redução do IVG quando comparados as testemunhas e os tratamentos com extratos. Essa variação foi de 100 (2 dias), 38 (2 dias) e 36 (2 dias e meio) vezes para os genótipos BR 007 B, BR 716 e CMSXS 206 B respectivamente. Este resultado se assemelha aos resultados de SERAFIN (2007) e OLIBONE et al. (2006) os quais também verificaram a influência de extratos com sorgoleone na germinação de sementes da soja.

Tabela 5: Índice de velocidade de germinação de sementes de milho, soja e picão-preto, aos 6 dias após adição do extrato de sorgoleone (50 mg) de diferentes cultivares de sorgo.

GENÓTIPOS DE SORGO						
Espécie	BR 007 B		BR 716		CMSXS 206 B	
	IVG					
<i>Zea mays</i>	0,208	Cc	4,375	Ab	2,488	Bb
<i>Bidens pilosa</i>	1,154	Bc	1,733	Ac	0,05	Cbc
<i>Glycine max</i>	0	Ac	0,342	Ac	0,321	Ab
TM	12,208	Aa	11,854	Aa	11,854	Aa
TP	2,546	Ab	2,592	Abc	2,887	Ab
TS	4,292	Aa	13,225	Aa	11,779	Ba

Testemunha milho (TM), Testemunha soja (TS), Testemunha picão-preto (TP).

Para cada variável, médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Comparando o IVG das sementes de picão-preto em extrato com suas testemunhas, houve diferença significativa apenas para a cultivar BR 007 B. O valor de IVG foi de 2 vezes menor que sua testemunha. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por AYENI e TEDELA (2010), que testaram o potencial alelopático de resíduos de sorgo e observaram retardamento na germinação de sementes de picão-preto

Em função dos extratos das cultivares BR 007 B e CMSXS 206 B terem apresentado redução na porcentagem de germinação e o IVG de sementes de milho e soja, não seria recomendado sua utilização como palhada no plantio para a cultura da soja em sucessão. Já para picão-preto, ambas cultivares afetaram a porcentagem de germinação

e IVG, atuando como supressoras desta planta daninha. Entretanto, a situação ideal é aquela em que as plantas daninhas são afetadas pelas substâncias alelopáticas e a cultura apresenta seletividade à essas substâncias.

5. Conclusão

Há variabilidade entre genótipos de sorgo na produção de extratos com sorgoleone. Extratos a partir dos genótipos CMSXS 206 B, BR007 B e BRS 716, reduzem a germinação de sementes de soja, milho e picão-preto em laboratório.

Não há relação de dependência entre o teor de extratos com sorgoleone e sua capacidade de supressão de plantas em laboratório.

Os genótipos BR 007 B e CMXSX206 B reduzem a germinação de picão-preto, mas também suprimem a germinação de milho e soja. Portanto, não se recomenda a utilização desses genótipos para o controle de picão-preto em cultivos de milho e soja, ou dessas culturas em sucessão a esses genótipos de sorgo.

6. Referências bibliográficas

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

AYENI, J. M.; TEDELA, K. P. O. Allelopathic potentials of some crop residues on the germination and growth of *Bidens pilosa*. L. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.4, n. 1. 2010.

BAERSON, S. R.; RIMANDO, A. M.; PAN, Z. Probing allelochemical biosynthesis in sorghum root hairs. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 9, p. 667-670, 2008.

BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, M. L ; DEMUNER, A. J. Preparation and phytotoxicity of sorgoleone analogues. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 751-755, 2001.

BORTOLINI, M. F.; FORTES, M. T. Efeitos alelopáticos sobre a germinação de sementes de soja (*Glycine max* L. Merril). **Ciências Agrárias** , Londrina, v. 26, n. 1, p. 5-10, 2005.

BRAITHWAITE, A.; SMITH, F. J. Chromatographic methods. 5 ed. Kluwer Academic Publishers, 1999.

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

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

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

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

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: sorgo. Conjuntura mensal: período, 25 março de 2014.

CZARNOTA, M. A.; PAUL, R. N.; DAYAN, F. E.; NIMBAL, C. I.; WESTON, L. A. Mode of action, localization of production, chemical nature, and activity of sorgoleone: a potent PSII inhibitor in *Sorghum* spp. Root exudates. **Weed Technology**, v. 15, p. 813-825, 2001.

DAYAN, F. E.; KAGAN, I. A.; RIMANDO, A. M. Elucidation of the biosynthetic pathway of the allelochemical sorgoleone using retrobiosynthetic NMR analysis. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 28607-28611, 2003.

DAYAN, F. E.; WATSON, S. B.; NANAYAKKARA, N. P. D. Biosynthesis of lipid resorcinols and benzoquinones in isolated secretory plant root hairs. **Journal of Experimental Botany**, v.58, n. 12, p. 6263-3272, 2007.

DOGGETT, H. Physiology and agronomy. In.: DOGGETT, H (Org.). **Shorghum**. London: Longman, 1970. p. 180-211.

DOGGETT, H. Shorghum. 2. ed. **Tropical Agriculture Series**. London: Longman, 1988. 512 p.

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

EINHELLIG, F. A.; RASMUSSEN, J. A. Prior cropping with grain sorghum inhibits weeds. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 1, p. 1-11, 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.

FAO. The lurking menace of weeds. Roma, 2009. Disponível em: < <http://www.fao.org/news/story/0/item/29402/icode/en>>. Acesso em 20 mai. 2015.

FRANÇA, A. C.; SOUZA, I. F.; SANTOS, C. C.; OLIVEIRA, E. Q.; MARTINOTTO, C. Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto.

Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1374-1379, 2008.

FRANCO, F. H. S. Quantificação de sorgoleona produzida em raízes de diferentes acessos de sorgo. 2009. 40f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2009.

GAZZIERO, D. P.; VOLL, E.; ADEGAS, F. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas: situação atual e manejo. Boletim de pesquisa da soja, 2011.

GIANCOTTI, P.R.F.; TOLEDO, R. E. B.; ALVES, P. L. C. A.; VICTORIA FILHO, R.; CASON, J. B.; ROCHA, M. G. Chemical control of morning glory as a function of water restriction levels. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 345-353, 2014.

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.

GUIMARÃES, G. L. Impactos ecológicos do uso de herbicidas ao meio ambiente. Série Técnica IPEF, Piracicaba, v. 4, n. 12, p.159-180, 1987.

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.

IEA, Instituto de Economia Agrícola, Defensivos Agrícolas: vendas batem novo recorde em 2012 e segue em ritmo forte em 2013. Disponível em <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=12700>>. Acesso em 25 de maio de 2015.

KARAM, D.; MELHORANÇA, A. L.; OLIVEIRA, M. F. Plantas daninhas na cultura do milho. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Sete Lagoas, 2006.

MAGALHAES, P.C.; DURAES, F.O.M.; KARAM, D.. Eficiência dos dessecantes paraquat e diquat na antecipação da colheita do milho. Revista **Planta daninha**, Viçosa, v. 20, n. 3, p. 449-455, Dec. 2002.

MAGALHAES, P.C.; DURAES, F.O.M.; SCHAFFERT, R. E. **Fisiologia da planta de sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 46 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 86).

MANO, A. R. O. Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearenses* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho. 2006. Tese (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 2006.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; WANG, G.; MC-GIFFEN, M. Effect of age of a sorghum-sudangrass hybrid on its allelopathic action. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 707-716, 2008.

MARTINS, B.A.B.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Herbicide efficacy on *Borreria densiflo-*

ra control in pre- and post-emergence conditions. **Planta daninha**, Viçosa , v. 32,n. 4,p. 817-825,Dec. 2014 .

MAULI, M. M.; FORTES, A. M. T.; ROSA, D. M.; PICCOLO, G.; MARQUES, D. S.; CORSATO, J. M.; LESZCZYNSKI, R. Alelopatia de leucina sobre soja e plantas invasoras. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 55-62, 2009.

MORAES, P. V. D.; AGOSTINETTO, D.; PANOZZO, L. E.; GALON, L.; OLIVEIRA, C.; MAGRO, T. D. Potencial alelopático de extratos aquosos de culturas de cobertura de solo na germinação e desenvolvimento inicial de *Bidens pilosa*. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1299-1314, 2012.

NETO, E. N. A. Potencial alelopático de leucina e de sabiá na germinação, na emergência e no crescimento inicial do sorgo. 2010. 29f.; Monografia (Graduação em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Campina Grande- Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, PB, 2010.

NETZLY, D. H.; BUTLER, L. G. Roots of sorghum exude hydrophobic droplets containing biologically active components. **Crop Science**, v. 26, p. 775-778, 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.

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.

OLIBONE, D.; CALONEGO, J. C.; PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Crescimento inicial da soja sob efeitos de resíduos de sorgo. **Revista Planta Daninha, Viçosa**, v.24, n.2, p. 255-261, 2006.

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

PIRES, N. M.; OLIVEIRA V. R. Alelopatia. p.145-185. (Cap.5) In: R. S. OLIVEIRA JR.; J. CONSTANTIN, *Biologia e manejo de plantas daninhas*, 2011.

PIRES, N. M.; PRATES, H. T.; PEREIRA FILHO, I. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. de; FARIA, T. C. L. Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 1, p. 61-65, 2001a.

PIRES, N. M. SOUZA, I. R. P.; PRATES, H. T.; FARIA, T. C. L.; FILHO, I. A. P.; MAGAÇHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucina sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, Lavras, 2001b.

PITELLI, R. A.; PITELLI, R. L de C. M. *Biologia e ecofisiologia das plantas daninhas*. In: VARGAS, L.; ROMAN, Ed(s). *Manual de Manejo e Controle de Plantas Daninhas*.

Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. p. 11-38.

PUTNAM, A. R.; DUKE, W. D. Allelopathy in agroecosystems. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 16, p. 431-451, 1978.

QUEIROZ, A.R.S.; VIDAL, R.A. O desenvolvimento de culturas tolerantes ao herbicida diclorofenoxiacetato: revisão de literatura. **Planta daninha**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 649-654, 2014.

QUEIROZ, G. M. P.; SILVA, M. R.; BIANCO, R. J. F.; PINHEIRO, A.; KAUFMANN, V. Transporte de glifosato pelo escoamento superficial e por lixiviação em um solo agrícola. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 190-195, 2011.

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.

RIBEIRO, J. P. N.; MATSUMOTO, R. S.; TAKAO, L. K.; VOLTARELLI, V. M.; LIMA, M. I. S. Efeitos alelopáticos de extratos aquosos de *Crinum americanum* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 1, p.183-188, 2009.

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

RIZZARDI, A.; RIZZARDI, M. A.; LAMB, T. D.; JOHANN, L. B. Potencial alelopático de extratos aquosos de genótipos de canola sobre *Bidens pilosa*. **Revista Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 117-724, 2008.

RODRIGUES, J. A. S. Cultivo do sorgo. 6 ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 2).

SANTOS, I. L. V. L.; SILVA, C. R. C. da.; SANTOS, S. L. dos; MAIA, M. M. D. Sorgoleone: benzoquinona lipídica de sorgo com efeitos alelopáticos na agricultura como herbicida. **Arq. instituto Biologia**, São Paulo, v. 79, n. 1, p. 135-144, jan./mar., 2012.

SEIGLER, D. S. Chemistry and mechanisms of allelopathy interactions. **Agronomy Journal**, v. 88, p. 876-885, 1996.

SERAFIN, C. F. Ação do sorgoleone na germinação de sementes de soja e trigo e espécies invasoras 2007 62f. Tese (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, 2007.

SOARES, W. L.; PORTO, M. F. Atividade agrícola e externalidade ambiental: uma análise a partir do uso de agrotóxicos no cerrado brasileiro. **Ciência & Saúde coletiva**, v. 12, n.1, p. 131-142, 2007.

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

SOUZA, C. N.; SOUZA, I. F.; PASQUIAL, M. Extração e ação de sorgoleone sobre o

crescimento de plantas. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 331-338, 1999.

SOUZA FILHO, A. P. da S.; VASCONCELOS, M. A. M. de; ZOGBI, M. G. B.; CUNHA, R. L. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 2, p. 389-396, 2009.

SHANN, J. R.; BLUM, U. The utilization of exogenously supplied ferulic in lignin biosynthesis. **Phytochemistry**, v. 26, n. 11, p. 2977-2987, 1987.

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

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. P. H. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 381-384, 2006.

TREZZI, M. M. Avaliação do potencial alelopático de genótipos de sorgo. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução. Passo fundo: Embrapa Trigo, 2006. 22 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 58).

WARDLE, D. A.; AHMED, M.; NICHOLSON, K. S. Allelopathy influence os nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and growth of pasture plants. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 34, n.2, p. 185-191, 1991.

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

YANG, X.; OWENS, T. G.; SCHEFFLER, B. E.; WESTON, L. A. Manipulation of root hair development and sorgoleone production in sorghum seeding. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n.1 , p.199-213, 2004.