



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**POTENCIAL DE GENÓTIPOS DE CANOLA (*Brassica
napus* L. var. *oleifera*) NA SUPRESSÃO DE PLANTAS
DANINHAS**

ALINE RIZZARDI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, maio de 2007

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

POTENCIAL DE GENÓTIPOS DE CANOLA (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) NA SUPRESSÃO DE PLANTAS DANINHAS

ALINE RIZZARDI

ORIENTADOR: Prof. Dr. MAURO ANTÔNIO RIZZARDI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal

Passo Fundo, maio de 2007

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

Aos meus pais, pela educação e valores transmitidos e a meu irmão que não mediu esforços para me auxiliar.

Ao Professor Dr. Mauro Antônio Rizzardi pela orientação e conhecimentos transmitidos.

À Professora M.Sc. Maria Thereza Friedrich, pelo auxílio na realização das análises cromatográficas, pela amizade e disponibilidade.

À Professora M.Sc. Dileta Cecchetti, pela ajuda na realização das análises estatísticas.

Aos professores Alexandre Nienow e Jurema Schons ex-coordenador e coordenadora do PPGAgro. E aos demais docentes, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Professor Dr. Erlei Mello Reis pelo auxílio nos resumos em inglês.

Ao pesquisador da EMBRAPA - Trigo, Dr. Gilberto Tomm, pela doação das sementes de canola.

À laboratorista Química Mônia Stremel Azevedo pelo auxílio durante a realização dos trabalhos de laboratório e pela amizade.

Aos bolsistas de iniciação científica Leonardo Barcarolo Johan e Tiago Daniel Lamb, pela amizade e auxílio nos experimentos.

Às amigas Carine, Juliane, Mônica e Patrícia com as quais convivi diariamente nestes dois últimos anos e que sempre estiveram a disposição para me auxiliar.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE APÊNDICES.....	xi
RESUMO.....	.01
ABSTRACT.....	.03
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	.05
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	.08

CAPÍTULO I**IDENTIFICAÇÃO DE VARIABILIDADE ENTRE GENÓTIPOS DE CANOLA QUANTO AO POTENCIAL ALELOPÁTICO**

Resumo.....	.22
Abstract.....	.24
1 Introdução.....	.26
2 Material e Métodos28
3 Resultados e Discussão.....	.31
4 Conclusões.....	.42

CAPÍTULO II**CARACTERIZAÇÃO DOS PERFIS CROMATOGRÁFICOS DE GENÓTIPOS DE CANOLA**

Resumo43
Abstract.....	.45
1 Introdução.....	.46
2 Material e Métodos49
3 Resultados e Discussão.....	.52
4 Conclusões.....	.59

CAPÍTULO III**AVALIAÇÃO DO EFEITO SUPRESSIVO DA CANOLA SOBRE PLANTAS****DANINHAS E SOJA**

Resumo.....	60
Abstract.....	62
1 Introdução.....	63
2 Material e Métodos	65
3 Resultados e Discussão.....	69
4 Conclusões.....	79
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
APÊNDICES.....	93

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	Página
Tabela 1- Equações da regressão, e significância do Teste t entre os genótipos de canola, na avaliação da germinação de aquênios de picão-preto. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	33
Tabela 2- Porcentagem de germinação de aquênios de picão-preto submetidos a concentrações de extratos de canola (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>). UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	35
Tabela 3- Equações da regressão, e significância do Teste t entre os genótipos de canola, na avaliação do comprimento da radícula de picão-preto. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	39
Tabela 4- Comprimento da radícula de plântulas de picão-preto submetidos a diferentes concentrações de extratos de canola (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>). UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	40
CAPÍTULO III	
Tabela 1- Somatório de plantas daninhas em diferentes épocas de contagem e culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo, RS, 2006	71
Tabela 2- Número de plantas de picão-preto (<i>Bidens</i> sp.) em diferentes épocas de contagem e culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	73
Tabela 3- Número de plantas de milhã (<i>Digitaria horizontalis</i> Willd.) em diferentes épocas de contagens e culturas	

	antecessoras. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	74
Tabela 4-	Número de plantas de carrapichão (<i>Xanthium strumarium</i> L.) em diferentes épocas de contagem e culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	75
Tabela 5-	Número de plantas de leiteira (<i>Euphorbia heterophylla</i> L.) em diferentes épocas de contagem e culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	76
Tabela 6-	Número de plantas de soja (<i>Glycine max</i> Merrill.) em diferentes épocas de contagem e culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006.....	78

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I		Página
Figura 1-	Efeito da concentração do extrato de genótipos de canola (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>) sobre a porcentagem de germinação de aquênios de picão-preto. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	32
Figura 2-	Efeito da concentração do extrato de treze genótipos de canola (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>) sobre o comprimento da radícula (mm) de picão-preto (<i>Bidens pilosa</i> L.). UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	37
CAPÍTULO II		Página
Figura 1-	Perfis cromatográficos obtidos a partir de extratos de canola (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>). 1-perfil obtido a partir da extração segundo Rangkadilok et al. (2002). 2- perfil obtido a partir da extração segundo Bennet et al. (2002). UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	52

Figura 1-	Perfis cromatográficos obtidos a partir de extratos de canola (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>oleifera</i>). As cores correspondem aos seguintes genótipos: laranja – Sdh 0301, vermelho – Dnl 0302, preto – Sw Eclipse, azul – Hyola 401, rosa – Hyola 61, verde – h 1432. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	54
Figura 2-	Cromatograma obtido por HPLC – UV apresentando o perfil cromatográfico dos extratos dos genótipos de canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	55
Figura 3-	Cromatograma obtido por LC-MS, apresentando os perfis cromatográficos dos extratos dos genótipos de canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	56
Figura 4-	Fragmentação do pico obtido em 12,34 min a partir do espectro de massa do LC-MS do genótipo Hyola 420. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	57
Figura 5-	Fragmentação do pico obtido em 12,34 min a partir do espectro de massa do LC-MS do genótipo Sw-Eclipse. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	58

LISTA DE APÊNDICES

	Página
Apêndice A- Resumo da análise de variância da porcentagem de germinação (PG) de aquênios de picão-preto, em função dos genótipos e concentrações do extrato de canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	94
Apêndice B- Resumo da análise de variância do comprimento da radícula das plântulas de picão-preto, em função dos genótipos e concentrações de extrato do canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.....	95
Apêndice C- Dado referentes às precipitações pluviiais ocorridas entre junho de 2005 e abril de 2006. Embrapa, Passo Fundo, RS, 2006.....	96

POTENCIAL DE GENÓTIPOS DE CANOLA (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) NA SUPRESSÃO DE PLANTAS DANINHAS¹

Aline Rizzardi² e Mauro Antônio Rizzardi³

RESUMO – A alelopatia é um fenômeno natural que ocorre entre vegetais, pela produção de substâncias químicas liberadas no ambiente. Diversas espécies e entre elas as plantas cultivadas tem a capacidade de suprimirem o crescimento de outras, porém, nem sempre são conhecidos os mecanismos desta supressão, o que inviabiliza seu uso no manejo de plantas daninhas. A canola produz uma série de compostos alelopáticos que influenciam na germinação e no crescimento de plantas ao seu redor. Com o objetivo de avaliar o potencial alelopático de genótipos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*), foram desenvolvidos três experimentos no Centro de Extensão e Pesquisa Agropecuária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária e no Centro de Pesquisa em Alimentos da Universidade de Passo Fundo. O primeiro experimento avaliou o efeito de extratos aquosos de genótipos de canola na germinação e comprimento da radícula de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Para tal, testaram-se treze genótipos de canola e cinco concentrações do extrato aquoso (100%, 75%, 50%, 25% e 0%). Avaliou-se a germinação de aquênios de picão-preto. Constatou-se que os extratos de canola influenciam negativamente a germinação de aquênios e o

¹ Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) – UPF.

² Bióloga, mestranda do PPGAgro – UPF.

³ Orientador, Eng. Agr., Dr., Professor da Faculdade de Agronomia da FAMV/UPF.

comprimento da radícula de picão-preto e que baixas concentrações de extratos estimulam tanto o crescimento da radícula quanto porcentagem de germinação dos aquênios de picão-preto. De maneira geral, existem poucas diferenças entre os genótipos na capacidade de inibir a germinação e o comprimento da radícula. Quando existem diferenças, elas se manifestam nas concentrações mais baixas do extrato. O segundo experimento constou da análise cromatográfica dos genótipos de canola, os resultados mostraram a inexistência de diferenças entre os perfis cromatográficos, indicando que os genótipos não diferem quanto a produção de compostos. O terceiro experimento teve como objetivo avaliar a supressão de plantas daninhas, causada pela cultura da canola e o seu impacto no rendimento de grãos da soja semeada em sucessão. Os tratamentos avaliados foram três genótipos de canola (Hyola 43, Hyola 401 e Hyola 420), uma testemunha sem palha e uma testemunha com aveia-preta. Observou-se que a canola exerce efeito inibitório somente sobre o carrapichão e reduz a população de plantas de soja, porém, não interfere negativamente no rendimento de grãos e componentes do rendimento da soja

Palavras-chave: alelopatia, aleloquímicos, brassicaceae, glucosinolatos, cromatografia.

**POTENTIAL OF CANOLA GENOTYPES (*Brassica napus* L.
var. *oleifera*) FOR WEED SUPPRESSION**

ABSTRACT - Allelopathy is a natural phenomenon among plants and its characterized by the production of chemical substances released in the environment. Several plants, including the cultivated species, have the capability to suppress other plant growth, although the mechanisms of growth suppression are frequently unknown, which makes not feasible its use in the management of harmful plants. Canola produces several allelopathic compounds that influence the germination and the development of plants growing around it. The objective of this work was to evaluate the allelopathic potential of canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) genotypes. Three experiments were carried out at the Center of Extension and Farming Research and at the Center of Food Research of the University of Passo Fundo. The first experiment evaluated the effects of canola aqueous extract on achene germination and length of seminal roots of hairy beggartick (*Bidens pilosa* L.). Thirteen canola genotypes and five concentrations of extract were tested (100%, 75%, 50%, 25% and 0%). The canola extracts negatively influenced achene germination and root growth, although low extract concentrations stimulated the same processes. Overall, there were few differences among genotypes in their capability to inhibit germination and seminal root growth. Differences among them were detected only at low extract concentrations. In the second experiment, with chromatographic analysis of canola genotypes, the resulting profiles

were similar, indicating the genotypes did not differ in production of chemicals. In a third experiment, weed suppression and the yield of soybean sown in succession to canola (genotypes Hyola 43, 401 Hyola and Hyola 420), black oat (*Avena strigosa* Schreb) residues and a check without straw were evaluated. Canola inhibited *Xanthium strumarium* L and reduced the population of soybean plants, but there were no differences in soybean yield and its components from the other treatments. Therefore, the preceding crop of canola had no negative effect on the yield of following soybean crop.

Key - words: allelopathy, allelochemicals, brassicaceae, glucosinolates, chromatography.

INTRODUÇÃO

As interações entre espécies vegetais são de fundamental importância para a distribuição das mesmas numa comunidade, além de influenciarem na produtividade das espécies cultivadas e na sua interferência sobre plantas daninhas. Nas comunidades vegetais as plantas podem interagir e um organismo pode afetar negativa ou positivamente o outro por meio da interferência.

Muitas das substâncias químicas que estão presentes nas plantas são liberadas no ambiente podendo atingir os indivíduos vizinhos, e causar efeito prejudicial ou benéfico. A este fenômeno dá-se o nome de alelopatia.

O estabelecimento de culturas com maior habilidade em interferir no desenvolvimento de outras plantas que não a própria cultura é importante, uma vez que esta pode suprimir o desenvolvimento de plantas daninhas que estejam competindo com a cultura.

O manejo de plantas daninhas tem sido realizado principalmente através do controle químico. Este método de controle, quando utilizado inadequadamente, pode desequilibrar os ecossistemas, alterando as propriedades físicas e/ou químicas da água e do solo. Além disso, pode inferir em custos aos produtores e, como se torna repetitivo, pode selecionar plantas daninhas tolerantes ou resistentes aos herbicidas.

Apesar do uso dos herbicidas contribuírem com a produção de alimentos, possíveis impactos sobre a saúde humana

devem ser considerados. Portanto, métodos não poluentes e alternativos para o controle de plantas daninhas devem ser estudados. Em função disto, a alelopatia, tem despertado interesse de pesquisadores do mundo inteiro, principalmente no que diz respeito à utilização de culturas com potencial alelopático e identificação de novas moléculas com potencialidade herbicida.

A identificação e seleção de genótipos de vegetais com maior atividade alelopática é fundamental para o desenvolvimento da cultura subsequente, com menor interferência de plantas indesejáveis. As plantas daninhas representam um sério problema às lavouras, pois causam perdas no rendimento da cultura o que torna inevitável o seu controle. Assim sendo, inovações não-herbicidas para o manejo das populações de plantas daninhas são crescentes e necessárias no mundo inteiro. Dentre essas, a alelopatia evidencia-se como uma ciência promissora. Na agricultura, métodos naturais, como a estratégia de usar a alelopatia no manejo de plantas daninhas, podem reduzir o uso de muitos produtos químicos. A utilização do potencial alelopático das culturas é importante principalmente no sistema de plantio direto, onde o uso da palha torna-se imprescindível, já que além de sombreamento e barreira física, a palha da cultura antecessora pode exercer efeito alelopático.

Plantas que pertencem a família Brassicaceae, como é o caso da canola, produzem um metabólito secundário denominado glucosinolato. Os produtos da degradação deste composto foram estudados e caracterizam-se pela potencialidade herbicida. Portanto, a seleção de genótipos de canola com maior produção de glucosinolatos e seus derivados pode ser uma alternativa para o controle de plantas

daninhas. Caso exista variabilidade, pode-se trabalhar selecionando estes genótipos que, utilizados em associação com outros métodos de manejo de plantas daninhas, podem reduzir a dependência de herbicidas e diminuir assim os custos de produção, sem ocasionar perdas na produtividade das culturas.

O cultivo da canola é fomentado nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso e Goiás, pela qualidade do óleo comestível, em especial devido ao baixo índice de gordura saturada, e também pela sua utilização na produção de biocombustível. Além disso, é uma alternativa aos agricultores, sendo cultivada em sistemas de rotação com cereais de inverno, por não ser suscetível às mesmas doenças dos cereais e ter capacidade de se desenvolver em solo com baixa disponibilidade de fósforo.

Depois do exposto acima, percebe-se a necessidade de estudos referentes a culturas que possam servir como métodos alternativos de controle de plantas daninhas. A presente pesquisa tem por objetivo oferecer subsídios para o manejo integrado de plantas daninhas, além de estimular trabalhos futuros que visem a identificação molecular de compostos alelopáticos para o desenvolvimento de novos herbicidas provenientes de plantas. Neste trabalho, avaliou-se o potencial supressivo de genótipos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) na supressão de plantas daninhas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Estudos referentes aos efeitos alelopáticos, vem sendo desenvolvidos há muitos anos sendo que o termo alelopatia foi criado, em 1937, pelo pesquisador alemão Hans Moles, com a reunião das palavras gregas *alléton* (mútuo) e *pathos* (prejuízo), referindo-se à capacidade que as plantas têm de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento de outras, por meio de substâncias que estas liberam na atmosfera ou no solo (MEDEIROS et al., 1990).

A alelopatia é um fenômeno natural, químico-ecológico, resultado da liberação de substâncias tóxicas por uma espécie vegetal capaz de causar a morte ou inibir o crescimento de outras plantas (RICE, 1984; SOARES et al., 2002). Assim, a alelopatia faz parte de uma rede de comunicação química entre organismos, que contribui para a defesa das plantas (LOVETT & RYUNTYU, 1992; RIZVI & RIZVI, 1992; GASSEN & GASSEN, 1996).

A Sociedade Internacional de Alelopatia define este fenômeno como sendo qualquer processo envolvendo metabólitos secundários ou agentes biológicos que influencia o crescimento e o desenvolvimento de sistemas biológicos (SAXENA et al., 1996). Para Radosevich et al. (1997) alelopatia é qualquer alteração direta ou indireta que uma planta exerce sobre a outra através de metabólitos secundários denominados aleloquímicos, o que caracteriza um tipo de relação ecológica denominada amensalismo, na qual um indivíduo

produz substâncias químicas que inibem o crescimento de outros ao seu redor.

As substâncias químicas com propriedades alelopáticas produzidas pelas plantas podem estar presentes em todos os tecidos vegetais (PUTNAM, 1987) e afetar ou não algumas espécies. Tais substâncias são distribuídas em concentrações variadas nas diferentes partes da planta, durante o seu ciclo de vida e, quando liberadas em quantidades suficientes, causam efeitos alelopáticos, observados na germinação, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas (CARVALHO, 1993; FERREIRA & AQUILA, 2000).

O efeito da alelopatia pode ser confundido com o de outras causas como patógenos, desequilíbrios nutricionais, baixo vigor de sementes e efeitos de clima. Plantas cuja palha apresenta relação C/N elevada podem causar deficiência de nitrogênio, outras podem hospedar insetos ou patógenos que atacam a cultura subsequente e, por falta de conhecimento, muitos sintomas são atribuídos a alelopatia (GASSEN & GASSEN, 1996).

A ciência da alelopatia contribui muito com a produção e estabilidade da agricultura, podendo ser usada na descoberta de novas moléculas bioativas, e no manejo de sistemas naturais e cultivados, especialmente no controle de plantas daninhas (MAIRESSE, 2005). Uma vez que os aleloquímicos são tão comuns, a possibilidade de se obter produtos com características herbicidas, a produção de análogos sintéticos e cultivo de plantas consorciadas adequadamente escolhidas, parece ser plenamente viável (ALMEIDA, 1988).

Em geral, a busca desses produtos naturais, principia com observações de campo que indicam a falta de plantas jovens sob a

copa ou na proximidade de indivíduos de uma determinada espécie ou sob a palhada de uma cultura (RANAL & SANTANA, 2006).

A busca por novas moléculas na natureza, que possam reverter a crescente degradação ambiental tem ocorrido em todos os sentidos, mas convergindo sempre para a meta principal que é a de prover a humanidade com novas tecnologias menos agressivas à natureza e aos seres vivos (MAIRESSE, 2005). Portanto, o uso da alelopatia como estratégia para o manejo integrado de plantas daninhas têm sido estimulada, com o objetivo principal de reduzir o uso de herbicidas (MAIRESSE, 2005). Assim, muitos pesquisadores têm se dedicado ao estudo de culturas com potencial alelopático para promover o manejo integrado de plantas daninhas.

Eslami et al. (2006) constataram que a presença de nabo (*Raphanus raphanistrum*) reduziu a matéria seca, o índice de área foliar e o rendimento de grãos do trigo. Estas perdas aumentaram com o incremento na população de nabo, porém, em densidades elevadas de trigo, ocorria a redução da germinação de nabo. Isso indica que as duas culturas podem ser úteis no manejo de plantas daninhas.

Estudos desenvolvidos com a gramínea forrageira *Brachiaria brizantha* cv. marandu, envolvendo a análise das variações na atividade potencialmente alelopática em função do estágio de desenvolvimento das plantas, indicaram que a atividade alelopática nessa espécie é mais intensa quando as plantas estão na fase vegetativa do que quando na fase de início da floração (SOUZA FILHO & ALVES, 2000).

O manejo de plantas daninhas com coberturas vegetais tem se intensificado pela possibilidade de redução dos custos de

produção dos produtos agrícolas, além da redução das substâncias químicas utilizadas no controle das plantas daninhas. A grande maioria dos compostos naturais apresenta pequena persistência no ambiente e pouca ameaça a saúde humana (RIZVI & RIZVI, 1992).

Pesquisas mostraram que o aumento nos níveis de palha na superfície do solo, reduz a infestação de plantas daninhas (VIDAL & BAUMAN, 1996; ESLAMI et al., 2006). Constata-se que diferentes fatores estão envolvidos na supressão de plantas daninhas quando se utilizam coberturas vegetais, uma vez que a presença de palha exerce tanto efeito físico como químico sobre as culturas estabelecidas em sucessão. O efeito físico pela redução na passagem de radiação solar e a amplitude térmica na camada superficial do solo, torna difícil a separação de efeitos físicos dos químicos (VIDAL et al., 1996).

A identificação de espécies com potencial alelopático pode ser realizada através de bioensaios que consistem de testes de germinação e crescimento de plântulas envolvendo extratos aquosos. Nesses trabalhos utilizam-se solventes orgânicos ou inorgânicos a frio ou a quente para a elaboração dos extratos (FERREIRA & AQUILA, 2000).

A elaboração de extratos alelopáticos são procedimentos simples e de extrema importância para os estudos de alelopatia (PIRES & OLIVEIRA, 2001). Como exemplo do uso de extratos para testar a atividade alelopática, pode-se citar o trabalho de Chon et al. (2002), os quais constataram que extratos de plantas de alfafa afetam o crescimento e diferenciação morfológica de plantas suscetíveis, resultando na redução de sua biomassa na presença de um composto alelopático.

Moléculas aleloquímicas que ocorrem naturalmente em plantas como: *Eurycoma longifolia*, *Brucea* spp., *Quassia indica*, *Castela* spp. e *Ailanthus* spp., foram fitotóxicas e reduziram o crescimento da radícula de alface (*Lactuca sativa*) e afetaram todas as fases da mitose de raízes de cebola (*Allium cepa*) (DAYAN et al., 1999).

Souza Filho & Alves (2000) encontraram que extratos aquosos de folhas e casca de acapu (*Vouacapoua americana*) reduziram a germinação das sementes de malícia e malva, onde as reduções máximas foram promovidas pelos extratos de folhas, para as duas plantas daninhas. Em outro trabalho, Souza Filho (2002) comprovou que extratos hidroalcoólicos da parte aérea, raízes e sementes e extratos brutos de sementes de *Canavalia ensiformis* exerceram efeitos alelopáticos sobre a germinação de sementes e sobre o alongamento da radícula das plantas daninhas, *Mimosa pudica*, *Urena lobata*, *Senna obtusifolia*, *Senna occidentalis*. Neste trabalho, independentemente da espécie receptora, as sementes, seguidas das raízes, foram as principais fontes de substâncias químicas com atividade potencialmente alelopática.

Além da ação alelopática, também existe a possibilidade de que extratos de plantas possam inibir a germinação de sementes não necessariamente devido aos seus constituintes químicos, mas sim em função do potencial osmótico do extrato (MAZZAFERA, 2003).

As interações químicas atribuídas a alelopatia, geralmente trazem efeitos negativos, porém algumas vezes podem ter efeito benéfico favorecendo o crescimento de um ou mais órgãos da planta (ALMEIDA, 1988). O ideal é obter efeitos positivos na cultura e

negativos sobre as plantas daninhas, condições nem sempre obtidas no campo (NEVES, 2005).

Pesquisas demonstram os efeitos negativos e positivos entre as culturas e entre culturas e plantas daninhas. Busnello et al. (2002), constataram que restos culturais de aveia e azevém inibiram significativamente a germinação e desenvolvimento da soja através de seus efeitos alelopáticos. Ainda, em se tratando de efeitos negativos e positivos da alelopatia, Santos et al. (1992) constataram inibição na velocidade e porcentagem de emergência do caruru-de-mancha (*Amaranthus viridis*) com uso de extratos de casca de arroz e de café. Por outro lado, verificaram que os mesmos extratos estimularam o crescimento da mesma planta. Estes resultados comprovam a existência dos efeitos alelopáticos positivos, pelo menos em condições experimentais.

Os efeitos alelopáticos podem ser confundidos com a competição, porém devem-se observar as diferenças entre os dois. A alelopatia e a competição são tipos de interferência existentes nas comunidades vegetais. A interferência representa a soma de interações positivas e negativas entre plantas, incluindo competição e alelopatia (RIZZARDI et al., 2001). A competição é caracterizada pelo efeito mutuamente adverso de organismos que utilizam recursos limitados, enquanto alelopatia é considerado um tipo de amensalismo, em que somente um organismo é afetado, enquanto outro permanece estável (RADOSEVICH, 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. Porém, vários autores têm tido dificuldades em separar estes dois fenômenos a campo (FUERST & PUTNAM, 1983).

A liberação de metabólitos secundários beneficia a planta que os libera, pois, se uma planta reduz o crescimento das plantas vizinhas pela liberação de compostos químicos no solo, isso pode ter como consequência maior chance de acesso à luz, à água e aos nutrientes e, portanto, propiciar maior adaptação evolutiva (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Atualmente tem-se avaliado o potencial alelopático de várias plantas com o objetivo de uso como método de controle alternativo de plantas daninhas. Sem dúvida é possível o uso da alelopatia no controle de plantas daninhas, porém, é necessário primeiramente avaliar o potencial alelopático das plantas, para posteriormente isolar os compostos e esclarecer seus mecanismos de ação (PIRES & OLIVEIRA, 2001).

Poucos compostos secundários de plantas têm mecanismo de ação esclarecido. O conhecimento do mecanismo de ação permite elucidar o seu comportamento na planta, bem como sua interação com outras moléculas e contribuir para síntese mais racional de novos compostos (TREZZI, 2002).

As plantas produzem e estocam grande número de produtos do seu metabolismo, os quais são posteriormente liberados para o ambiente, de diferentes formas, como volatilização, exsudação radicular, lixiviação de partes das plantas vivas e mortas e decomposição de resíduos (SOUZA et al., 2005). Estes produtos são denominados metabólitos secundários ou substâncias alelopáticas, os

quais possuem diversidade química, podendo ser ácidos fenólicos, cumarina, terpenóides, alcalóides, flavonóides, etileno e várias outras substâncias. Numerosos compostos alelopáticos produzidos pelas plantas cultivadas, que se mostram inibitórios para diversas plantas daninhas, agem como eficientes herbicidas naturais (CASTRO et al., 1983; ALMEIDA, 1988; OSORNIO et al., 1996).

Muitos metabólitos secundários, como substâncias fenólicas e terpenóides, influenciam o ciclo de nutrientes e aumentam ou reduzem a disponibilidade destes em sistemas terrestres e aquáticos (INDERJIT et al., 1999). O estresse nutricional causa interferência competitiva e aumenta a produção de substâncias alelopáticas em plantas cultivadas ou em plantas daninhas (RICE, 1984).

Os metabólitos secundários não têm função direta no crescimento da planta, mas servem de adaptação defensiva (BLUM, 1999). Como é o caso das coníferas que secretam uma mistura complexa de monoterpenos em resposta ao ataque de insetos. Tal secreção defensiva é tóxica aos mesmos (MAHMOUD & CROTEAU, 2002).

Após a liberação, devido os compostos alelopáticos serem moléculas orgânicas, geralmente sofrem rápida transformação no solo, que pode ser causada pela ação microbiana, podendo tornar os compostos alelopáticos inertes ou mais eficazes como fitotoxinas (PIRES et al., 2001).

Os vegetais produzem seus metabólitos secundários tanto de expressão constitutiva (sempre presentes na planta), quanto de expressão ativada (conforme a necessidade) (MAIRESSE, 2005). Se alguns compostos estão presentes em teores tão altos que podem ser

até extraídos industrialmente, outros, certamente podem ser produzidos em concentrações muito baixas (IQBAL et al., 2003; TAIZ & ZEIGER, 2004). Entretanto, por serem extremamente bioativos, tais compostos, mesmo em mínimas concentrações, agem diretamente sobre as células, ativando ou inibindo o crescimento e desenvolvimento do próprio organismo ou de outros na vizinhança (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Quantidades baixas podem ainda atuar indiretamente, interagindo com outras moléculas, como os fito-hormônios, desencadeando processos de defesa das plantas contra pragas ou mesmo incrementando outros caracteres importantes, relativos ao próprio rendimento das culturas (MAIRESSE, 2005).

Os aleloquímicos agem produzindo mudanças nas funções fisiológicas das plantas como respiração, fotossíntese e absorção de íons (RICE, 1979; THOMPSON, 1985). Essas mudanças resultam em alterações visíveis na germinação e na redução do desenvolvimento das plantas. Numerosos compostos alelopáticos produzidos pelas plantas cultivadas, que se mostram inibitórios para diversas plantas daninhas devem agir como eficientes herbicidas naturais (PIRES et al., 2001).

Dezotti et al. (2002) salientam que a alelopatia tem permitido o estudo de produtos naturais com propriedades herbicidas, fungicidas e/ou farmacológicas, podendo proporcionar controle sistemático da poluição na agricultura.

O efeito na germinação das sementes, causados pela ação de aleloquímicos, incluem alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, no funcionamento de

mensageiros secundários, na respiração, na conformação de enzimas e receptores ou ainda na combinação desses fatores (FERREIRA & AQÜILA, 2000).

Uma das possibilidades para o uso da alelopátia entre as plantas é a seleção e manipulação genética das culturas aumentando sua habilidade de suprimir plantas daninhas através da exudação de compostos que tenham ação sobre as plantas vizinhas (IQBAL et al., 2003).

A tentativa de obter plantas cultivadas com maior potencial alelopático para que possam competir com plantas daninhas baseia-se não apenas no resgate desta característica presente em tipos silvestres, mas também na seleção de cultivares que possam mostrar maior ou menor ação alelopática (JACOBI, 1997).

Estudos foram desenvolvidos para identificar genótipos com capacidade superior de produção de compostos alelopáticos (TREZZI, 2002). 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, soja e arroz também identificaram variação do efeito alelopático (LEATHER, 1983). Da mesma forma, testes com genótipos de sorgo indicaram capacidade diferenciada em reduzir a infestação de plantas daninhas (TREZZI, 2002). A capacidade diferencial de genótipos em suprimir o desenvolvimento de plantas daninhas deve-se, em grande parte, às variações na produção dos compostos alelopáticos.

A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) do inglês *CANadian Oil Low Acid*, pertence a família Brassicaceae (SANTOS & REIS, 2001). Esta família também é conhecida como Cruciferae, porque as pétalas das flores se dispõem de forma cruzada (KISSMANN & GROTH, 1995).

A origem da canola está ligada ao cultivo das sementes oleaginosas conhecidas como sementes de colza, das quais atualmente é extraído um óleo comestível com baixo teor de gorduras saturadas. No Japão no século VI, a colza era consumida como verdura, mais tarde no século XIV, o óleo foi usado pelas civilizações antigas. Baier et al. (1989) relatam que o valor como gordura comestível começou no século XVII, quando se desenvolveu no Japão, o hábito de consumir comidas frias com óleo de colza.

A canola foi desenvolvida para ter qualidades nutritivas superiores e menor quantidade de ácido erúico que a colza (*Brassica napus*), visando obter variedades que contenham menos de 2% de ácido erúico no óleo e menos de 3µg de glucosinolatos por grama de matéria seca livre de óleo (SANTOS & REIS, 2001).

Cultivares de *Brassica napus* altamente produtivas e livres de ácido erúico, passaram a estar disponíveis à partir de 1980 (SILVEIRA et al., 1992). No Brasil, se cultiva apenas canola de primavera da espécie *Brassica napus* L var. *oleifera*, e que constitui-se numa alternativa para diversificação e geração de renda no período de inverno, nos sistemas de rotação de culturas das regiões tritícolas do sul do Brasil (TOMM, 2000).

Segundo Tomm (2000), para apresentar boa produtividade e lucratividade a canola requer solos bem drenados, sem compactação,

sem resíduos de determinados herbicidas, livre de doenças, com pH do solo acima de 5,5 e com adubação equilibrada. A semeadura no Rio Grande do Sul é recomendada no período de 25 de abril a 20 de junho. Populações excessivas geram plantas com caules finos e suscetíveis ao acamamento. Geadas na floração geralmente não afetam o rendimento, apesar do aborto de flores (TOMM, 2000).

Muitas espécies da família Brassicaceae, como é o caso da canola, são conhecidas por serem potencialmente alelopáticas pela produção de compostos que lhes conferem esta capacidade (NEVES, 2005). Plantas pertencentes a esta família, têm células com substâncias especiais como a mirosina, que é um fermento protéico capaz de hidrolizar glicosídeos (KISSMANN & GROTH, 1995).

Peters et al. (1982) suspeitando dos possíveis efeitos alelopáticos da colza, elaboraram extratos alcoólicos da parte aérea e subterrânea da mesma e conduziram experimento de germinação utilizando sementes de tomateiro e alface. Os resultados evidenciaram que os extratos inibiram tanto a germinação como o comprimento radicular das plântulas utilizadas como indicadoras.

Plantas do gênero *Brassica*, utilizadas como culturas de cobertura, mostraram ter efeito na redução da densidade de plantas daninhas, assim como na redução da emergência das mesmas (HARAMOTO & GALLANDT, 2005; SILVA, 2005). O mesmo efeito foi observado para o nabo sobre a cultura do trigo (ESLAMI et al., 2006). Em anos relativamente secos e onde a decomposição da palha é lenta, o rendimento, a população final de plantas e a altura de inserção dos primeiros legumes de soja foram prejudicados, após a

cultura da colza, o que evidencia seu potencial alelopático (SANTOS et al., 1992).

De acordo com Eberlein et al. (1998) espécies do gênero *Brassica* sintetizam grande quantidade de glucosinolatos, que são convertidos em uma variedade de potenciais aleloquímicos. Os glucosinolatos têm sido identificados em muitas dicotiledôneas, mas é nas plantas da família Brassicaceae que se apresentam em maior quantidade (MITHEN, 2001). Alguns produtos da decomposição de glucosinolatos contidos nas brássicas, também são referidos como sendo repelentes. Além de gerar produtos com capacidade repelente, a hidrólise dos glucosinolatos gera os isotiocianatos, compostos com propriedades antibióticas (CHOESIN & BOERNER, 1991).

Entre os produtos originados da hidrólise dos glucosinolatos, estão os isotiocianatos, conhecidos por apresentarem atividade sobre insetos, nematóides e plantas daninhas (WILLIAMS et al., 1993; PETERSEN et al., 2001). Isotiocianatos inibiram a germinação e o crescimento de liliopsidas e magnoliopsidas e em baixas concentrações induziram a dormência secundária das sementes, e em altas concentrações impediram a germinação (PETERSEN et al., 2001).

Norsworthy & Meehan (2005) estudaram a atividade herbicida de oito isotiocianatos sobre três espécies de plantas daninhas (*Panicum texanum*, *Digitaria sanguinalis* e *Senna obtusifolia*) e observaram redução na população de até 100 % para *Digitaria sanguinalis*, 72% para *Senna obtusifolia* e 98% para *Panicum texanum*.

Culturas com potencial alelopático podem ser usadas como método alternativo para o controle de plantas daninhas (NEVES, 2005). Primeiramente, faz-se necessário avaliar o potencial alelopático da planta, para posteriormente isolar os compostos e esclarecer seus mecanismos de ação (PIRES & OLIVEIRA, 2001). O estudo dos metabólitos secundários e o conhecimento de seus mecanismos de ação permitem esclarecer o seu comportamento na planta, bem como sua interação com outras moléculas e contribuir para síntese de novos compostos (TREZZI, 2002; MAIRESSE, 2005).

Com o uso da biologia molecular, genes que codificam metabólitos de defesa podem ser transferidos para espécies cultivadas ou mesmo superativados nelas, para aumentar os níveis dos compostos de defesa. Para isso são necessários os ensaios de alelopatia, iniciando pelos de dose de extrato vegetal, passando pelos ensaios específicos de dose-resposta de extrato, para se chegar aos experimentos com compostos fracionados, rumo ao caminho para desvendar as estruturas moleculares das substâncias químicas envolvidas (MAIRESSE, 2005).

CAPÍTULO I

IDENTIFICAÇÃO DE VARIABILIDADE ENTRE GENÓTIPOS DE CANOLA QUANTO AO POTENCIAL ALELOPÁTICO¹

Aline Rizzardi² e Mauro Antônio Rizzardi³

RESUMO – Com o aumento da área de cultivo da canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) observou-se que algumas espécies de plantas estabelecidas em sucessão sofriam inibição do desenvolvimento, o que pode estar relacionado ao possível efeito alelopático desta cultura. O objetivo do experimento foi avaliar o efeito de extratos aquosos de genótipos de canola na germinação e comprimento da radícula de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). Para tal, testaram-se os seguintes genótipos de canola Hyola 420, Hyola 401, Hyola 43, Hyola 60, Hyola 61, Y 3000, H 1432, Dln 03-02, Dln 03-04, Sdh 03-01, Sdh 03-07, Sw-2797 e Sw-Eclipse e as concentrações do extrato aquoso 100%, 75%, 50%, 25% e 0%. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial com dois fatores (genótipos e concentração do extrato) e quatro repetições. O experimento foi conduzido em caixas gerbox que receberam papel de

¹Parte da dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) – UPF.

² Bióloga, mestranda do PPGAgro – UPF.

³ Orientador, Eng. Agr., Dr., Professor da Faculdade de Agronomia da FAMV/UPF.

germinação embebido no extrato, sobre estes foram dispostos aquênios de picão-preto. Sete dias após realizou-se a avaliação do número de aquênios germinados e o comprimento das radículas (mm). Os resultados revelaram que os extratos de canola influenciam negativamente a germinação de aquênios e o comprimento da radícula de picão-preto. Para alguns genótipos, as baixas concentrações de extratos estimulam tanto o crescimento da radícula quanto porcentagem de germinação dos aquênios de picão-preto, e em altas concentrações não ocorrem diferenças entre os genótipos na germinação dos aquênios e no comprimento da radícula de picão-preto. Quando existem diferenças estas se manifestam nas concentrações 25, 50 e 75 % do extrato.

Palavras-chave: alelopatia, picão-preto, *Brassica napus* L. var. *oleifera*

**IDENTIFICATION OF VARIABILITY AMONG CANOLA
GENOTYPES IN RELATION TO THEIR ALELLOPHATIC
POTENTIAL**

ABSTRACT- With the increasing area cultivated to canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) it has been observed that some plant species established in succession have shown inhibited development. It is likely that this fact may be related to allelopathic effects of the previous canola crop. The objective of this experiment was to evaluate the effects of aqueous extract of canola genotypes on achenes germination and radicle length of hairy beggartick (*Bidens pilosa* L.). The tests included the canola genotypes Hyola 420, Hyola 401, Hyola 43, Hyola 60, Hyola 61, Y 3000, H 1432, Dln 03-02, Dln 03-04, Sdh 03-01, Sdh 03-07, Sw-2797, and Sw-Eclipse and concentrations of aqueous extract of 100%, 75%, 50%, 25%, and 0%. It was used a factorial completely randomized experimental design, with two factors (genotypes and extract concentration) and four replications. The experiment was carried out in plastic boxes containing at the bottom blotter paper moist with the aqueous extract, on which the achenes of hairy beggartick were placed. After seven days of incubation the number of germinated achenes and the length of radicles (mm) were assessed. Canola extracts negatively influenced achene germination and radicle length and such effect increased with higher concentrations. At low concentrations, however, some genotypes promoted achene germination and radical growth. Variability among

canola genotypes was observed only at concentrations of 25, 50, and 75 %.

Key-words: allelopathy, hairy beggartick, *Brassica napus* L. var. *oleifera*

1 INTRODUÇÃO

A alelopatia é uma interação química que ocorre entre os vegetais e desempenha papel importante em diversos ecossistemas (MARASCHIN-SILVA & AQUILA, 2005). Esse tipo de interação foi definido por Rice (1984) como qualquer efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico, que uma planta exerce sobre outra pela produção de substâncias químicas liberadas no ambiente.

A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, nematicidas e inseticidas (NORSWORTHY & MEEHAN, 2005). A maioria destas substâncias provém do metabolismo secundário, que na evolução das plantas, representa vantagem contra ação de microrganismos, vírus, insetos e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento e desenvolvimento das plantas (WALLER et al., 1999).

Os resultados de laboratório são o primeiro passo para a identificação do comportamento de plantas associado com aleloquímicos (ELAKOVITCH, 1999; MAIRESSE, 2005). Os bioensaios consistem em monitorar a germinação de sementes e/ou o crescimento de plântulas de espécies vegetais, peculiarmente mais sensíveis, na presença de resíduos da planta em estudo ou através da elaboração de extratos (BLUM, 1999). A inibição ou o estímulo da germinação ou o crescimento de plântulas são evidências da atividade alelopática (MAIRESSE, 2005).

A alelopatia possui potencial no manejo integrado de plantas daninhas, pela capacidade que as plantas têm inclusive as cultivadas, de produzirem aleloquímicos que inibem o crescimento de plantas daninhas (WU et al., 1999).

A produção de herbicidas, a partir dos aleloquímicos e o cultivo de plantas consorciadas ou em sucessão adequadamente escolhidas, parece ser viável (ALMEIDA, 1988). Além disso, é uma alternativa para o manejo integrado de plantas daninhas (BUHLER, 2002).

O manejo de plantas daninhas com o uso da alelopatia dependerá da escolha adequada da cultura a ser utilizada e do somatório dos efeitos alelopáticos individuais dessas culturas (ALMEIDA, 1988). A tentativa de obter plantas cultivadas com maior potencial alelopático para que possam competir com plantas daninhas baseia-se não apenas no resgate desta característica presente em tipos silvestres, mas também na seleção de genótipos que possam mostrar maior ou menor ação alelopática (JACOBI, 1997).

Estudos realizados com plantas pertencentes à família Brassicaceae, a qual pertence a canola, indicam que espécies dessa família produzem altas concentrações de um metabólito secundário denominado glucosinolato, cujo produto de sua hidrólise dá origem a diferentes aleloquímicos (EBERLEIN et al., 1998; OERLEMANS et al., 2006). Os glucosinolatos também são referidos como substância de defesa natural de plantas contra a herbivoria, visto que são tóxicos para a maioria dos animais (JÖNSSON, 2005).

A cultura da canola possui potencial na produção de óleos vegetais e biocombustível (CORDEIRO et al., 1999) e é estudada

quanto ao seu potencial alelopático (NEVES, 2005). Castro et al. (1983) constataram que extratos de *Brassica napus* inibiram a germinação e o crescimento da radícula de alface e tomateiro e relataram também que a canola afeta o desenvolvimento de outras espécies cultivadas.

A incorporação no solo de plantas do gênero *Brassica* como adubação verde reduziu a emergência e biomassa de plantas daninhas e soja além de diminuir o rendimento de grãos da cultura (KRISHNAN, et al., 1998). Neves (2005) observou efeito inibitório de extratos de folhas, raízes e caule de canola na velocidade de emergência e na porcentagem de germinação de picão-preto e soja.

Levando-se em consideração a possível existência de diferenças entre genótipos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) com relação ao potencial alelopático, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito de extratos aquosos de genótipos de canola na germinação e no comprimento da radícula de picão-preto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro de Extensão e Pesquisa Agropecuária (Cepagro) e no Centro de Pesquisa em Alimentação (Cepa), da Universidade de Passo Fundo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial com dois fatores (concentração do extrato e genótipos), com quatro repetições. O fator concentração teve cinco níveis (100%, 75%, 50%, 25% e 0) e o fator genótipos teve treze níveis (Hyola 420, Hyola 401, Hyola 43, Hyola 60, Hyola 61, Y 3000,

H 1432, Dln 03-02, Dln 03-04, Sdh 03-01, Sdh 03-07, Sw-2797 e Sw-Eclipse). O experimento foi conduzido em caixas gerbox, sendo que cada uma correspondeu a uma unidade experimental.

A canola foi cultivada em casa de vegetação, no Cepagro, em canteiros medindo 2 metros de comprimento x 1 metro de largura sendo cultivado um genótipo por canteiro. O solo dos canteiros classifica-se como Latossolo Vermelho Escuro típico. A adubação constou de 12,5 kg de N ha⁻¹, 50 kg P₂O₅ ha⁻¹, 50 kg K₂O ha⁻¹. A irrigação foi feita com sistema de aspersão, acionado conforme a necessidade da cultura. Ao atingir o estágio de florescimento, as plantas foram colhidas e levadas ao laboratório.

No laboratório de micotoxinas, a canola passou por processo de lavagem e assepsia, após foi cortada em pedaços de aproximadamente 0,5 cm e congelada a temperatura de aproximadamente - 30 °C por 15 horas, processo esse necessário para a liofilização. Depois de congelada, era levada ao liofilizador, onde permanecia aproximadamente 12 horas até a desnaturação do vegetal. O material proveniente da liofilização era moído e depois acondicionado em recipientes de vidro e guardado em congelador até o preparo do extrato. Para todo o processo utilizou-se a planta inteira inclusive as raízes.

Da canola liofilizada e moída, foi produzido o extrato que consistiu em água (Milli-Q[®] e esterilizada) e canola na proporção de 8 g de material seco/100 mL de solvente. Esta solução foi mantida a temperatura de 25 °C, em agitador mecânico, durante 24h. Após este período, a solução foi centrifugada na rotação de 3.000 rpm durante cinco minutos, coletando-se em seguida o líquido sobrenadante. A

solução resultante obtida (extrato 100%) foi utilizada no preparo das diluições. As concentrações utilizadas foram: 100%, 75%, 50% e 25%, empregando-se água (Milli-Q[®] e esterilizada) como testemunha (0%).

Com a finalidade de verificar os efeitos dos extratos de canola sobre a germinação de picão-preto e comprimento da radícula do mesmo, papéis de germinação “*germitest*” foram embebidos com 8 mL do extrato e colocados em caixa do tipo gerbox, para posteriormente receber 30 aquênios de picão-preto.

Os aquênios de picão-preto foram coletados no Cepagro, em área de cultivo de soja, no ano de 2005, foram classificados e acondicionados em sacos de papel. Para a realização do experimento passaram por processo de assepsia com hipoclorito de sódio (50%) e água destilada (50%), ficando imersos nesta solução por 5 minutos, por último procedia-se o enxágüe com água destilada.

A semeadura foi realizada em câmara de fluxo de ar com o auxílio de uma pinça. As caixas semeadas foram identificadas e colocadas em câmara de germinação, permanecendo no local, na temperatura de 22,5 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro durante 7 dias, quando efetuou-se a contagem do número de plântulas germinadas. Foram consideradas plântulas normais as que desenvolveram estruturas essenciais da parte aérea e radicular e, plântulas anormais, as que não germinaram ou tiveram estruturas defeituosas. Também aos sete dias, avaliou-se o comprimento das radículas emitidas utilizando-se um paquímetro digital.

Os dados coletados no experimento foram submetidos à análise de variância através do teste F e as médias foram comparadas

pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Quando houve significância das concentrações e de sua interação com os genótipos procedeu-se a análise de regressão, com uso de modelos polinomiais. Realizou-se ainda a análise dos coeficientes β das equações de regressão linear através da comparação pelo teste T, para avaliar a existência de diferenças entre os genótipos quanto ao efeito inibitório para as duas variáveis analisadas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância para a variável germinação de aquênios de picão-preto indicaram a existência de interação de concentração do extrato e genótipo (Apêndice A).

A porcentagem de germinação dos aquênios de picão-preto diminuiu linearmente, para todos os genótipos, à medida que se aumentou a concentração do extrato (Figura 1 e Tabela 1). A atividade biológica dos extratos vegetais depende tanto da concentração do aleloquímico como do limite da resposta da espécie afetada (KATONAGUCHI et al., 1994; REIGOSA et al., 1999; ABRAHIM et al., 2000). No presente trabalho, esses pontos foram marcantes quando se observa a relação negativa entre a concentração e a inibição da germinação dos aquênios.

Na média dos 13 genótipos avaliados, o aumento da concentração do extrato de 0 para 100% reduziu a germinação em 80%, o que mostra a existência de efeito supressor do extrato de canola, sobre a germinação de aquênios de picão-preto (Figura 1). Resultados semelhantes foram observados por Neves (2005), em que o

aumento da concentração do extrato reduziu a germinação de plantas daninhas e a emergência da soja.

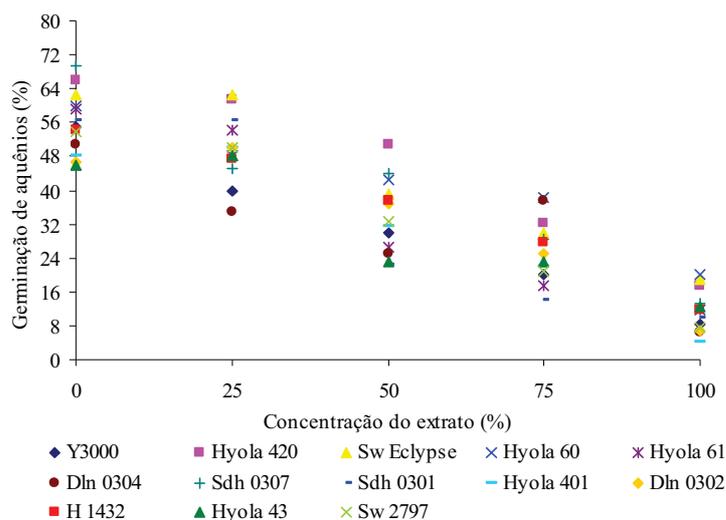


Figura 1- Efeito da concentração do extrato de genótipos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) sobre a porcentagem de germinação de aquênios de picão-preto. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

Ao se analisar individualmente os genótipos avaliados, o aumento na concentração do extrato de zero para 100% diminuiu a germinação de picão-preto na seguinte ordem: Hyola 401 (91,5%) > Dln 0304 (87%) > Dln 0302 (86%) > Y 3000 (85%) > Sw 2797 (85%) > Sdh 0301 (82,5%) > Sdh 0307 (81%) > Hyola 61 (80%) > H 1432 (78,6%) > Hyola 420 (73,5%) > Hyola 43 (73%) > Sw Eclypse (70%) > Hyola 60 (67%).

Essas variações no percentual de germinação podem indicar diferenças quanto à intensidade do efeito dos extratos entre os genótipos testados. Para avaliar estatisticamente essas diferenças

utilizou-se o Teste t aplicado ao coeficiente β das equações de regressão.

Os resultados do Teste t mostraram a inexistência de diferenças no coeficiente β das equações lineares dos treze genótipos avaliados (Tabela 1) indicando que os genótipos foram similares na habilidade de suprimir a germinação de picão-preto, à medida que se aumentou a concentração do extrato de 0 para 100%.

Tabela 1- Equações da regressão, e significância do Teste t entre os genótipos de canola, na avaliação da germinação de aquênios de picão-preto. UPF, Passo Fundo, RS, 2006

Genótipos	Equação de regressão	r^2	P	Teste t ¹
Y 3000	$y = 97,2 - 82,8x$	0,99	0,0001	ns
Hyola 420	$y = 107,0 - 76,4x$	0,95	0,0001	ns
Sw - Eclypse	$y = 106,4 - 76,8x$	0,93	0,0001	ns
Hyola 60	$y = 99,6 - 60,4x$	0,94	0,0001	ns
Hyola 61	$y = 101,6 - 88,8x$	0,92	0,0001	ns
Dln 0304	$y = 99,6 - 77,6x$	0,90	0,0001	ns
Sdh 0307	$y = 95,0 - 74,8x$	0,94	0,0001	ns
Sdh 0301	$y = 105,4 - 95,6x$	0,89	0,0001	ns
Hyola 401	$y = 112,8 - 96,4x$	0,91	0,0001	ns
Dln 0302	$y = 116,2 - 90,4x$	0,87	0,0001	ns
H 1432	$y = 104,8 - 78x$	0,97	0,0001	ns
Hyola 43	$y = 106,4 - 79,6x$	0,86	0,0001	ns
Sw - 2797	$y = 106,8 - 91,2x$	0,97	0,0001	ns

¹ Teste t, aplicado aos coeficientes β das equações de regressão na comparação dos genótipos de canola.

ns: não significativo a 5% de probabilidade de erro.

Na avaliação da porcentagem de germinação em cada concentração, a proximidade dos pontos indica pouca variação entre os genótipos (Figura 1). Quanto mais distantes estiverem os pontos, maiores são as variações entre os genótipos quanto à redução da porcentagem de germinação causada pelos extratos. Observa-se na concentração 25% que os pontos estão mais afastados que na concentração 100%, indicando que nas menores concentrações existem maiores diferenças entre os genótipos quanto à inibição da germinação (Figura 1 e Tabela 2).

De maneira geral houve pouca variação na porcentagem de germinação de aquênios de picão-preto na testemunha sem extrato (Tabela 2). Nesse tratamento, a germinação média foi de 56% com intervalo que variou de 45,8 a 69,2%, respectivamente para os genótipos Hyola 43 e Sdh 0307.

Na concentração de 25%, o genótipo Dln 0304 foi o que mais reduziu a germinação de picão-preto embora diferindo estatisticamente só dos genótipos Hyola 420 e Sw - Eclipse. Na concentração 50%, os genótipos Sdh 0301, Hyola 43, Dln 0304 e Hyola 61 foram os que mais reduziram a germinação de picão-preto. Já, na concentração de 75%, somente o genótipo Sdh 0301 apresentou redução mais intensa na germinação de picão-preto.

Na concentração 100% não foram observadas diferenças entre os treze genótipos ficando os pontos, que representam os genótipos, muito próximos (Figura 1 e Tabela 2). A maior redução na germinação dos aquênios de picão-preto ocorreu nesta concentração e foi de 79,6% na média de todos os genótipos.

Tabela 2- Porcentagem de germinação de aquênios de picão-preto submetidos a concentrações de extratos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). UPF, Passo Fundo, RS, 2006

Genótipos	Concentração do extrato				
	0%	25%	50%	75%	100%
Y 3000	55,0 ab ¹	40,0 bc ¹	30,0 ab ¹	20,8 ab ¹	8,3 ns
Hyola 420	65,8 ab	61,6 ab	50,8 a	32,4 ab	17,5
Sw - Eclypse	62,5 ab	62,5 a	39,1 ab	30,0 ab	19,1
Hyola 60	60,0 ab	48,3 abc	42,5 ab	38,3 a	20,0
Hyola 61	59,1 ab	54,1 abc	26,6 b	17,5 ab	11,6
Dln 0304	50,8 ab	35,0 c	25,0 b	37,5 a	6,6
Sdh 0307	69,2 a	45,0 abc	44,1 ab	28,3 ab	13,3
Sdh 0301	56,6 ab	56,6 abc	22,5 b	14,1 b	10
Hyola 401	48,3 ab	50,0 abc	31,6 ab	22,5 ab	4,1
Dln 0302	46,6 b	50,8 abc	36,6 ab	25,0 ab	6,7
H 1432	54,2 ab	47,5 abc	37,5 ab	27,5 ab	11,6
Hyola 43	45,8 b	48,3 abc	23,3 b	23,3 ab	12,4
Sw – 2797	54,2 ab	50,8 abc	32,5 ab	20,8 ab	7,5
Média	35,5				
C.V. (%)	26,1				

ns= não significativo

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Estes resultados mostram que em baixas concentrações do extrato os genótipos se comportam de maneira diferente, alguns até mesmo estimulando a germinação. Já, em altas concentrações, inibem com a mesma intensidade a germinação. Resultados de trabalhos com

canola indicam redução média na germinação de picão-preto de 65% em relação a testemunha (NEVES, 2005). Estes efeitos estão provavelmente associados a presença de metabólitos secundários existentes no extrato de canola. A família brassicaceae caracteriza-se por produzir glucosinolatos (OERLEMANS et al., 2006) que quando decompostos transformam-se em isotiocianatos e tiocianatos (EBERLEIN et al., 1998). Estas substâncias podem, em baixas concentrações, atrasar a germinação e, em altas concentrações, penetrar nas sementes tornando-as inviáveis (PETERSEN et al., 2001). Os resultados da análise do comprimento da radícula mostraram-se muito semelhantes a variável porcentagem de germinação de aquênios. A análise de variância indicou a existência de interação de concentração do extrato e genótipos (Apêndice B).

O comprimento da radícula diminuiu linearmente para todos os genótipos, na medida em que se aumentou a concentração do extrato (Figura 2 e Tabela 3). O aumento da concentração de 0 para 100% reduziu 78,6% o comprimento da radícula.

Na análise individual dos genótipos avaliados, o aumento da concentração do extrato de zero para 100% diminuiu o comprimento da radícula de picão-preto na seguinte ordem decrescente: Dln 0304 (90%) > Dln 0302 (87,5%) > Hyola 61 (83,4%) > Sw - 2797 (82%) > Y 3000 (81%) > Sdh 0307 (81,3%) > Sw - Eclipse (79%) > Sdh 0301 (76%) > H 1432 (76,5%) > Hyola 43 (75%) > Hyola 60 (73%) > Hyola 401 (69%) > Hyola 420 (60%).

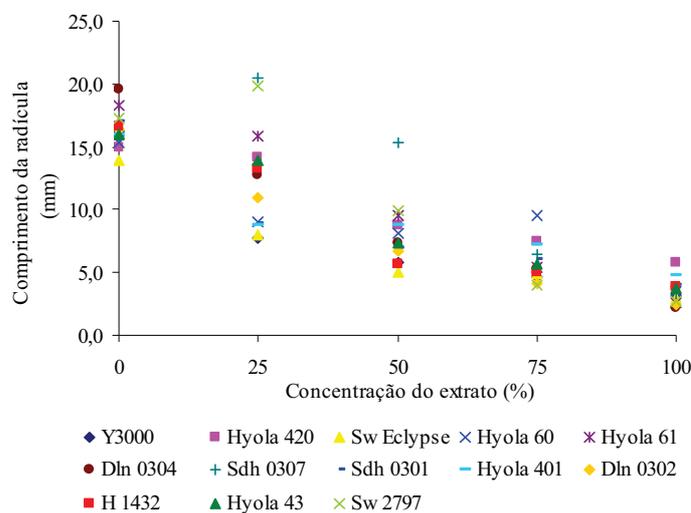


Figura 2- Efeito da concentração do extrato de treze genótipos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) sobre o comprimento da radícula (mm) de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

Essas variações na redução do comprimento da radícula indicam haver diferenças quanto à intensidade do efeito dos extratos entre os genótipos testados. Para avaliar estatisticamente essas diferenças utilizou-se o Teste t aplicado ao coeficiente β das equações de regressão.

Os resultados do Teste t mostraram a inexistência de diferença no coeficiente β das equações lineares dos treze genótipos avaliados (Tabela 3). Esses resultados indicam que os genótipos foram similares na habilidade de reduzir a expansão das radículas.

Ao se comparar as médias dos treze genótipos na concentração 25% observam-se variações entre eles (Tabela 4). Esse efeito também é visualizado pelo afastamento dos pontos na Figura 2.

Os genótipos Y 3000 e Sw - Eclipse foram os que mais reduziram o comprimento da radícula. Para essa variável, os genótipos Sw - 2797 e Sdh 0307 estimularam o crescimento. Estes resultados de estímulo de germinação ou comprimento da radícula provavelmente devem-se a presença de alguns aleloquímicos com ação estimulatória, tal fato pode ser caracterizado como efeito alelopático (CARVALHO et al., 2002).

Na concentração de 25%, na média dos genótipos, o comprimento da radícula diminuiu 23,1% quando comparado com a testemunha. Entre os genótipos a ordem de redução foi: Y 3000 (50%) > Sdh 0301 (47,1 %) > Hyola 401 (44%) > Sw - Eclipse (43%) > Hyola 60 (40%) > Dln 0304 (35%) > Dln 0302 (31 %) > H 1432 (23,6%) > Hyola 43 (12,5%) > Hyola 61 (12%) > Hyola 420 (6,7%) > Sw - 2797 (+17%) > Sdh 0307 (+ 25 %).

Nas concentrações de 50 e 75%, os genótipos se comportaram de maneira similar (Tabela 4). Na concentração de 50%, o genótipo Sdh 0307 foi o que menos influenciou no comprimento da radícula; já para os demais genótipos os efeitos foram similares. Na concentração de 75% o genótipo com menor influência no comprimento da radícula foi o Hyola 60.

Na concentração 100% não foram constatadas diferenças entre os genótipos. Nessa concentração os pontos da Figura 2 se aproximaram e a redução média no comprimento da radícula foi de 78,7% em relação a testemunha.

Tabela 3- Equações da regressão, e significância do Teste t entre os genótipos de canola, na avaliação do comprimento da radícula de picão-preto. UPF, Passo Fundo, RS, 2006

Genótipos	Equação de regressão	r ²	P	Teste t ¹
Y 3000	y = 13,35 – 0,11x	0,80	0,0001	ns
Hyola 420	y = 15,28 – 10,1x	0,92	0,0001	ns
Sw - Eclipse	y = 12,00 – 0,10x	0,85	0,0001	ns
Hyola 60	y = 13,72 – 9,18x	0,73	0,0001	ns
Hyola 61	y = 18,71 – 0,16x	0,98	0,0001	ns
Dln 0304	y = 17,88 – 0,16x	0,94	0,0001	ns
Sdh 0307	y = 20,12 – 0,15x	0,75	0,0001	ns
Sdh 0301	y = 14,35 – 0,11x	0,82	0,0001	ns
Hyola 401	y = 13,92 – 0,09x	0,82	0,0001	ns
Dln 0302	y = 15,08 – 0,13x	0,95	0,0001	ns
H 1432	y = 15,60 – 0,13x	0,87	0,0001	ns
Hyola 43	y = 15,84 – 0,13x	0,93	0,0001	ns
Sw - 2797	y = 19,71 – 0,17x	0,85	0,0001	ns

¹ Teste t, aplicado aos coeficientes β das equações de regressão na comparação dos genótipos de canola.

ns: não significativo a 5% de probabilidade de erro.

De acordo com Souza Filho et al. (1997) a interferência no desenvolvimento da radícula é um dos melhores indicadores para o estudo de extratos com potencial alelopático.

Tabela 4- Comprimento da radícula de plântulas de picão-preto submetidos a diferentes concentrações de extratos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). UPF, Passo Fundo, RS, 2006

Genótipos	Concentração do extrato				
	0%	25%	50%	75%	100%
Y 3000	16,1 ns	7,7 d ¹	5,7 b ¹	4,5 ab ¹	3,1 ns
Hyola 420	14,9	14,7 bc	8,6 b	7,5 ab	5,7
Sw - Eclypse	13,9	7,9 d	5,0 b	4,9 ab	2,9
Hyola 60	15,3	9,0 cd	8,1 b	9,6 a	3,5
Hyola 61	18,3	15,8 ab	9,5 b	5,3 ab	2,6
Dln 0304	19,5	12,8 bcd	7,3 b	5,2 ab	2,2
Sdh 0307	15,8	20,4 a	15,3 a	6,3 ab	3,3
Sdh 0301	16,9	8,8 cd	6,9 b	6,0 ab	4,0
Hyola 401	15,9	8,7 cd	8,7 b	7,1 ab	4,8
Dln 0302	16,3	10,9 bcd	6,7 b	4,1 ab	2,4
H 1432	16,5	13,2 bcd	5,6 b	4,9 ab	3,8
Hyola 43	15,9	13,8 bc	7,3 b	5,6 ab	3,7
Sw - 2797	18,3	19,8 a	9,9 ab	3,9 b	2,6
Média	9,25				
C.V. (%)	25,5				

ns= não significativo

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Para as duas variáveis analisadas observou-se que os maiores efeitos inibitórios ocorreram em altas concentrações de extrato de canola. Resultados semelhantes foram obtidos por Pires et al. (2001) no estudo da atividade alelopática da leucena sobre plantas

daninhas. Os autores concluíram que os maiores efeitos fitotóxicos desta espécie sobre picão-preto e caruru se dá nas concentrações mais elevadas do extrato. Tanto para germinação de aquênios como comprimento da radícula houve resposta linear em função do aumento da concentração. Trabalhos como os de Souza Filho et al. (2005) e Neves (2005) mostram respostas similares.

Apesar de não serem constatadas diferenças entre os genótipos na intensidade de redução (Tabela 1 e Tabela 3), observou-se que as concentrações dos extratos de canola exercem efeito inibitório diferenciado entre os genótipos, tanto na germinação dos aquênios (Tabela 2), quanto no comprimento da radícula do picão-preto (Tabela 4). Estas diferenças se expressam, principalmente, em baixas concentrações do extrato.

Uma das explicações para o observado deve-se ao efeito alelopático que as plantas da família das brássicas exercem. Entre os metabólitos secundários existentes nestas plantas estão os glucosinolatos (TROYER et al., 2001; NORSWORTHY, 2003). A hidrólise dos glucosinolatos gera produtos voláteis, entre eles os isotiocianatos, que possuem acentuado efeito alelopático sobre uma série de espécies vegetais (BROWN et al., 1991). Sendo que, uma das principais características desse composto é sua atividade herbicida (NORSWORTHY & MEEHAN, 2005).

4 CONCLUSÕES

Os extratos de canola influenciam negativamente a germinação de aquênios e o comprimento da radícula de picão-preto.

Para alguns genótipos, as baixas concentrações de extratos estimulam tanto o crescimento da radícula quanto porcentagem de germinação dos aquênios de picão-preto.

Em altas concentrações do extrato o efeito inibitório na germinação dos aquênios e no comprimento da radícula é maior e não ocorrem diferenças entre os genótipos.

Quando existem diferenças na capacidade de inibir a germinação e o comprimento da radícula, estas se manifestam nas concentrações 25, 50 e 75 % do extrato.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DOS PERFIS CROMATOGRÁFICOS DE GENÓTIPOS DE CANOLA¹

Aline Rizzardi² e Mauro Antônio Rizzardi³

RESUMO - Técnicas cromatográficas têm sido muito utilizadas para a identificação de compostos em plantas. Assim objetivou-se com este trabalho identificar os perfis cromatográficos de genótipos de canola, para a observação de possíveis diferenças quanto a presença de compostos nesses genótipos. Os seguintes genótipos de canola foram cultivados em casa de vegetação: Hyola 420, Hyola 401, Hyola 43, Hyola 60, Hyola 61, Y 3000, H 1432, Dln 03-02, Dln 03-04, Sdh 03-01, Sdh 03-07, Sw-2797 e Sw-Eclipse. No estágio de floração, as plantas foram coletadas e levadas ao laboratório onde sofreram processo de trituração e liofilização. O material proveniente da liofilização foi utilizado para o preparo dos extratos. No preparo dos extratos utilizou-se o método da água em ebulição. Os extratos preparados foram analisados por um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de ultravioleta (HPLC-UV) e por um cromatógrafo líquido acoplado a espectrômetro de massa (LC-MS). Os resultados indicaram que os perfis cromatográficos obtidos através

¹ Parte da dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) – UPF.

² Bióloga, mestranda do PPGAgro – UPF.

³ Orientador, Eng. Agr., Dr., Professor da Faculdade de Agronomia da FAMV/UPF

do HPLC-UV, e por LC-MS, bem como os espectros de massas dos picos principais dos extratos dos treze genótipos de canola apresentaram o mesmo perfil. O método mais eficaz de preparo do extrato para a obtenção dos perfis cromatográficos da canola foi o que utilizou água como solvente. Os genótipos de canola apresentam o mesmo perfil cromatográfico. Os cromatogramas apresentam compostos majoritários em *Brassica napus* L. var. *oleifera*, com a presença de 12 picos de componentes constituintes dos genótipos estudados.

Palavras –chave: cromatografia, HPLC, compostos

CHARACTERIZATION OF CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF CANOLA GENOTYPES

ABSTRACT - Chromatographic techniques have been used for identification of chemicals in plants. Such techniques were used in this research to identify chromatographic profiles of canola genotypes regarding possible differences in their chemical composition. The following genotypes, cultivated in the greenhouse, were analyzed: Hyola 420, Hyola 401, Hyola 43, Hyola 60, Hyola 61, Y 3000, H 1432, Dln 03-02, Dln 03-04, Sdh 03-01, Sdh 03-07, Sw-2797, and Sw-Eclipse. At the flowering stage the plants were collected, grounded, lyophilized, and used to obtain plant extracts in boiling water. The extracts were then analyzed by a liquid chromatograph of high efficiency with ultraviolet detector (HPLC-UV) and by a liquid chromatograph connected to a mass spectrometer (LC-MS). The chromatographic profiles obtained through HPLC-UV and LC-MS, as well as the spectra of masses for the main peaks of extracts from the thirteen genotypes of canola were similar. The best method for extract preparation was that using water as solvent. The genotypes of canola presented the same chromatographic profile. The chromatograms showed major compounds in *Brassica napus* L. var. *oleifera*, with 12 peaks of constituent components on the studied genotypes.

Key-works: Chromatography, HPLC, plant compounds

1 INTRODUÇÃO

A Canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) é uma planta pertencente a família Brassicaceae, que se originou da seleção da colza (SIMMONDS, 1979; YOUNTS, 1990). Plantas desta família caracterizam-se pela produção de glucosinolatos (ROSA, 1997; OERLEMANS et al., 2006). Mais de 120 diferentes glucosinolatos já foram identificados (OERLEMANS et al., 2006). O produto da hidrólise dos glucosinolatos são repelentes para insetos ou herbívoros (FONT et al., 2004) além de possuírem propriedade herbicida.

A hidrólise dos glucosinolatos é realizada pela enzima mirosinase (FENWICK & HEANEY, 1983). Estudos localizaram esta enzima no citoplasma das células das plantas, sendo que o dano no tecido da planta causa liberação de substâncias voláteis de defesa a partir dos glucosinolatos (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os produtos da hidrólise dos glucosinolatos incluem: isotiocianatos, nitrilas, tiocinatos entre outros (MITHEN et al., 2000).

Estudos realizados mostraram que os isotiocianatos têm sido eficientes no controle de nematóides, insetos e fungos (WILLIAMS et al., 1993; NORSWORTHY & MEEHAN, 2005). Outra notável característica dos isotiocinatos é sua atividade herbicida, já sendo constatada a inibição da germinação de trigo e de plantas daninhas, sendo este produto obtido da maceração de mostarda preta (*Brassica nigra*) (PETERSEN et al., 2001; NORSWORTHY, 2003).

Para a identificação de compostos presentes nestas plantas, técnicas de cromatografia são estudadas e usadas através da

comparação com padrões (BURTIS & ASHWOOD, 1998; DEGANI et al., 1998).

A informação obtida em um ensaio cromatográfico é dada em um cromatograma, isto é, um registro gráfico que é relacionado à concentração dos componentes presentes na amostra. Cromatogramas de amostra muito complexas são avaliados com relação ao perfil cromatográfico de cada amostra (MARTINS, 2002).

A grande vantagem da cromatografia está no tempo relativamente curto destas separações que através de fenômenos de adsorção ou partição que tem lugar entre duas fases, uma móvel e outra estacionária, conduzem à separação total ou parcial dos componentes de uma mistura (RIBANI, 2004).

A moderna cromatografia líquida (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*.) utiliza alta pressão para forçar a passagem do solvente pelas colunas contendo partículas muito finas que proporcionam separações mais eficientes. O sistema consiste em uma bomba que faz a distribuição do solvente, uma válvula para injeção da amostra, uma coluna de alta pressão, um detector e um computador para monitorar o sistema e apresentar os resultados (HARRIS, 2005).

A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido um método muito usado para a separação de glucosinolatos especialmente porque este sistema não promove a decomposição do composto (HELBOE, 1980; PRESTERA et al., 1996).

A elaboração dos extratos é um processo importante para a identificação dos compostos em estudo. Alguns trabalhos foram desenvolvidos com plantas da família Brassicaceae para determinar a

presença de glucosinolatos (PRESTERA et al., 1996; RANGKADILOK et al., 2002).

Prester et al. (1996) estudaram métodos de separação de glucosinolatos, utilizando como matéria prima *Brassica oleracea* var. *italica* (brócolis), no preparo do extrato para posterior análise cromatográfica, usaram uma proporção de 47 mg de matéria seca por mL de água. A solução foi mantida a 100 °C por 3 min, agitada e novamente aquecida. A solução passou por processo de homogeneização e depois centrifugação por 15 minutos. O extrato obtido foi filtrado em filtros de 0,22 µm e armazenado a -80 °C para uso posterior.

Extratos de sementes e de plântulas foram elaborados por Rangkadilok et al. (2002) para a determinação de dois glucosinolatos em várias espécies de brássicas através da análise em HPLC. A metodologia para a obtenção dos extratos das sementes assemelhou-se a utilizada por Prester et al. (1996) assim descrita: em 6 mL de água em ebulição foram adicionadas aproximadamente 0,2 a 0,4 g de sementes, os frascos contendo este material, foram mantidos em ebulição por 3 min, após foram macerados e agitados por 10 min. A suspensão foi centrifugada por 5 min e filtrada em papel filtro (Whatman nº 1) o extrato foi reservado em balão volumétrico e o volume ajustado com água destilada. Os autores seguiram o mesmo procedimento para a obtenção do extrato das plântulas.

Troyer et al. (2001) em análise por cromatografia líquida, utilizaram sementes de brócolis numa proporção de 1 parte de semente para 10 partes de solvente, o solvente utilizado na mesma proporção foi dimetilsulfoxido, dimetilformamida e acetonitrila, mantidos a – 50

°C em banho de etanol gelado. A solução foi homogeneizada e centrifugada, o solvente orgânico foi evaporado e re-suspendido com a mesma solução usada na fase móvel.

O trabalho teve por objetivo identificar os perfis cromatográficos dos treze genótipos de canola, para a observação de possíveis diferenças quanto à presença de compostos nesses genótipos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação no Centro de Pesquisas Agropecuárias (Cepagro) e no Laboratório de Cromatografia localizado no Centro de Pesquisa em Alimentos (Cepa) da Universidade de Passo Fundo.

O trabalho constou na caracterização do perfil cromatográfico dos seguintes genótipos de canola: Hyola 420, Hyola 401, Hyola 43, Hyola 60, Hyola 61, Y 3000, H 1432, Dln 03-02, Dln 03-04, Sdh 03-01, Sdh 03-07, Sw-2797 e Sw-Eclipse.

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação no Cepagro. No estágio de florescimento as plantas foram coletadas e levadas ao Laboratório de Cromatografia.

As plantas inteiras de canola foram trituradas em um multiprocessador e posteriormente liofilizadas. No processo de liofilização as amostras foram congeladas a uma temperatura de aproximadamente - 30 °C por 15 horas. As amostras congeladas foram mantidas no liofilizador por 12 horas até secagem completa. O

material proveniente da liofilização foi acondicionado em recipientes de vidro e guardados em congelador até a preparação dos extratos.

Foram testados dois métodos de extração dos compostos da matriz. Utilizou-se extração em meio aquoso com água em ebulição e com metanol:água Milli-Q[®] 70% (v/v) a 70 °C.

A extração com água em ebulição foi de acordo com Rangkadilok et al. (2002). Utilizou-se 0,1 grama de amostra adicionada a 3 mL de água Milli-Q[®], mantida em ebulição por 3 min em chapa aquecedora. O extrato foi retirado do aquecimento e agitado manualmente com bastão de vidro por 2 minutos, reservou-se e retirou-se o sobrenadante. A amostra foi novamente extraída três vezes sendo que no final os extratos obtidos foram combinados e centrifugados na velocidade de 3000 rotações por minuto durante 15 minutos. Antes de serem injetados no cromatógrafo, os extratos foram filtrados com filtros de 0,22 µm de porosidade.

A extração com metanol foi baseada no trabalho de Bennet et al. (2002). Foram pesadas 0,1 g de amostra e extraídas com metanol:água (70:30) por 5 min a 70 °C. Após chegar a temperatura ambiente e decantar as partículas sólidas, foi retirado o sobrenadante. A amostra foi re-extraída três vezes e os extratos combinados e centrifugados na velocidade de 3000 rotações por minuto durante 15 minutos. Antes de serem injetados no cromatógrafo, os extratos foram filtrados com filtros de 0,22 µm de porosidade.

Os extratos preparados foram analisados por um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de ultravioleta (HPLC-UV) marca Perkin Elmer, série 200 pumps do Laboratório de cromatografia do Cepa.

As condições analíticas estudadas foram de acordo com Oerlemans et al. (2006). O equipamento foi ajustado nas seguintes condições: coluna de fase reversa C18 ($5\ \mu\text{m} \times 25\ \text{cm} \times 0,25\ \text{mm}$), comprimento de onda do detector de 229 nm. A fase móvel utilizada na eluição foi A (água) e B (acetonitrila/água – 20:80), com gradiente de: 100% A e 0% B por 1 minuto, em 20 min, linear com condição final de 0% A e 100% B, em 5 minutos retorna a proporção 100% a e 0 %B. O tempo total da análise cromatográfica foi de 31 minutos. A vazão da fase móvel de $1\ \text{mL min}^{-1}$. O volume de amostra injetado foi de $10\ \mu\text{L}$ de extrato.

Os extratos preparados foram enviados ao Laboratório de Micotoxinas da Universidade Federal de Santa Maria onde foram analisados por cromatógrafo líquido acoplado a espectrômetro de massa (LC-MS, do inglês, liquid chromatography-mass spectrometry), marca Agilent.

O equipamento utilizado para realização das análises foi um espectrômetro de massas com quadrupolo simples, detector de arranjo de diodos, bomba quaternária, auto-amostrador, degaseificador da fase móvel, forno de aquecimento da coluna, marca Agilent série 1100. O software para aquisição e tratamento dos dados foi o Chemstation A.10.02

As condições analíticas para a separação por cromatógrafo a líquido foram: coluna de fase reversa C-18, eclipse XDB (Agilent) ($5\ \mu\text{m} \times 4.6\ \text{mm} \times 150\ \text{mm}$); volume de injeção de $5\ \mu\text{L}$; temperatura da coluna de 40°C .

As condições do espectrômetro de massas foram: electrospray (API-ES); drying gas $13\ \text{L min}^{-1}$; pressão do nebulizador

de 60 psi; temperatura do drying gas de 350 graus; voltagem do capilar de 3000 V.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método seguido por Bennet et al. (2002) que consistiu no preparo dos extratos, utilizando como solvente o metanol, não apresentou extração de compostos químicos provavelmente por ter mudado a polaridade do meio. A metodologia de preparo de extrato segundo Rangkadilok et al. (2002), que utilizou água em ebulição como solvente, foi a utilizada para realização das extrações dos treze genótipos de canola, já que esta extraiu adequadamente os compostos químicos (Figura 1).

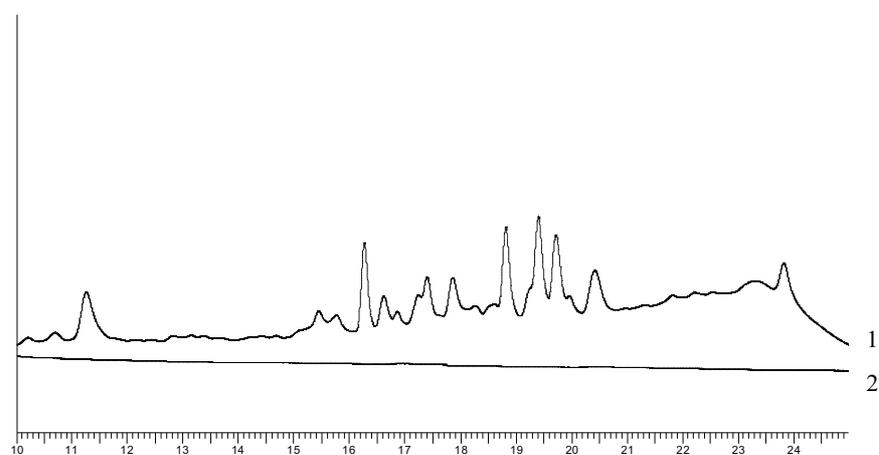


Figura 1- Perfis cromatográficos obtidos a partir de extratos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). 1-perfil obtido a partir da extração segundo Rangkadilok et al. (2002). 2- perfil obtido a partir da extração segundo Bennet et al. (2002). UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

As condições analíticas utilizadas como parâmetros do HPLC-UV que apresentaram melhores resultados foram de acordo com Oerlemans et al. (2006).

Os perfis cromatográficos obtidos através do HPLC-UV, do LC-MS, bem como os espectros de massas dos picos principais dos extratos dos treze genótipos de canola foram iguais (Figura 2).

Prester et al. (1996) avaliou extratos de *Brassica oleracea* var. *italica* por cromatografia através de HPLC-UV e verificou a presença de catorze glucosinolatos nos extratos desta planta. Os extratos analisados neste estudo tiveram, para os doze compostos majoritários, os cromatogramas obtidos por HPLC-UV (Figura 3).

O perfil cromatográfico obtido foi semelhante ao obtido por Rangkadilok et al. (2002), na determinação dos componentes de *Brassica* sp. por análise através de HPLC/UV.

Os cromatogramas obtidos por LC-MS apresentaram perfil idêntico para os treze genótipos estudados. A Figura 4 apresenta o perfil cromatográfico de um dos extratos preparados, já que todos apresentaram o mesmo perfil.

Os cromatogramas obtidos por LC-MS apresentam 12 picos majoritários de componentes constituintes dos genótipos estudados (Figura 4).

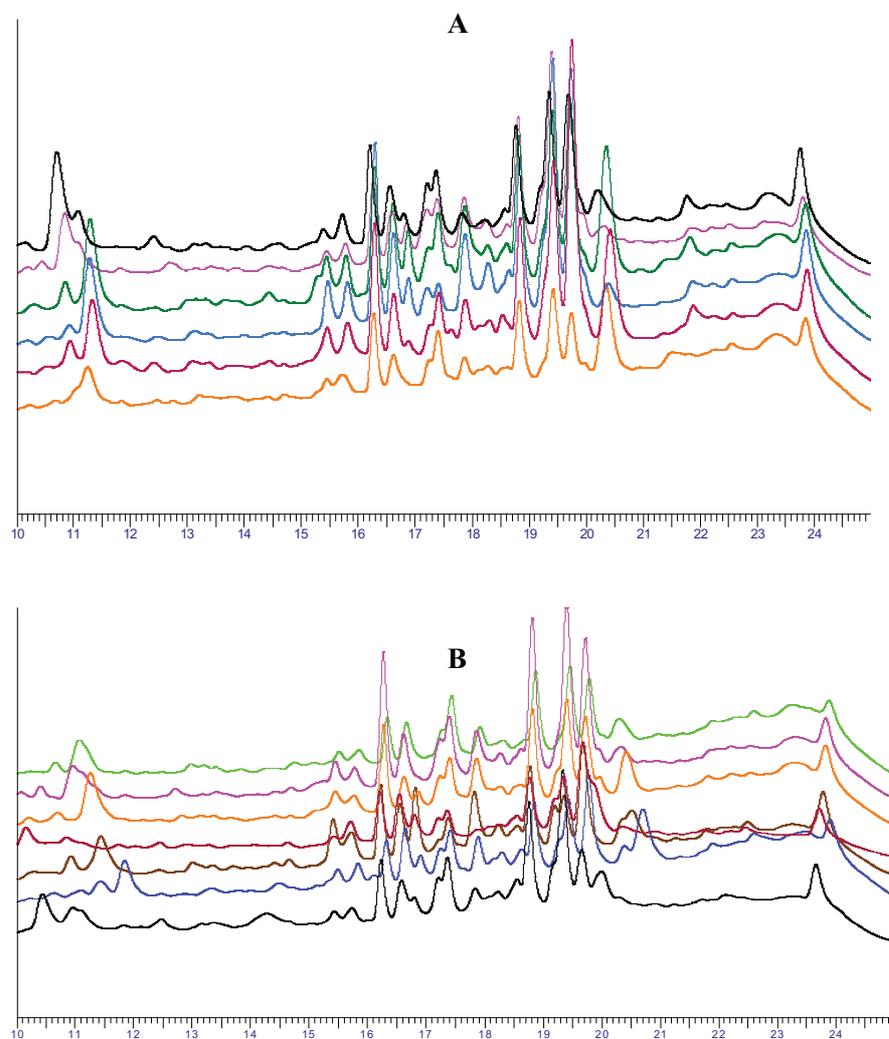


Figura 2- Perfis cromatográficos obtidos a partir de extratos de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). As cores correspondem aos seguintes genótipos: **A:** laranja - Sdh 0301, vermelho - Dnl 0302, preto - Sw - Eclipse, azul - Hyola 401, rosa - Hyola 61, verde - H1432. **B:** verde - Sw 2797, rosa - Sdh 0307, laranjado - Dln 0304, vermelho - Y 3000, marrom - Hyola 60, azul - Hyola 43, preto - Hyola 420. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

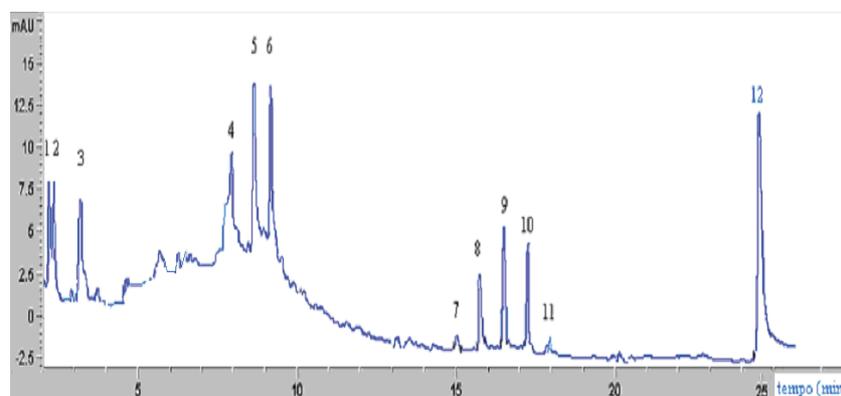


Figura 3 - Cromatograma obtido por HPLC-UV apresentando o perfil cromatográfico dos extratos dos genótipos de canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

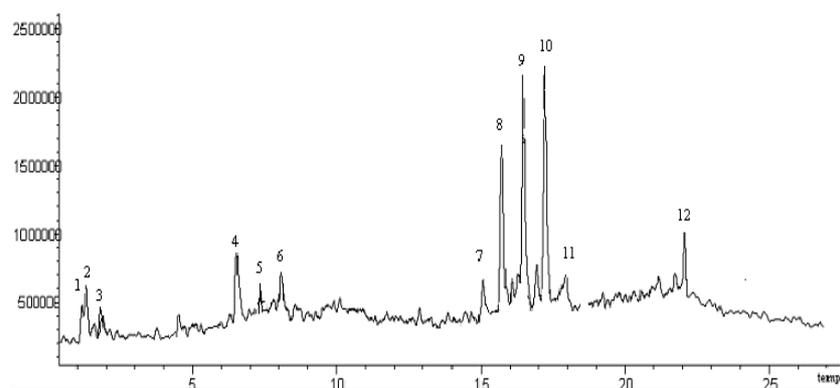


Figura 4- Cromatograma obtido por LC-MS, apresentando os perfis cromatográficos dos extratos dos genótipos de canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

A técnica de LC-MS é rápida, sensível e recomendável para analisar compostos orgânicos que podem ser volatilizados ou ionizados sem degradação. A técnica apresenta ainda vantagens, principalmente em relação à simplicidade da preparação da amostra. Em muitos casos o espectrômetro de massa representa o detector ideal

para ser operado por ser de aplicação universal e altamente seletivo que pode estabelecer, a princípio, a identidade de cada componente eluído. É uma poderosa ferramenta utilizada para a elucidação de estruturas químicas e para confirmação da identidade dos componentes químicos presentes nas moléculas (LINDSAY, 1992).

A técnica de LC-MS não dispõe de um banco de dados contendo espectros para identificação de compostos, como na técnica de GC-MS (do inglês *gas-chromatography mass spectrography*), em função de que a LC-MS exige condições analíticas rigorosamente iguais para as amostras analisadas, ficando assim restrita a comparação com padrões. No caso deste estudo, como os tempos de retenção e os espectros de massas são coincidentes infere-se que a composição química dos diferentes genótipos é a mesma.

A elucidação da estrutura se dá através da fragmentação dos picos obtidos na análise cromatográfica numa relação massa/carga. Nas análises realizadas as fragmentações dos picos cromatográficos das amostras estudadas se mostraram idênticos, como pode ser verificado na fragmentação do pico obtido em 12,34 minutos a partir do espectro de massa do LC-MS do genótipo Hyola 420 (Figura 5) e do genótipo Sw-Eclipse (Figura 6).

Para a segura identificação e quantificação dos picos observados nos cromatogramas se faz necessária a utilização de padrões dos compostos químicos previamente identificados nas amostras sendo que os mesmos devem ser adquiridos com grau de pureza adequado para serem aplicados aos métodos cromatográficos.

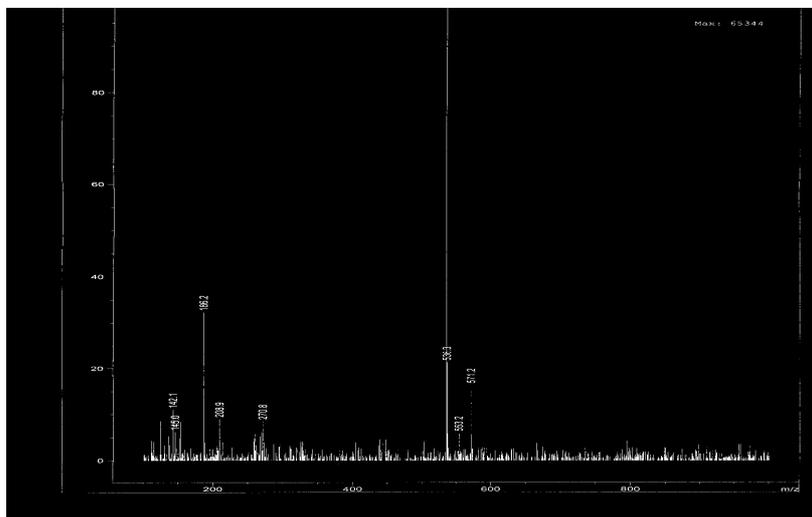


Figura 5- Fragmentação do pico obtido em 12,34 min a partir do espectro de massa do LC-MS do genótipo Hyola 420. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

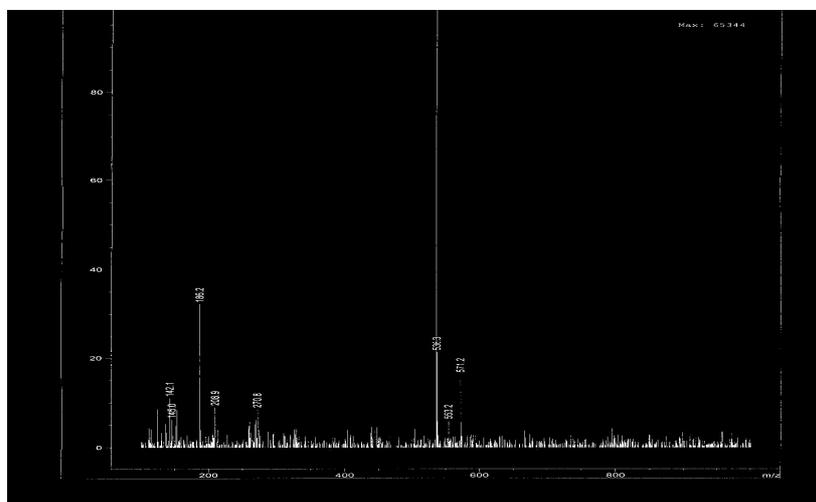


Figura 6- Fragmentação do pico obtido em 12,34 min a partir do espectro de massa do LC-MS do genótipo Sw-Eclipse. UPF, Passo Fundo, RS, 2006.

Trabalhos com outras culturas têm sido realizados na tentativa de isolar e identificar os compostos alelopáticos. Jacobi & Fleck (2000) avaliaram o potencial alelopático de diferentes genótipos de aveia e utilizaram cromatografia em camada delgada para avaliar as substâncias fluorescentes exudadas pelas raízes dessa cultura. Os autores constataram que os genótipos exudam quantidades diferentes de escopoletina, e observaram que os genótipos que exudaram maior quantidade desse composto foram os que apresentaram maior efeito alelopático.

Trezzi (2002) na avaliação do potencial alelopático da cultura do sorgo, constatou que sorgoleone é o composto predominante em extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo.

Uma das possíveis explicações para a inexistência de diferenças nos perfis cromatográficos pode dever-se a origem desta espécie. Do cruzamento entre *Brassica campestris* ($2n=20$) x *Brassica oleracea* ($2n=18$) que originou a colza (*Brassica napus*) ($2n=38$). A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) é proveniente da seleção de genótipos de colza. Portanto, esta planta, por ter somente dois ancestrais comuns aparentados (*Brassica campestris* e *Brassica oleracea*) pode possuir base genética para a variabilidade quanto à produção de metabólitos secundários estreita, o que não confere diferenças quanto aos compostos produzidos e sua quantidade (SIMMONDS, 1979).

4 CONCLUSÕES

O método mais eficaz de preparo do extrato para a obtenção dos perfis cromatográficos da canola foi o que utilizou água como solvente.

Os genótipos de canola apresentam o mesmo perfil cromatográfico. Os cromatogramas apresentam compostos majoritários em *Brassica napus* L. var. *oleifera*, com a presença de 12 picos de componentes constituintes dos genótipos estudados.

CAPÍTULO III

AValiação DO EFEITO SUPRESSIVO DA CANOLA SOBRE PLANTAS DANINHAS E SOJA ¹

Aline Rizzardi² e Mauro Antônio Rizzardi³

RESUMO – O objetivo do trabalho foi avaliar a supressão de plantas daninhas, causada pela cultura da canola e o seu impacto no rendimento de grãos da soja semeada em sucessão. Os tratamentos avaliados foram três genótipos de canola (Hyola 43, Hyola 401 e Hyola 420), uma testemunha sem palha e uma testemunha com aveia-preta. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Após a colheita da canola, realizou-se a semeadura da soja. As contagens das plantas daninhas foram realizadas no florescimento da canola, quinze dias após o florescimento, trinta dias após o florescimento e estágio cotiledonar e de dois trifólios da soja. Avaliou-se ainda o número de plantas de soja emergidas, rendimento e os componentes do rendimento da soja. Em condições de campo, a canola exerce efeito inibitório somente sobre a população de plantas de carrapichão e a aveia-preta sobre picão-preto, carrapichão, leiteira e

¹ Parte da dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) – UPF.

² Bióloga, mestranda do PPGAgro – UPF.

³ Orientador, Eng. Agr., Dr., Professor da Faculdade de Agronomia da FAMV/UPF.

milhã. Na avaliação do rendimento e componentes do rendimento da soja, os tratamentos não diferem estatisticamente.

Palavras – chave: *Bidens* sp., *Digitaria horizontalis*; *Xanthium strumarium*; *Euphorbia heterophylla*.

ASSESSMENT OF CANOLA SUPPRESSIVE EFFECTS ON WEEDS AND SOYBEAN PLANTS

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the suppression of weeds by the canola crop and its impact on grain yield of soybean sown in succession. The treatments included three canola genotypes (Hyola 43, 401 Hyola, and Hyola 420), a check without canola residue and another with residues of black oat (*Avena strigosa*). The experimental units were arranged in a complete randomized block design. The soybean crop was sown soon after the canola harvest. Plant weeds were counted at flowering stage of canola and fifteen and thirty days latter, as well as at the cotyledon and two-leaflet stages of soybean plants. It was also evaluated the number of emerged plants, the yield components, and the grain yield of soybean. Canola presented inhibitory effect only on *Xanthium strumarium* plants. The oat residues reduced the population of most weeds. The population of soybean plants was lower after canola, but the treatments did not differ from each other regarding grain yield and yield components on soybean.

Key-words: *Bidens* sp., *Digitaria horizontalis*; *Xanthium strumarium*; *Euphorbia heterophylla*.

1 INTRODUÇÃO

A cobertura do solo proporciona efeitos positivos, como a supressão de plantas daninhas, conservação da umidade do solo, acúmulo de nutrientes na superfície, controle da erosão e semeadura da cultura na melhor época (SANTOS & REIS, 2001). As culturas de cobertura atuam como barreira física ao crescimento e desenvolvimento de plantas daninhas ou liberam compostos alelopáticos que suprimem o desenvolvimento destas plantas (MEROTTO Jr. et al., 1997; PITELLI & DURIGAN, 2001).

Os vegetais podem interferir no crescimento e desenvolvimento de plantas que estão nas suas proximidades seja por efeitos físicos como o sombreamento ou por efeitos químicos como a alelopatia (RODRIGUES et al., 1992). A alelopatia se refere a influência de um indivíduo sobre o outro, seja prejudicando-o ou favorecendo-o e é causada por metabólitos secundários produzidos por uma planta e lançados no ambiente (RIZVI & RIZVI, 1992).

O uso de cobertura verde ou morta e dos restos vegetais, com o objetivo de controlar plantas daninhas, é um dos exemplos mais antigos do aproveitamento prático da alelopatia (REZENDE et al., 2003). Para se tirar proveito dos efeitos alelopáticos das coberturas mortas, como forma de reduzir a infestação das plantas daninhas na cultura, é necessário que os aleloquímicos sejam liberados paulatinamente ao longo do tempo, para que os efeitos se façam sentir até que a cultura atinja desenvolvimento suficiente para não sofrer mais a interferência das plantas daninhas (ABBADO, 1995). Os

sintomas mais comuns dos efeitos alelopáticos provocados pelas coberturas mortas nas culturas são: redução de germinação e emergência falta de vigor vegetativo ou morte das plântulas, amarelecimento ou clorose das folhas, redução do perfilhamento e atrofia ou deformação das raízes (SILVA, 1978; ALMEIDA, 1991).

Substâncias químicas com potencial alelopático podem estar presentes em todos os tecidos vegetais, e variam em função da espécie, do local de ocorrência e do estágio de desenvolvimento (ALMEIDA, 1991). Além disso, sua síntese é influenciada por fatores genéticos e ambientais, bióticos e abióticos (ALMEIDA, 1988; FERREIRA & AQUILA, 2000).

Resultados de pesquisa mostram que a resteva de trigo retarda o crescimento de plantas de algodão (HICKS et al., 1989) e que extratos das folhas de trigo inibem a germinação de suas próprias cariopses, além do desenvolvimento de suas plântulas (KALBURTJI, 1999). No Brasil, Rodrigues et al. (1999) encontraram que resteva de trigo (*Triticum aestivum*), aveia-preta (*Avena strigosa*) e centeio (*Secale cereale*) não influem na germinação de culturas de verão como milho, feijão e soja, mas afeta o crescimento dessas plantas. Esse efeito é mais associado a competição por nitrogênio do que propriamente a algum efeito alelopático do trigo.

O sorgo é um caso de cultura que, comprovadamente apresenta potencial alelopático (TREZZI, 2002) devido ao aleloquímico denominado sorgoleone. Este composto inibe a germinação e crescimento de várias plantas agindo como inibidor do fotossistema II, na fotossíntese (GONZALES et al., 1998). Também genótipos de aveia-branca possuem potencial alelopático diferenciado

entre si, o que é associado a quantidades variáveis do metabólito escopoletina responsável pela alelopatia da cultura (JACOBI & FLECK, 2000).

A canola além de ser uma alternativa para diversificação de culturas e geração de renda no período de inverno, nos sistemas de rotação de culturas das regiões tritícolas do sul do Brasil (TOMM, 2000), pode vir a ser alternativa para o manejo integrado de plantas daninhas, uma vez que esta planta apresenta aleloquímicos que podem ser responsáveis por inibir o desenvolvimento de plantas daninhas (NEVES, 2005).

Neste sentido, Neves (2005) desenvolveu trabalhos com a cultura da canola e constatou a presença de efeito alelopático, promovido pelas folhas, raízes e caules de canola que se manifestou pela redução da velocidade e inibição da germinação dos aquênios de picão-preto e das sementes de soja.

O objetivo do trabalho foi avaliar a supressão de plantas daninhas causada pela cultura da canola e o seu impacto no rendimento de grãos da soja semeada em sucessão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Centro de Extensão e Pesquisa Agropecuária (Cepagro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, no ano 2005/2006. A área experimental está localizada na região fisiográfica do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, a uma altitude de 678 m. O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho Escuro típico

(EMBRAPA, 1999). Os dados de precipitação pluvial da época em que o experimento foi conduzido encontram-se no Apêndice (Apêndice C).

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram compostos pelos genótipos de canola; Hyola 43, Hyola 401 e Hyola 420, por uma testemunha sem palha e por uma testemunha com aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb).

As parcelas apresentavam 6 metros de comprimento e 3,5 metros de largura. A semeadura da canola e da aveia-preta foi realizada no dia 11 de julho, manualmente, após ter sido realizada sulcagem e adubação da área. A população de plantas foi de 45 plantas/m² para a canola e 350 plantas/m² para a cultura de aveia. A adubação foi realizada com semeadora, sendo distribuídos 10 kg de N ha⁻¹, 40 kg P₂O₅ ha⁻¹ e 40 kg K₂O ha⁻¹.

No estágio de floração da canola iniciaram-se as contagens do número de plantas daninhas emergidas em todas as parcelas do experimento. Para a contagem, utilizava-se um quadro de 0,5 m² que era colocado aleatoriamente na parcela, efetuando-se a contagem e identificação das plantas daninhas presentes na área.

Por ocasião do início da floração da canola, avaliou-se a matéria seca resultante da cobertura obtida em cada um dos tratamentos, a partir da coleta de amostras de 1,125 m². Cada amostra foi levada a estufa de ventilação forçada, em temperatura de 60 °C, até peso constante.

Quando a canola e a aveia-preta encontravam-se aptas para serem colhidas, fez-se a roçada das parcelas, utilizando-se para

isso roçadeira, para que fosse posteriormente realizada a semeadura da soja. Após a roçada, a palha que havia se espalhado, foi distribuída uniformemente sobre as parcelas e oito dias após realizou-se a semeadura da soja, no dia 09 de dezembro. O cultivar utilizado foi 6001 RR, semeado sob densidade de 200 mil plantas ha^{-1} e espaçamento de 0,45 cm entre linhas. A adubação constou de 6 kg de N ha^{-1} , 60 kg P_2O_5 ha^{-1} e 60 kg K_2O ha^{-1} . Cada parcela era composta por sete fileiras centrais. Durante o desenvolvimento da cultura, foram realizadas duas aplicações de fungicidas e inseticidas. A primeira realizou-se no estágio de desenvolvimento R1 da soja, com tebuconazol (Folicur a 0,5 L ha^{-1}) e diflubenzurom (Dimilin a 60 g ha^{-1}) e a segunda, no estágio R4 com epoxiconazol + piraclostrobina (Opera a 0,5 L ha^{-1}) e clorpirifós (Lorsban a 0,5 L ha^{-1}).

Foram realizadas ainda contagens de plantas daninhas após o manejo, que foram feitas no estágio cotiledonar e no estágio de dois trifólios de desenvolvimento da soja. Após o aparecimento do segundo trifólio cessaram as contagens, pois as mesmas tornaram-se muito difíceis de serem feitas, além de ter sido necessário efetuar o controle, uma vez que a infestação de plantas daninhas era muito alta, o que impediria de se avaliar possíveis efeitos da canola sobre a soja. O controle de plantas daninhas foi realizado com o herbicida glyphosate (840 g e.a. ha^{-1}) aplicado com pulverizador costal de precisão.

Desde o início do experimento fizeram-se cinco contagens de plantas daninhas em diferentes épocas: na floração da canola (FC); quinze dias após o florescimento (15 DAF) e trinta dias após o florescimento (30 DAF) e, na soja, no estágio cotiledonar (EC) e dois

trifólios (2T). Nas duas últimas contagens, foi contado também o número de plantas de soja emergidas.

A colheita da soja foi realizada manualmente, nas 3 linhas centrais de cada parcela. As plantas foram trilhadas e os grãos pesados, ajustando-se a massa obtida para 13% de umidade, calculando-se então o rendimento de grãos. Destes separou-se uma amostra de grãos de soja por parcela que foi levado para a estufa até a obtenção de peso constante, desta foram contados 400 grãos, pesados e calculado o peso de 1000 grãos. Para a avaliação dos demais componentes do rendimento foram coletadas aleatoriamente na área útil 10 plantas de soja, das quais foram contados o número de vagens por planta e o número de grãos por vagem e, assim obtendo-se o número de grãos por planta.

A análise dos resultados deu-se através da análise descritiva, cujos parâmetros de avaliação foram a média e desvio padrão. Utilizou-se este tipo de análise, pois pela forma como o experimento foi conduzido mostrou grande variabilidade nos dados e a análise de variância apresentou valores de coeficiente de variação muito altos, podendo mascarar os resultados. Na análise descritiva tem-se como resultado um tratamento superior (S) e outro inferior (I). Tratamento superior refere-se aquele cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos. Já, o tratamento inferior, refere-se aquele cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos. Compararam-se separadamente as plantas daninhas presentes em cada um dos tratamentos para cada época de avaliação, sendo considerados tratamentos superiores àqueles que contiveram menor número de

plantas daninhas e inferiores os que apresentaram mais plantas. O rendimento de grãos da soja e os componentes do rendimento foram submetidos a análise de variância e testados pelo teste F, a 5% de probabilidade de erro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento do florescimento da canola, a quantidade de matéria seca existente na superfície da área era de 3,8; 3,7; 3,9 t ha⁻¹ de palha dos genótipos Hyola 43, Hyola 401 e Hyola 420, respectivamente e de 4,8 t ha⁻¹ de plantas de aveia-preta.

As principais plantas daninhas encontradas no experimento foram: picão-preto (*Bidens pilosa* e *Bidens subalternans* DC.), milhã (*Digitaria horizontalis* Willd.), carrapichão (*Xanthium strumarium* L.) e leiteira (*Euphorbia heterophylla* L.). O picão-preto foi a principal espécie, representando 62,1% da quantidade total de plantas contadas, seguido de milhã com 30,1%, leiteira com 5,9% e por último carrapichão com 1,9% .

A análise descritiva para as plantas daninhas identificadas nas contagens está representada nas Tabelas 1 a 5.

Os resultados obtidos na análise conjunta de todas as plantas daninhas encontradas no experimento são apresentados na Tabela 1. Na comparação dos tratamentos, na primeira avaliação (FC) o tratamento inferior foi pousio não se destacando um tratamento superior. Aos 15 DAF da canola, foi constatado o genótipo Hyola 420 como tratamento inferior. Nas avaliações aos 30 DAF, EC e 2T o

tratamento superior foi aveia e os inferiores Hyola 420, pousio e Hyola 43 respectivamente (Tabela 1).

A maior quantidade de palha de aveia pode ter sido a responsável por tais resultados, uma vez que tanto para a supressão quanto para o efeito alelopático, os restos culturais estão diretamente relacionados com a presença de plantas daninhas numa área (OLIVEIRA et al., 2001; SILVA, 2005). Além disso, as observações feitas a campo após a roçada das parcelas experimentais demonstraram que as áreas de cultivo de canola apresentaram menor quantidade de material vegetal sobre o solo, já a aveia-preta apresentou maior quantidade de palha.

Quanto maior a quantidade de palha disponível, maior será o tempo em que a cultura permanece sem a interferência de plantas daninhas (SILVA, 2005). Este mesmo autor verificou que o número de plantas daninhas emergidas foi maior nas parcelas com cobertura formada com nabo do que com aveia-preta. O que vem a corroborar com os resultados encontrados, uma vez que a canola pertence a mesma família que o nabo e possui características morfológicas muito semelhantes.

As interações que ocorrem no ecossistema agrícola são muito específicas e dinâmicas dependendo da quantidade de palha e, principalmente, da espécie de planta daninha que pode ser favorecida ou não pela cobertura morta (CORREIA & DURIGAN, 2002).

As culturas de aveia, centeio, nabo-forrageiro e colza são as que, após a colheita, deixam o terreno com menor infestação de plantas daninhas (ALMEIDA & RODRIGUES, 1985).

Tabela 1- Somatório de plantas daninhas em diferentes épocas de contagem em função das culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006

Culturas antecessoras	FC	Épocas de contagem			
		15 DAF	30 DAF	EC	2T
		Número de plantas m ⁻² (Média e DP)			
Aveia	56,7 ± 11,6	40,5 ± 29,2	40,5 ± 37,5 S	37,5 ± 15,3 S	83,0 ± 36,8 S
Pousio	91,0 ± 27,9 I	44,5 ± 23,9	104,0 ± 101,0	136,0 ± 109,2 I	174,0 ± 51,2
Hyola 43	71,5 ± 22,4	56,5 ± 8,1	77,5 ± 11,7	104,0 ± 49,1	197,5 ± 25,6 I
Hyola 401	54,5 ± 55,0	43,7 ± 16,5	74,5 ± 30,7	76,0 ± 39,9	155,0 ± 27,9
Hyola 420	62,5 ± 63,0	70,0 ± 17,8 I	131,0 ± 35,8 I	107,0 ± 84,5	141,0 ± 60,1
Média Total	67,2 ± 14,8	51,0 ± 12,2	85,5 ± 34,0	92,1 ± 37,2	150,1 ± 43,1
S (superior)	52,4	38,8	51,5	54,9	106,9
I (inferior)	82,0	63,2	119,5	129,3	193,2

I refere-se aos tratamentos inferiores cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos.

S refere-se aos tratamentos superiores cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos

FC= Florescimento da canola; 15 DAF= quinze dias após o florescimento da canola; 30 DAF= trinta dias após o florescimento da canola; EC= estágio cotiledonar da soja; 2T= dois trifólios da soja.

Na primeira contagem do número de plantas de picão-preto emergidas o tratamento superior foi Hyola 401 e o inferior foi Hyola 43 (Tabela 2). O tratamento Hyola 420 na segunda e terceira avaliações (15 e 30 DAF) foi inferior e os superiores foram pousio e aveia, respectivamente. No EC e 2T da soja a aveia continuou sendo o tratamento superior enquanto pousio e Hyola 43 foram os inferiores.

A ocorrência de picão-preto, na comparação da avaliação realizada em FC com a primeira avaliação realizada após o manejo das culturas de cobertura no EC, aumentou em todos os tratamentos exceto aveia-preta, o qual reduziu 21,9%.

O ocorrido pode ser explicado pelo fato da aveia atuar como barreira física a passagem de luz, suprimindo o desenvolvimento das plantas de picão-preto. Além disso, sabe-se que a aveia produz um composto denominado escopoletina que é exsudado pelas raízes e que é conhecido como inibidor do crescimento vegetal (FAY & DUKE, 1977).

Tabela 2- Número de plantas de picão-preto (*Bidens* sp.) em diferentes épocas de contagem em função das culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006

Culturas antecessoras	Épocas de contagem				
	FC	15 DAF	30 DAF	EC	2T
	Número de plantas m ⁻² (Média e DP)				
Aveia	20,5± 9,2	30,5±26,0	11,5±11,4 S	16,0 ± 20,9 S	52,0± 36,4 S
Pousio	16,5±15,4	19,0±26,0 S	31,5±31,7	108,0±121,2 I	92,5± 65,1
Hyola 43	44,5±25,9 I	42,0± 5,4	41,0± 6,6	81,5 ± 35,5	140,0± 23,0 I
Hyola 401	9,0± 4,8 S	23,0±12,1	22,5±12,5	35,0 ± 17,3	97,0± 21,2
Hyola 420	23,0±13,1	47,0±32,4 I	57,0±30,6 I	81,5 ± 85,9	109,5± 65,5
Média Total	22,7± 13,3	32,3±12,0	32,7±17,4	64,4±37,7	98,2±31,8
S (superior)	9,4	20,3	15,3	26,7	66,4
I (inferior)	36	44,3	50,1	102,1	130

I refere-se aos tratamentos inferiores cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos.

S refere-se aos tratamentos superiores cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos

FC= Florescimento da canola; 15 DAF= quinze dias após o florescimento da canola; 30 DAF= trinta dias após o florescimento da canola; EC= estágio cotiledonar da soja; 2T= dois trifólios da soja.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados das contagens de plantas de milhã. No FC o tratamento pousio foi o inferior, não ocorrendo um tratamento superior. Nas avaliações aos 15 DAF, 30 DAF da canola e EC da soja o tratamento superior foi aveia, os tratamentos inferiores para as respectivas avaliações foram pousio, pousio e Hyola 420 e Hyola 401. No estágio de 2T da soja não ocorreram tratamentos superiores, porém o que apresentou menor número de plantas daninhas foi aveia e o pousio foi o tratamento inferior (Tabela 3).

Na comparação da primeira contagem realizada em FC, com a realizada após o manejo das culturas de cobertura, no EC da soja, a redução das plantas daninhas causada pela cobertura seguiu a seguinte ordem decrescente: pousio (69,2%) > aveia (48%) > Hyola

420 (39,2%) > Hyola 401 (24,3%) > Hyola 43 (13%). Comparando-se FC com 2T a ordem de redução foi aveia-preta (44%) > Hyola 420 (35,7%) > Hyola 401 (13,5%) > Pousio (1,8%) > Hyola 43 (+21,7%).

Tabela 3- Número de plantas de milhã (*Digitaria horizontalis* Willd.) em diferentes épocas de contagens em função das culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006

Culturas antecessoras	Épocas de contagem				
	FC	15 DAF	30 DAF	EC	2T
	Número de plantas m ⁻² (Média e DP)				
Aveia	25,0±10,0	2,5± 5,0 S	23,0±18,5 S	12,5±18,9 S	14,0± 2,3
Pousio	65,0±20,2 I	14,0±14,3 I	61,5±23,9 I	20,0±16,3	63,5±31,3 I
Hyola 43	23,0±15,0	8,5± 6,6	28,0±14,2	19,5±14,8	27,5±13,3
Hyola 401	36,5±11,1	9,0± 6,2	42,0±24,7	28,0±11,0 I	31,5±21,8
Hyola 420	28,0± 2,0	11,5±13,9	61,5±41,1 I	16,5±10,0	17,5±11,7
Média Total	35,5±17,3	9,1±4,3	43,2±18,1	19,3±5,7	30,8±19,6
S (superior)	18,2	4,8	25,1	13,6	11,2
I (inferior)	52,8	13,4	61,3	25,0	50,4

I refere-se aos tratamentos inferiores cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos.

S refere-se aos tratamentos superiores cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos

FC= Florescimento da canola; 15 DAF= quinze dias após o florescimento da canola; 30 DAF= trinta dias após o florescimento da canola; EC= estágio cotiledonar de desenvolvimento da soja; 2T= estágio de dois trifólios de desenvolvimento da soja.

A contagem de plantas de carrapichão em FC mostrou o tratamento Hyola 43 como sendo o superior e pousio inferior (Tabela 4). Aos 15 DAF os tratamentos pousio, Hyola 43 e Hyola 401 não apresentaram plantas de carrapichão sendo os tratamentos superiores e Hyola 420 o tratamento inferior. Aos 30 DAF aveia apresentou menor número de plantas enquanto Hyola 420 teve o maior número de plantas de carrapicho emergidas. No EC da soja, Hyola 420 foi o tratamento inferior enquanto nos demais não houve presença de

plantas de carrapichão sendo todos considerados superiores. No estágio de 2T o tratamento inferior foi pousio, não havendo tratamento superior, porém o que apresentou menor número de plantas de milhã nesta avaliação foi Hyola 401 (Tabela 4).

Tabela 4- Número de plantas de carrapichão (*Xanthium strumarium* L.) em diferentes épocas de contagem em função das culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006

Culturas antecessoras	Épocas de contagem				
	FC	15 DAF	30 DAF	EC	2T
	Número de plantas m ⁻² (Média e DP)				
Aveia	2,0±2,8	0,5±1,0	0,0±0,0 S	0,0±0,0 S	2,5±3,0
Pousio	3,0±3,5 I	0,0±0,0 S	1,0±2,0	0,0±0,0 S	6,5±6,0 I
Hyola 43	0,5±1,0 S	0,0±0,0 S	1,5±3,0	0,0±0,0 S	2,5±3,8
Hyola 401	1,5±1,9	0,0±0,0 S	0,5±1,0	0,0±0,0 S	1,5±1,9
Hyola 420	2,0±2,8	2,0±4,0 I	2,5±5,0 I	2,0±4,0 I	3,0±3,5
Média Total	1,8±0,9	0,5±0,9	1,1±1,0	0,4±0,9	3,2±1,9
S (superior)	0,9	0,0	0,1	0,0	1,3
I (inferior)	2,7	1,4	2,1	1,3	5,1

I refere-se aos tratamentos inferiores cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos.

S refere-se aos tratamentos superiores cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos

FC= Florescimento da canola; 15 DAF= quinze dias após o florescimento da canola; 30 DAF= trinta dias após o florescimento da canola; EC= estágio da soja; 2T= dois trifólios da soja.

Os efeitos fitotóxicos das brássicas podem ser causados por produtos da hidrólise dos glucosinolatos que ocorrem em quantidades substanciais em partes vegetativas destas plantas (MOYER & HUANG, 1997). Assim, ocorrência de pequena quantidade de plantas de carrapichão nos tratamentos compostos pelo cultivo de canola, especialmente o tratamento Hyola 401, pode ser resultado da liberação de substâncias com potencial alelopático pela

canola ou simplesmente pela desuniformidade de emergência desta planta daninha na área do experimento.

Na contagem das plantas de leiteira no estádio de FC não houve tratamento inferior e Hyola 43 foi o tratamento superior (Tabela 5). Aos 15 DAF da canola o tratamento inferior foi aveia não ocorrendo tratamento superior. Aos 30 DAF da canola o tratamento superior foi aveia e o inferior Hyola 420. No EC da soja o tratamento Hyola 420 foi o inferior e os demais superiores por não apresentarem nenhuma planta de leiteira. As avaliações do número de plantas de leiteira feitas no estádio de 2T da soja apresentaram como tratamento inferior Hyola 43, não ocorrendo um superior.

Tabela 5- Número de plantas de leiteira (*Euphorbia heterophylla* L.) em diferentes épocas de contagem e culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006

Culturas antecessoras	Épocas de contagem					
	FC	15 DAF	30 DAF	EC	2T	
	Número de plantas m ⁻² (Média e DP)					
Aveia	2,0±2,8	4,0±6,7 I	0,5± 1,0 S	0,0±0,0 S	9,0±10,4	
Pousio	3,5±4,7	2,5±1,0	4,0± 4,3	0,0±0,0 S	7,0± 6,0	
Hyola 43	0,5±1,0 S	1,5±1,9	3,0± 3,8	0,0±0,0 S	26,0±11,5 I	
Hyola 401	5,5±3,8	1,5±1,9	5,5± 4,4	0,0±0,0 S	12,0± 8,5	
Hyola 420	5,5±6,4	2,0±2,8	8,5±10,6 I	3,0±6,0 I	6,0± 8,5	
Média Total	3,4±2,2	2,3±1,0	4,3±3,0	0,6±1,3	12,0±8,2	
S (superior)	1,2	1,3	1,3	0,0	3,8	
I (inferior)	5,6	3,3	7,3	1,9	20,2	

I refere-se aos tratamentos inferiores cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos.

S refere-se aos tratamentos superiores cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos

FC= Florescimento da canola; 15 DAF= quinze dias após o florescimento da canola; 30 DAF= trinta dias após o florescimento da canola; EC= estádio cotiledonar da soja; 2T= dois trifólios da soja.

Ao avaliar-se as contagens no período anterior ao manejo na FC e após o manejo no EC da soja são observadas reduções de 100% das plantas de leiteira, nos tratamentos: aveia, pousio, Hyola 43 e Hyola 401 e de 45% para o tratamento Hyola 420. Tal redução pode estar relacionada com o manejo realizado alguns dias antes desta avaliação que acabou eliminando a população de plantas de leiteira na maioria dos tratamentos. Na comparação de FC com 2T, observa-se que todos os tratamentos aumentaram a população de plantas.

Nas contagens de soja realizadas, o tratamento inferior foi a aveia não sendo observado nenhum tratamento superior (Tabela 6). Ao contrário do que ocorreu com as plantas daninhas em que o tratamento constituído pelas parcelas de aveia foi o que reduziu a emergência, na avaliação da germinação da soja este tratamento foi o que apresentou mais plantas por área, sendo a média de 23,0 plantas/m², e os tratamentos Hyola 401 e Hyola 43 foram os que apresentaram menos plantas de soja por m², 18,1 e 18,2 plantas por m² respectivamente. Observa-se que nas duas épocas de avaliação o tratamento aveia foi o que apresentou maior número de plantas de soja.

Tabela 6 - Número de plantas de soja (*Glycine max* Merrill.) em diferentes épocas de contagem em função das culturas antecessoras. UPF, Passo Fundo-RS, 2005/2006

Cultura Antecessora	Épocas de Contagem	
	EC	2T
	Número de plantas m ⁻² (Média e DP)	
Aveia	21,3±3,4 I	24,8±2,9 I
Pousio	16,8±3,0	22,5±1,0
Hyola 43	14,5±2,4	22,0±4,8
Hyola 401	15,5±1,9	20,8±1,7
Hyola 420	16,0±2,6	21,0±1,4
Média Total	16,8±2,6	22,2±1,6
S (superior)	14,2	20,6
I (inferior)	19,4	23,8

I refere-se aos tratamentos inferiores cujos valores ficaram acima da média total mais o desvio padrão da média dos tratamentos.

S refere-se aos tratamentos superiores cujos valores ficaram abaixo da média total menos o desvio padrão da média dos tratamentos

EC= estádio cotiledonar da soja; 2T= dois trifólios da soja.

Nas condições em que o experimento foi realizado, observou-se a redução do número de plantas de soja nos tratamentos constituídos pelas parcelas de canola. Esta redução pode ser efeito da liberação de compostos alelopáticos pela canola que interferiu na emergência da soja.

Os compostos podem ser produtos da degradação dos glucosinolatos em isotiocianatos e tiocianatos contidos na palha da canola, agindo sobre a germinação das sementes de soja. Com relação a cultura da canola, Gassen & Gassen (1996), observam que lavouras antecedidas por esta cultura evidenciam redução no crescimento e rendimento de grãos da soja. Neves (2005) constatou a presença de efeito alelopático, promovido pelas folhas, raízes e caules de canola que se manifestou pela redução em mais de 30% na velocidade de emergência e inibição da germinação da soja.

O rendimento da soja e os componentes do rendimento (vagem por planta, grãos por planta, peso de 1000 grãos) avaliados no experimento não diferiram em nenhum dos tratamentos como pode ser observado na Tabela 7.

Assim constata-se neste trabalho que, mesmo que as áreas antecedidas pelo cultivo da canola, tenham reduzido o número de plantas/m² de soja, esta redução não foi significativa para se expressar no rendimento da cultura.

Tabela 7- Rendimento de grãos e componentes do rendimento de soja em função dos tratamentos. UPF, Passo Fundo, RS, 2005/2006

Culturas antecessoras	Rendimento de grãos (kg ha ⁻¹)	Vagem/planta	Grãos/planta	Peso/1000 grãos (g)
Aveia	3282,9 ns	53,7 ns	103,5 ns	146,9 ns
Pousio	3789,8	60,9	115,9	142,6
Hyola 43	3479,9	57,1	106,8	145,9
Hyola 401	3123,9	54,0	99,8	146,6
Hyola 420	3209,2	52,9	99,3	143,7
Média	3377,1	55,7	105,1	145,1
C.V.%	11,17	11,66	12,6	3,16

ns: não significativo

4 CONCLUSÕES

Em condições de campo, a canola exerce efeito inibitório somente sobre a população de plantas de carrapichão e a aveia-preta sobre picão-preto, carrapichão, leiteira e milhã.

Na avaliação do rendimento e componentes do rendimento da soja, os tratamentos não diferem estatisticamente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A hipótese levantada de que existem diferenças entre os genótipos de canola quanto ao potencial alelopático, foi parcialmente comprovada, uma vez que em testes de laboratório, avaliando-se diferentes concentrações de extrato, as diferenças entre os genótipos são observadas somente em baixas concentrações. De maneira geral são poucas as diferenças entre os genótipos

Com relação aos compostos que podem promover o potencial alelopático na cultura da canola, comprovou-se através da análise cromatográfica que todos os genótipos avaliados produzem os mesmos compostos.

Em condições de campo a canola quando comparada com a cultura da aveia, exerce menor efeito supressivo que esta sobre plantas daninhas. Considerando-se os efeitos dos restos culturais da canola e aveia-preta sobre a cultura da soja em sucessão, na avaliação do rendimento e componentes do rendimento da soja, constatou-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADO, M. R. *Estabelecimento de capim elefante (Pennistum purpureum Schum) em áreas de Brachiaria decumbens Stapf. explorando o potencial alelopático de leguminosas tropicais*. 1995. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba, 1995.

ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KEKNER-BRACHT, A. M. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *Journal of Chemical Ecology*, v.26, p. 611- 624, 2000.

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

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

ALMEIDA, F. S.; RODRIGUES, B. N. *Guia de herbicidas*. Londrina: IAPAR, 1985. 467p

BAIER, A. C.; FLOSS, E. L.; AUDE, M. I. S. *As lavouras de inverno*. 2 ed. São Paulo: Globo, 1989. 172 p.

BENNET, R. N.; MELLON, F. A.; BOTTING, N. P.; EAGLES, J.; ROSA, E. A. S.; WILLIAMSON, G. Identification of major glucosinolate (4- mercaptobutylglucosinolate) in leaves of *Eruca sativa* (salad rocket). *Phytochemistry*, v. 61, p. 25-30, 2002.

BLUM, U. Designing laboratory plant debris-soil bioassays: some reflections. In: INDERJIT, DAKSHINI, K. M. M.; FOY, C. L. *Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions*. Boca Raton, 1999, p. 17-23.

BROWN, P. D.; MORRA, M. J.; MCCAFFREY, J. P.; AULD, D. L.; WILLIAMS, L. Allelochemicals produced during glucosinolate

degradation in soil. *Journal of Chemical Ecology*, v. 17, p. 2021 – 2034, 1991.

BUHLER, D. D. Challenges and opportunities for integrated weed management. *Weed Science*, v. 50, p. 273 – 280, 2002.

BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. *Fundamentos de química clínica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 842p

BUSNELLO, C. E.; SILVEIRA, E. R.; LOPES, A.; MARQUESZI, C. F. Influência alelopática de raízes e parte aérea de aveia e azevém sobre a germinação e desenvolvimento inicial da soja (*Glycine max*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, 2, Foz do Iguaçu, 2002. *Resumos*, p.96.

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.; FONTANÉTTI, A. 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*, v.26, p.647-651, 2002.

CASTRO, P. R. C.; RODRIGUES, J. D.; MORAIS, M. A.; CARVALHO, V. L. M. Efeitos alelopáticos de alguns extratos vegetais na germinação do tomateiro. *Planta Daninha*, v. 2, p. 79-85, 1983.

CHOESIN, D. N.; BOERNER, R. E. J. Allyl isothiocyanate release and the allelopathic potential of *Brassica napus* (*Brassicaceae*). *American Journal of Botany*, v. 78, p. 1083 - 1090, 1991.

CHON, S.; CHOI, S.; JUNG, S.; JANG, H.; PYO, B.; KIM, S. Effects of alfafa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfafa and barnyard grass. *Crop Protection*, v. 21, p. 1077–1082, 2002.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J.C. Emergência de plantas daninhas em solo coberto com palha de cana-de-açúcar. *Boletim informativo – SBCPD/ Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas*, São Paulo, v.10, 2002.

DAYAN, F. E.; WATSON, S. B.; GALINDO, J. C. G.; HERNANDEZ, A.; DOU, J.; MCCHESENEY, J. D. ; DUKE, S. O. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and structural requirements. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 65, p. 15–24, 1999.

DEGANI, A. L. G., CASS, Q. B., VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. *Química nova na escola*, n. 7, p. 21-25, 1998.

DEZOTTI, P. C.; HERNANDEZ – TERRONES, M.G., MELO, G. S. Potencial herbicida do extrato metanólico de sementes de mata-barata. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23, Gramado, 2002. *Resumos*, p. 48.

EBERLEIN, C. V.; MORRA, M. J.; GUTTIERI, M. J.; BROWN, P. D.; BROWN, J. Glucosinolate production by five field-crown *Brassica napus* cultivars used as green manures. *Weed Technology*, v.12, p. 712 – 718, 1998.

ELAKOVICHTH, S. D. Bioassays applied to allelopathic herbaceous vascular hydrophytes. In: INDERJIT, DAKHINI, K. M. N.; FOY, C. L., eds. *Principles and practices in plant ecology*. CRC Press LLC, 1999, p. 45- 56.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Brasília: EMBRAPA- SPI/ EMBRAPA-CNPS, 1999. 412p.

ESLAMI, S.V.; GILL, G.S.; BELLOTTI, B.; MCDONALD, G. Wild radish (*Raphanus raphanistrum*) interference in wheat. *Weed Science*, v. 54, p.749-756, 2006.

FAY, P. K.; DUKE, W. B. An assessment of allelopathic potential in *Avena* germplasm. *Weed Science*, v.5, p. 224-228, 1977.

FENWICK, G. R.; HEANEY, R. K. Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feeding stuffs. *Food Chemistry*, v. 11, p. 249–271, 1983.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, p. 175-204, 2000.

FONT, R.; RIO-CELESTINO, M.D.; CARTEA, E.; HARO-BAILÓN, A.D. Quantification of glucosinolates in leaves of leaf rape (*Brassica napus* ssp. *Pabularia*) by near-infrared spectroscopy. *Phytochemistry*, v. 66, p. 175-185, 2004.

FUERST, E. P.; PUTNAM, A. R. Separating the competitive and allelopathic components of interference: theoretical principles. *Journal of Chemical Ecology*, v. 9, p. 937-944, 1983.

GASSEN, D. N.; GASSEN, F. R. *Plantio direto o caminho do futuro*. Passo Fundo: Almeida Sul, 1996. 207p.

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

HARAMOTO, E. R.; GALLANDT, E.R. Brassica cover cropping: I. Effects on weed and crop establishment. *Weed Science*, v. 53, p. 695-701, 2005.

HARRIS, D. C. *Análise química quantitativa*. 6ª Edição - Editora: LTC, Rio de Janeiro/RJ, 2005.

HELBOE, P. Separation of glucosinolates by high-performance liquid chromatography. *Journal Chromatography*, n. 197, p. 199–205, 1980.

HICKS, S. K.; WENDT, C.W; GANNAWAI, J.R.; BAKER, R.B. Allelopathic effects of wheat atraw on cotton germination, emergence and yield. *Crop Science*, v. 29, p. 1057-1061, 1989.

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. *Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions*. Boca Raton, 1999, p. 255-266.

IQBAL, Z.; HIRADATE, S.; NODA, A.; FUJII, Y. Allelopathic activity of buckwheat: isolation and characterization of phenolics. *Weed Science*, v. 51, p. 657-662, 2003.

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

JACOBI, U. S.; FLECK, N. G. Avaliação do potencial alelopático de genótipos de aveia no início do ciclo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, p. 11-19, 2000.

JÖNSSON, M. *Responses to oilseed rape and cotton volatiles in insect herbivores and parasitoids*. 2005. Tese (doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 2005.

KALBURTI, K.L. Research on allelopathy in Greece. In: NARWAL, S.S. (Ed.) *Allelopathy Update Enfield*, Science Pub., 1999. v.1, p.37-47.

KATO-NAGUCHI, H.; KOSEMUR, S.; YAMAMURA, S.; MIZUTANI, J.; HASEGAWA, K. Allelopathy of oats. I. Assessment of allelopathic potential of extract of oat shoots and identification of an allelochemical. *Journal of Chemical Ecology*, v.20, p. 309-314, 1994.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. *Plantas infestantes e nocivas*. São Paulo: BASF, 1ªed, 1995. p. 629.

KRISHNAN, G.; HOLSHOUSE, D. L.; NISSEN, S.J.; Weed control in soybean (*Glycine max*) with green manure crops. *Weed Technology*, v.12, p 97-102, 1998.

LINDSAY, S. *High Performance Liquid Chromatography*. 2nd edition, Ed. Thames Polytechnic, London, 1992, p. 323.

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

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

MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R. B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Plant Science*, v.7, p. 366-373, 2002.

MAIRESSE, L. A. S. *Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos*. 2005. 329f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós – Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2005.

MARASCHIN-SILVA. F.; AQÜILA, M. E.A. *IHERINGIA- Série Botânica*, Porto Alegre, v.60, p. 91-98, 2005.

MARTINS, D. I. *Apostila Curso: Cromatografia Líquido – HPLC*. Perkin Elmer Instruments – Perkin Elmer Brasil, 1^a ed. 2002.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica*, v.26, p.231- 238, 2003.

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

MEROTTO, JR, A.; GUIDOLIN, A. F.; ALMEIDA, M. L.; HAVERROTH, H. S. Aumento da população de plantas e uso de herbicidas no controle de plantas daninhas em milho. *Planta Daninha*, v. 15, p. 141-151, 1997.

MITHEN, R. F.; DEKKER, M.; VERKERK, R.; RABOT, S.; JOHNSON, I. T. Review: The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 967–984, 2000.

MITHEN, R. Glucosinolates – biochemistry, genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation*, v. 34, p. 91-103, 2001.

MOYER, J. R.; HUANG, H. C. Effects of aqueous extracts of crop residues on germination and seedling growth of ten weed species. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, v.38, p.131-139, 1997.

NEVES, R. *Avaliação do potencial alelopático da canola sobre picão-preto e soja*. 2005. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, 2005.

NORSWORTHY, J. K. Allelopathic potential of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Weed Technology*, v. 17, p. 307-313, 2003.

NORSWORTHY, J. K.; MEEHAN, J. T. Use of isothiocyanates for suppression of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*), pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*), and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*). *Weed Science*, v. 53, p. 884-890, 2005.

OERLEMANS, K.; BARRETT, D. M.; SUADES, C. B.; VERKERK, R. DEKKER, M. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*, v. 95, p. 19–29, 2006.

OLIVEIRA, M. F.; ALVARENGA, R. C.; OLIVEIRA, A. C; CRUZ, J. C. Efeito da palha e da mistura atrazine e metolachlor no controle de plantas daninhas na cultura do milho, em sistema de plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, p. 37-41, 2001.

OSORNIO, J. J.; KUMAMOTO, J.; WASSER, C. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 24, p. 195 – 205, 1996.

PETERS, J. A.; GASTAL, M. F. C.; FINGER, F. L. Estudos das possíveis propriedades alelopáticas da colza (*Brassica napus* L.). In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 14, Campinas, 1982. *Resumos...* Campinas, Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1982. p. 14-15.

PETERSEN, J.; BELZ, R.; WALKER, F.; HURLE, K. Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rap mulch. *Agronomy Journal*, v. 93, p. 37– 43, 2001.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, R. V. Alelopatia. In: OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J. Plantas daninhas e seu manejo. Guaíba: *Agropecuária*, p. 145 –187, 2001.

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, p. 61 – 65, 2001.

PITELLI, R. A.; DURIGAN, J. C.; Ecologia das plantas daninhas no sistema plantio direto. In: Rossello, R. D. *Siembra directa em el cono sur*. Montevideo: PROCISUR, 2001. p. 203-210

PRESTERA, T.; FAHEY J.W.; HOLTZCLAW, D.; ABEYGUNAWARDANA, C.; KACHINSKI, J. L.; TALALAY, P. Comprehensive Chromatographic and Spectroscopic Methods for the Separation and Identification of Intact Glucosinolates. *Analytical Biochemistry*, v. 239, p.168–179, 1996.

PUTNAM, A.R. Weed Allelopathy. In: DUKE, S.O. (Ed.) *Weed Physiology*. Boca Raton: 1987.

PUTNAM, A.R.; DUKE, W.B. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. *Science*, v. 185, p. 370-372, 1974.

RADOSEVICH, S. R.; HOLT, J. S.; GHERSA, C. *Weed ecology: implications for management*. 2 ed New York: Wiley, 1997. 589p.

RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira de Botânica*, v. 29, p. 1-11, 2006.

RANGKADILOK, N.; NICOLAS, M. E.; BENNETT, R.N.; PREMIER, R.R.; EAGLING, D.R.; TAYLOR, P.W.J. Determination of sinigrin and glucoraphanin in *Brassica* species using a simple extraction method combined with ion-pair HPLC analysis. *Scientia Horticulturae*, v. 96, p. 27-41, 2002.

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRA, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews Plant Sciences*, v. 18, p. 577-608, 1999.

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

RIBANI, M. et al, Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, p. 771 - 780, 2004.

RICE, E. L. Allelopathy – an update. *The Botanical Review*, v. 45, p. 15-109, 1979.

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

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.

RIZZARDI, M. A.; FLECK, N. G.; VIDAL, R. A.; MEROTTO JR, A.; AGOSTINETTO, D. Competição por recursos do solo entre ervas daninhas e culturas. *Ciência Rural*, v. 31, p. 707-714, 2001.

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

RODRIGUES, B. N.; PASSINI, T.; FERREIRA, A. G. Research on allelopathy in Brazil. In: NARWAL, S.S. (Ed.) *Allelopathy Update* Enfield, Science Pub., v.1, p.307-323. 1999.

ROSA, E. Glucosinolates from flower buds of Portuguese Brassica crops. *Phytochemistry*, v. 44, p.1415–1419, 1997.

SANTOS, H. P.; REIS, E. M. *Rotação de culturas em plantio direto*. Passo Fundo. Embrapa Trigo, 2001. 212 p

SANTOS, J. C. F.; SOUZA, I. F.; MENDES, A. N. G.; MORAIS, A. R. CONCEIÇÃO, H. E. O.; MARINHO, J. T. S. Efeito de extratos de café e de arroz na emergência e no crescimento do caruru-de-mancha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37, p. 783 -790, 1992.

SAXENA, A.; SINGH, D. V.; JOSHI, N.L. Allelopathy in agroecosystems. *Field Crop Abstracts*, v. 49, p. 891-899, 1996.

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

SILVA, L. F. *Efeitos das culturas antecessoras na supressão e no período crítico para controle de plantas daninhas em milho*. 2005. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, 2005.

SILVEIRA, E. P.; ASSIS, F. N.; GONÇALVES, P. R.; CASTRO, J. R. Época da semeadura da colza no sudeste do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 27, p. 1065- 1072, 1992.

SIMMONDS, N.W. *Evolution of Crop Plants*. London:Longman. London and New York. 1979. 339p.

SOARES, G. L. G.; SCALON, V, R.; PEREIRA, T, O.; VIEIRA, D, A. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. *Floresta e Ambiente*, v. 9, p.119 – 126. 2002.

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, p. 165-170, 1997.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S.M. Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeito sobre plantas daninhas de pastagens. *Planta Daninha*, v. 18, p. 435 – 441, 2000.

SOUZA FILHO, A. P. S. Atividade potencialmente alelopática de extratos brutos e hidroalcoólicos de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*). *Planta Daninha*, v. 20, p. 357 – 64, 2002.

SOUZA FILHO, A. P. S.; PEREIRA, A. A. G.; BAYMA, J. C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. *Planta Daninha*, v.23, p. 25-32, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3. ed. Trad. Eliana Romanato Santarém et al., Porto Alegre: Artmed editora, 2004. 719 p.

THOMPSON, A.C. *The chemistry of allelopathy; biochemical interation among plants*. Washinton, American Chemical Society, 1985. 470 p.

TOMM, G. O. *Situação atual e perspectivas da canola no Brasil*. Passo Fundo: Embrapa –Trigo, 2000. 2p. (Comunicado Técnico. Online, 58). Disponível em : <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p.co58.html>.

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

TROYER, J. K.; STEPHENSON, K. K.; FAHEY, J. W. Analysis of glucosinolates from broccoli and other cruciferous vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 919, p. 299–304, 2001.

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

WILLIAMS, L.; MORRA, M.; BROWN, P.; MCCAFFREY, J. Toxicity of allyl isothiocyanate-amended soil to *limonium californicum*.

(Mann.) (Coleoptera: Elateridae) wireworms. *Journal of Chemical Ecology*, v. 19, p. 1033-1046, 1993.

WU, H.; PRATLEY, J.; LEMERLE, D. HAIG, T. Crop cultivars with allelopathic capability. *Weed Research*, v. 39, p. 171-180, 1999.

YOUNTS, S.E. Canola, a world class oilseed crop. In:INTERNATIONAL CANOLA CONFERENCE, 1990, Atlanta. *Proceedings...* Atlanta: Potash and Phosphate Institute, 1990. p.1-8.

APÊNDICES

Apêndice A – Resumo da análise de variância da porcentagem de germinação (PG) de aquênios de picão-preto, em função dos genótipos e concentrações do extrato de canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006

Fontes de variação	Graus de liberdade	Porcentagem de germinação de aquênios Quadrado Médio
Genótipos	12	539,3*
Concentração	4	16943,8*
Genótipos x Concentração	48	130,5*
Resíduo	195	86,3
C.V. %		26,16

* Significativo a 5% de probabilidade de erro

Apêndice B – Resumo da análise de variância do comprimento da radícula das plântulas de picão-preto, em função dos genótipos e concentrações do extrato do canola. UPF, Passo Fundo, RS, 2006

Fontes de variação	Graus de liberdade	Comprimento da radícula (mm)
		Quadrado Médio
Genótipos	12	39,3*
Concentração	4	1412,5*
Genótipos x Concentração	48	20,8*
Resíduo	195	5,5
C.V. %		25,54

* Significativo a 5% de probabilidade de erro

Apêndice C – Dado referentes às precipitações pluviais ocorridas entre junho de 2005 e abril de 2006. . Embrapa, Passo Fundo, RS, 2006

Dia	Precipitação pluvial (mm)										
	Jun	Jul	ago	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr
	2005						2006				
1	0,0	0,0	0,0	20,3	0,0	0,0	0,0	43,7	0,0	21,6	0,0
2	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0
4	0,0	0,0	0,0	13,3	42,4	0,0	0,0	0,0	0,0	6,6	0,0
5	0,0	4,3	0,0	11,4	78,4	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	7,2	16,0	0,0	20,8	0,0	7,6
7	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	9,0	0,0	0,0	2,3	0,0	0,1
8	0,0	0,0	26,4	0,0	27,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	0,0	0,0	8,5	0,0	9,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,4
10	0,0	0,0	2,3	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	6,3	3,0
11	0,2	0,0	0,0	19,0	0,0	16,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0
12	60,0	0,0	0,0	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
13	29,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,0	0,0	0,0
14	83,9	0,0	0,0	0,2	11,4	0,0	0,0	7,5	0,0	0,0	0,0
15	0,4	0,0	0,0	24,6	20,5	0,0	0,0	0,0	46,0	0,0	0,8
16	36,7	7,9	0,0	1,4	60,6	0,0	5,4	0,0	8,4	0,0	1,3
17	24,7	53,8	0,0	0,0	73,2	17,9	21,6	0,0	0,5	0,0	0,0
18	14,6	1,5	8,7	1,4	0,1	15,6	0,0	12,1	0,0	0,0	0,0
19	0,0	0,0	0,0	2,6	0,0	0,3	0,0	2,4	0,0	27,6	0,0
20	5,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,8	32,9	0,0	32,4	0,0
21	0,0	0,0	27,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,2	7,4	0,0
22	0,0	14,9	1,6	0,0	0,2	0,0	0,0	5,3	0,0	2,0	23,8
23	0,0	1,3	0,0	0,1	0,1	12,2	0,0	2,7	0,0	10,8	0,0
24	0,0	0,0	27,2	10,8	0,0	51,8	28,9	5,9	18,3	16,4	0,0
25	0,0	0,0	0,2	34,8	10,7	13,2	0,0	5,1	1,5	0,0	0,0
26	3,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	9,6	4,0	0,0	8,0
27	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
28	11,7	0,0	0,0	0,0	44,1	0,0	0,0	4,0	0,0	1,0	0,0
29	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0		32,5	0,0
30	1,5	0,0	23,0	6,1	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0
31		0,0	10,3		3,4		3,7	0,0		0,0	
TOTAL	273,1	83,7	135,4	152,7	384,8	146,0	81,6	132,2	111,1	164,6	55,0

Fonte: Embrapa Trigo/ Passo Fundo.