

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA
CURSO DE MESTRADO EM AGROECOLOGIA

HAYLA DEVANNE SANTOS SIQUEIRA

**SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO E ALELOPATIA DE LEGUMINOSAS
ARBÓREAS NA GERMINAÇÃO E NO CRESCIMENTO DO MILHO (*Zea mays* L.)**

São Luís – Maranhão

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

HAYLA DEVANNE SANTOS SIQUEIRA

Engenheira Agrônoma

**SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO E ALELOPATIA DE LEGUMINOSAS
ARBÓREAS NA GERMINAÇÃO E NO CRESCIMENTO DO MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, para obtenção do título de Mestre em Agroecologia.

Orientador: Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima
Ferraz Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. Mariano Oscar Aníbal
Ibañez Rojas

São Luís – Maranhão

2008

Siqueira, Hayla Devanne Santos

Substâncias húmicas do solo e alelopatia de leguminosas arbóreas na germinação e no crescimento do milho (*Zea Mays* L.) / Hayla Devanne Santos Siqueira. – São Luis, 2008.

70f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Curso em Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima Ferraz Júnior

1. Alelopatia 2. Leguminosas 3. Substâncias húmicas 4. Milho
I.Titulo

CDU: 633.15.154.7.1/2

HAYLA DEVANNE SANTOS SIQUEIRA

**SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO E ALELOPATIA DE LEGUMINOSAS
ARBÓREAS NA GERMINAÇÃO E NO CRESCIMENTO DO MILHO (*Zea mays* L.)**

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima Ferraz Júnior - UEMA

Prof. Dr. José Ribamar Gusmão Araújo - UEMA

Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho - UFMA

Aos meus amados pais, José Ribamar Siqueira e Maria Santos Siqueira, que, depois de Deus, são o grande alicerce da minha vida. Obrigada pelos suportes emocional, espiritual, intelectual e financeiro. Sem vocês, eu não teria conseguido. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Sendo difícil apresentar nestas poucas páginas os merecidos agradecimentos àqueles que colaboraram na realização deste trabalho, tive que ser sucinta e talvez até injusta, deixando de citar alguns colaboradores. Mas, apesar das restrições do espaço, não poderia deixar de agradecer:

A Jesus Cristo, meu único Senhor, por ser a minha fonte inesgotável de vida, de amor, de força e de ânimo. Porque dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas.

Ao CNPq, pela bolsa concedida, o que me permitiu trabalhar com tranquilidade.

Ao Prof. Dr. Altamiro Souza de Lima Ferraz Júnior, meu orientador, por ter me recebido como sua orientanda e por ter me conduzido com competência e paciência até o fim desta jornada.

À Prof^a. Msc. Josilda Junqueira Aires, minha eterna mestra, pela orientação, ainda que não oficializada, e pelo auxílio nas análises de sementes e plântulas.

Ao Prof. Dr. Mariano Oscar Aníbal Ibañez Rojas, pela participação decisiva no início dos experimentos, o que me possibilitou continuar com segurança.

Aos colegas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Msc. Ademir Fontana (doutorando) e Eng. Arcângelo Loss (mestrando), pela disposição e prestatividade em me orientar quanto à extração e ao fracionamento da matéria orgânica do solo.

Aos funcionários do Laboratório de Análises de Sementes da UEMA, Seu José Maria e Júnior, pela amizade e pelo constante auxílio durante a primeira fase da pesquisa.

À equipe do Laboratório de Análises de Química do Solo da UEMA, coordenada pelo Msc. João Reis, pelo grande auxílio nos procedimentos realizados com solo.

Ao estimado colega e Engenheiro Agrônomo Uílio, por ter me cedido o seu veículo para transportar material usado nos experimentos e pelas muitas horas de discussões filosóficas.

Aos colegas e estagiários do Laboratório de Química (Nº 5) do CEFET-MA, Daniel e Adriany, pela ajuda na preparação dos extratos e por terem feito do cansaço físico, motivo de descontração, já tendo sido, há muito, excedido o horário de expediente.

Aos trabalhadores da Fazenda Escola da UEMA, com destaque para o “Joãozinho”, pela força nos trabalhos braçais e pela simpática presença nos dias mais exaustivos.

Aos funcionários do Núcleo Tecnológico de Engenharia Rural (NTER), pela prestatividade, entre os quais destaco o “Seu Zé”, que me ofereceu algo ainda mais valioso que a sua ajuda: a sua amizade.

Ao Prof. Dr. Vitor Elias Mouchreck Filho, pela boa vontade em abrir as portas do seu laboratório sempre que precisei.

Ao Prof. Dr. José Ribamar Gusmão Araújo, pela sua relevante participação como membro da Banca Examinadora deste trabalho.

Aos estudantes de Agronomia, Ricardo e Bruno, gêmeos até na disposição para trabalhar, quando requisitados.

Aos meus amados familiares, Hádila Cunha, Haldna Campos, Giovanna Cunha, Ezequias Cunha, Reginaldo Campos e Valdilene Gonçalves (considerada), porque, inúmeras vezes, pude contar com a preciosa ajuda de cada um deles.

À minha “tia” Stella Rodrigues e à minha amiga Fabíola Medeiros, pela presença constante e por me terem aberto as portas de sua casa sempre que solicitei ajuda e apoio.

E finalmente, aos meus queridos amigos e parceiros de jornada, Mônica Reis e José Peregrino, pelo incentivo e pelos laços de amizade, carinho e respeito que mantemos, e também aos colegas de mestrado, Andréa Amorim, Levy Geralte, Ceália Cristine e Raimunda Balata, pelo companheirismo e boa vontade em cooperar, sempre que solicitados.

SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DO SOLO E ALELOPATIA DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS NA GERMINAÇÃO E NO CRESCIMENTO DO MILHO (*Zea mays* L.)

RESUMO

A alelopatia é um fenômeno no qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, resultando em interações químicas que afetam, benéfica ou prejudicialmente, a germinação e o desenvolvimento de outras plantas. Os ácidos húmicos e fúlvicos do solo são importantes componentes abióticos da matéria orgânica do solo. Existem amplas evidências de que essas substâncias são absorvidas pelas plantas e incorporadas aos seus tecidos, onde elas podem interferir diretamente em diversos processos metabólicos podendo reduzir os efeitos alelopáticos sobre as culturas. A pesquisa foi dividida em dois experimentos. O primeiro, com o objetivo de investigar o potencial alelopático das leguminosas sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) e leucena (*Leucaena leucocephala*) sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de milho. O segundo, com o intuito de tentar inibir o efeito alelopático do sombreiro, já comprovado, sobre o milho, utilizando as substâncias húmicas do solo. Para a avaliação do potencial alelopático, utilizaram-se extratos aquosos de folhas frescas de ambas as leguminosas, em diferentes concentrações (0%, 25%, 50%, 75% e 100%). Em ambos os experimentos, os testes de germinação e crescimento foram realizados com as sementes de milho dispostas em bandejas, sendo 50 sementes por bandeja. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 9 tratamentos e 4 repetições, totalizando 36 bandejas e 1800 sementes. Para o teste de inibição da alelopatia, utilizou-se o extrato aquoso do sombreiro, nas concentrações 0%, 50% e 100%, misturadas a diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (20%, 30% e 40%). O delineamento também foi inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 3 repetições, num total de 63 bandejas e 3150 sementes. O extrato de leucena não indicou diferenças significativas nos percentuais de plântulas normais, anormais e no comprimento de plântulas. Entretanto, observou-se um leve estímulo na germinação e no crescimento do milho. Efeitos prejudiciais moderados foram constatados apenas em altas concentrações do extrato e somente no comprimento das radículas e no peso seco de plântulas e radículas. O extrato de sombreiro exerceu efeito alelopático inibitório sobre a germinação das sementes e o crescimento das plântulas de milho, em todas as concentrações testadas. O fator determinante desse efeito foi a anormalidade de plântulas, constatada, principalmente, nas raízes atrofiadas. No geral, os ácidos fúlvicos e húmicos do solo mostraram-se eficientes em inibir a ação alelopática do sombreiro sobre o milho. Contudo, em algumas variáveis analisadas, notou-se que os ácidos fúlvicos demonstraram maior potencial inibitório dessa ação fitotóxica.

Palavras-chave: alelopatia, leguminosas, substâncias húmicas, milho.

HUMIC SUBSTANCES OF THE SOIL AND ALLELOPATHY OF LEGUMINOUS IN THE GERMINATION AND THE GROWTH OF THE CORN (*Zea mays* L.)

ABSTRACT

The allelopathy is a phenomenon in which products of the secondary metabolism of vegetal determined one are set free, resulting in chemical interactions that affect, beneficially or harmfully, the germination and the development of other plants. The humic and fulvic acid of the soil are important abiotic components of the organic substance of the soil. Ample evidences exist of that these substances are absorbed by the plants and incorporated to its tissues, where they can intervene directly with diverse metabolic processes being able to reduce the allelopathic effect on the cultures. The research was divided in two experiments. The first one, with the objective to investigate the allelopathic potential of the leguminous sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) and leucaena (*Leucaena leucocephala*) on the germination of seeds and the growth of corn seedlings. The second, with intention to try to inhibit the allelopathic effect of the sombreiro already proven on the corn, using humic substances of the soil. For the evaluation of the allelopathic potential, aqueous leaf extracts had been used of both the leguminous, in different concentrations (0%, 25%, 50%, 75% and 100%). In both the experiments, the tests of germination and growth had been carried through with the seeds of corn made use in trays, being 50 seeds for tray. The experimental design was totally randomized, with 9 treatments and 4 repetitions, totalizing 36 trays and 1800 seeds. For the test of inhibition of the allelopathy, the aqueous extract of the sombreiro was used, in concentrations 0%, 50% and 100%, mixed the different concentrations of fulvic and humic acid of the soil (20%, 30% and 40%). The experimental design also was totally randomized, with 21 treatments and 3 repetitions, in a total of 63 trays and 3150 seeds. The leucaena extract did not indicate significant differences in the normal, abnormal percentages of seedlings and in the length of seedlings. However, a light stimulator in the germination and the growth of the corn was observed. Moderate harmful effect had been evidenced only in high concentrations of the extract and only in the length of the radicle and the dry weight of seedlings and radicle. The sombreiro extract exerted inhibitory allelopathic effect on the germination of the seeds and the growth of corn seedlings, in all the tested concentrations. The determinative factor of this effect was the abnormality of seedlings, evidenced, mainly, in the atrophied roots. In the generality, the fulvic and humic acid of the soil had revealed efficient in inhibiting the allelopathic action of the sombreiro on the corn. However, in some variable analyzed, the fulvic acid had demonstrated inhibitory potential greater of this phytotoxic action.

Key words: allelopathy, leguminous, humic substances, corn.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Sombreiro: 1a. Árvore de sombreiro; 1b. Folhas e flores de sombreiro....	12
2	Leucena: 2a. Árvore de leucena; 2b. Folhas e flores de leucena.....	14
3	Bandejas com areia esterilizada.....	24
4	Plântulas de milho aos sete dias de semeadura.....	24
5	Separação e secagem das plântulas de milho: 5a. Plântulas de milho separadas em sacos de papel; 5b. Secagem das plântulas na estufa.....	25
6	Fração ácidos húmicos e fração ácidos fúlvicos do solo.....	27
7	Plântulas de milho somente em água destilada (testemunha).....	32
8	Plântulas de milho com extrato de sombreiro: 2a. Plântulas de milho com 25% do extrato de sombreiro; 2b. Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro; 2c. Plântulas de milho com 75% do extrato de sombreiro; 2d. Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro.....	32
9	Plântulas de milho com extrato de leucena: 3a. Plântulas de milho com 25% do extrato de leucena; 3b. Plântulas de milho com 50% do extrato de leucena; 3c. Plântulas de milho com 75% do extrato de leucena; 3d. Plântulas de milho com 100% do extrato de leucena.....	36
10	Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro, sem substâncias húmicas.....	40
11	Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro + ácidos fúlvicos: 5a. 50% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos fúlvicos; 5b. 50% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos fúlvicos; 5c. 50% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos fúlvicos.....	40
12	Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro + ácidos húmicos: 6a. 50% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos húmicos; 6b. 50% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos húmicos; 6c. 50% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos húmicos.....	40
13	Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro, sem substâncias húmicas.....	43

14	Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro + ácidos fúlvicos: 8a. 100% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos fúlvicos; 8b. 100% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos fúlvicos; 8c. 100% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos fúlvicos.....	44
15	Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro + ácidos húmicos: 9a. 100% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos húmicos; 9b. 100% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos húmicos; 9c. 100% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos húmicos.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela		Páginas
1	Características químicas do argissolo vermelho amarelo quartzarênico.....	22
2	Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações dos extratos de sombreiro (ES) e de leucena (EL).....	31
3	Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (v/v), sem extrato de sombreiro.....	39
4	Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (v/v), com 50% do extrato de sombreiro.....	41
5	Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (v/v), associadas ao extrato de sombreiro 100% concentrado.....	43

SUMÁRIO

	Página
1	INTRODUÇÃO..... 1
2	REVISÃO DE LITERATURA..... 3
2.1	Alelopatia..... 3
2.2	Aleloquímicos: natureza e formas de ação..... 4
2.3	Avaliação do potencial alelopático de espécies vegetais..... 7
2.4	Alelopatia em sistemas agroflorestais..... 8
2.4.1	Potencial alelopático do sombreiro..... 11
2.4.2	Potencial alelopático da leucena..... 13
2.5	Alelopatia x Substâncias húmicas do solo..... 14
2.5.1	Substâncias húmicas do solo: definições e classificação..... 14
2.5.2	Importância das substâncias húmicas para o solo e para as plantas..... 17
2.5.3	Fitotoxicidade dos aleloquímicos no solo..... 18
2.5.4	Influência das substâncias húmicas do solo sobre a fitotoxicidade dos aleloquímicos..... 20
3	MATERIAL E MÉTODOS..... 22
3.1	Experimento 1: avaliação dos efeitos alelopáticos da leucena e do sombreiro sobre a germinação e o crescimento de sementes de milho..... 22
3.1.1	Preparo das soluções..... 22
3.1.2	Tratamentos..... 23
3.1.3	Bioensaios de germinação e crescimento..... 23
3.1.4	Delineamento experimental..... 25
3.1.5	Análise estatística..... 25
3.2	Experimento 2: testes de reversão dos efeitos alelopáticos do sombreiro no milho por meio do uso de substâncias húmicas do solo..... 25
3.2.1	Preparo das soluções..... 25
3.2.1.1	<i>Soluções de ácidos húmicos e fúlvicos do solo.....</i> 26
3.2.1.2	<i>Soluções de EBA do sombreiro.....</i> 27
3.2.2	Tratamentos..... 28
3.2.3	Bioensaios de germinação e crescimento..... 29
3.2.4	Delineamento experimental..... 30
3.2.5	Análise estatística..... 30

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1	Experimento 1.....	31
4.1.1	Influência do extrato de sombreiro.....	31
4.1.2	Influência do extrato de leucena	34
4.1.3	Comparação dos efeitos de ambas as leguminosas.....	37
4.2	Experimento 2.....	38
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
6	CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

Na natureza, os organismos vivos interagem constantemente entre si e com o meio do qual fazem parte. As plantas, por exemplo, competem por luz, água e nutrientes, revelando uma concorrência constante entre as espécies que vivem em comunidade. Essa concorrência contribui para a sobrevivência das espécies no ecossistema, e algumas desenvolvem mecanismos de defesa que se baseiam na síntese de determinados metabólitos secundários liberados no ambiente e que irão interferir em alguma etapa do ciclo de vida de uma outra planta (SAMPIETRO, 2007).

A alelopatia pode ser definida como um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, resultando em interações químicas que afetam, benéfica ou prejudicialmente, a germinação e o desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas (SOARES, 2000). Os compostos químicos que possuem atividade alelopática são chamados de aleloquímicos, substâncias alelopáticas, fitotoxinas ou apenas produtos ou metabólitos secundários. Estas substâncias estão presentes em todos os tecidos das plantas (incluindo folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes) e podem agir prejudicando processos essenciais para a germinação, crescimento e desenvolvimento de outras espécies vegetais (GLIESSMAN, 2001).

Todos os órgãos da planta têm potencial para armazenar aleloquímicos, mas a quantidade e o caminho pelos quais são emitidos diferem de espécie para espécie. Os recentes avanços na química de produtos naturais, por meio de métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação, têm contribuído bastante para um maior conhecimento desses compostos, os quais podem ser agrupados de diversas formas (FERREIRA e AQUILA, 2000). A produção de aleloquímicos pelas plantas pode ser regulada por diversos fatores ambientais, como a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de água e nutrientes, a textura do solo e seus componentes bióticos e abióticos (INDERJIT, 2001; KOBAYASHI, 2004).

Os sistemas agroflorestais (SAFs) são sistemas de produção agrícola que associam espécies arbóreas com a agricultura (FERRAZ JÚNIOR et al., 2006). Rizvi et al. (1999), enfatizaram a importância dos SAFs para o uso sustentável da terra e o aumento da produtividade agrícola. Porém, um fator importante que tem sido apontado como limitante ao sucesso desses sistemas é a produção de metabólitos secundários por raízes e folhas de várias espécies de leguminosas usadas em SAFs.

O sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) e a leucena (*Leucaena leucocephala*) são plantas da família das leguminosas, muito utilizadas pelos agricultores em sistema agroflorestais simultâneos com culturas anuais, onde os ramos são periodicamente podados e utilizados como cobertura morta e adubo verde (FERRAZ JÚNIOR, 2000). Nestas associações, o conhecimento do potencial alelopático das espécies envolvidas é de essencial importância para o sucesso dos sistemas agroflorestais.

Nesse contexto, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas para identificar, compreender e avaliar as atividades alelopáticas dessas leguminosas. Porém, a maioria delas está voltada para a leucena, sendo já possível encontrar na literatura vários registros sobre a presença de um aminoácido não-protéico nos tecidos dessa planta. Esse aleloquímico é denominado mimosina e apresenta alta toxicidade (PRATES et al., 2000). Para o sombreiro, especificamente, ainda não foram realizados muitos experimentos com o intuito de avaliar seus efeitos fitotóxicos sobre outras espécies vegetais, embora estes efeitos já tenham sido comprovados em alguns estudos. Portanto, há necessidade de se investigar as interações entre planta, solo e cultura visando otimizar o uso dessas leguminosas nos agroecossistemas (SOARES et al., 2002).

As substâncias húmicas (SH) do solo são formadas por duas principais frações, os ácidos húmicos e os ácidos fúlvicos, que são os principais componentes abióticos da matéria orgânica do solo, conhecidos por exercerem entre outras funções, importantes efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos na germinação de sementes e crescimento de plântulas. Existem amplas evidências de que substâncias húmicas, de baixo peso molecular, são absorvidas pelas plantas e incorporadas aos seus tecidos, onde elas podem interferir diretamente em diversos processos metabólicos podendo reduzir os seus efeitos adversos sobre as culturas (LULAKIS e PETSAS, 1995; LOFFREDO et al., 2005).

O presente trabalho objetivou investigar as potencialidades alelopáticas de extratos aquosos de folhas de sombreiro e de leucena sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de milho e, ainda, avaliar a possibilidade de reversão dos efeitos alelopáticos do sombreiro sobre o milho pela utilização de substâncias húmicas do solo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alelopatia

Segundo Fujii et al. (2004), o termo alelopatia foi criado pelo pesquisador australiano Hans Molisch (1937), pela união das palavras gregas *allélon* e *pathos* (que significam, respectivamente, mútuos e prejuízo). Ele definiu alelopatia como “a capacidade das plantas superiores ou inferiores de produzir substâncias químicas que, liberadas no ambiente de outras, influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento”. Fujii et al. (2004) relataram, ainda, que três décadas mais tarde, Tukey (1969) explicou que este era um fenômeno pelo qual plantas alelopáticas liberam compostos químicos através de exsudação de raízes, lixiviação de folhas e hastes, e volatilização de folhas e tecidos em deterioração.

Rice (1984) definiu o termo alelopatia como o efeito, direto ou indireto, prejudicial e/ou benéfico, que uma planta (incluindo microrganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente.

A Sociedade Internacional de Alelopatia explica a atividade alelopática como um processo envolvendo metabólitos especiais (aleloquímicos) produzidos por plantas, microorganismos, vírus e fungos que influenciam o crescimento e o desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos (TORRES et al., 1996). Atualmente, o conceito engloba o reino animal com o reconhecimento de que a alelopatia envolve as plantas e os animais (TOKURA e NÓBREGA, 2005).

Segundo Soares (2000), os aleloquímicos são produtos do metabolismo secundário das plantas, com a função de defesa e/ou proteção e participam de importantes funções vitais como mediadores de interações ecológicas, influenciando a dominância e a sucessão das plantas, a formação de comunidades, a vegetação clímax, o manejo e a produtividade de culturas.

A interação alelopática, responsável pelo estabelecimento e sobrevivência de certas espécies no ambiente, é feita por um mecanismo de defesa das plantas que vem sendo adquirido ao longo de um processo de evolução. As fitoalexinas, por exemplo, são barreiras químicas responsáveis pela resistência das plantas ao ataque de microrganismos causadores de doenças (CASTRO e FERREIRA, 2001).

Atualmente, tem aumentado o interesse na exploração da alelopatia como uma alternativa estratégica, principalmente para o controle de plantas invasoras, mas também, de insetos e patógenos. Plantas indesejáveis podem ser controladas por outras capazes de

exsudar aleloquímicos ou pela incorporação de resíduos de plantas com alto teor de aleloquímicos no solo (ALVES et al., 2003).

Todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie, ou de um local de ocorrência, ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles têm sua síntese desencadeada por eventos aos quais as plantas estão expostas. A resistência ou tolerância aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos é mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que outras (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Alves (1992) afirmou ser difícil isolar os efeitos dos vários processos pelos quais as plantas afetam umas às outras, principalmente os efeitos da competição e da alelopatia. Porém, ele explicou que a competição entre plantas reduz ou remove do ambiente um fator de crescimento necessário à outra planta no mesmo ecossistema (água, luz e nutrientes), enquanto a alelopatia ocorre à adição de um fator ao meio.

Diante da variedade da atuação dos compostos secundários, principalmente na ação alelopática, os aleloquímicos podem ser considerados como um recurso para o desenvolvimento de herbicidas naturais ou de um estimulante para o crescimento de algumas plantas (GATTI et al., 2004).

A maioria dos trabalhos relata que os efeitos dos compostos alelopáticos se relacionam aos processos fisiológicos da planta receptora e, de maneira geral, agem como inibidores da germinação e do crescimento (AIRES et al., 2005; SOUZA FILHO et al., 2003; TAWAHA e TURK, 2003). Porém, alguns trabalhos demonstraram que estes compostos podem atuar como promotores de crescimento (ALVES et al., 2004; MORITA et al., 2005; SOARES et al., 2002). Aparentemente, isso indica que muitos compostos orgânicos que são inibitórios em alguma concentração, são estimulantes quando presentes em outras concentrações (TAWAHA e TURK, 2003).

2.2 Aleloquímicos: natureza e formas de ação

As plantas produzem e estocam grande número de compostos químicos, 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 (RICE, 1987). As substâncias químicas com potencial alelopático são produtos do metabolismo secundário das plantas, chamados de aleloquímicos, fitotoxinas, substâncias alelopáticas ou apenas metabólitos secundários (GATTI et al., 2004).

Embora não se saiba com exatidão o número total de metabólitos produzidos (estimativas apontam para algo em torno de 400.000), vários tipos de compostos orgânicos foram identificados como aleloquímicos produzidos por plantas superiores ou microrganismos. Alguns deles são provenientes da rota metabólica do acetato mevalonato, como os terpenos, esteróides, ácidos orgânicos solúveis em água, aldeídos alifáticos, cetonas, ácidos graxos de cadeia longa, poliactilenos, naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas; enquanto que, os fenóis simples, ácidos benzóicos e derivados, ácidos cinâmicos e derivados, cumarinas, aminoácidos, polipeptídeos sulfetos e glicosídeos, alcalóides, cianidrina, flavonóides, purinas e nucleosídeos, derivados de quinonas e taninos hidrolizáveis e condensados provêm da rota metabólica do ácido chiquímico (REZENDE et al., 2003).

Conquanto muito se tenha avançado em relação ao entendimento dos aspectos básicos que regem o fenômeno alelopatia, pouco se sabe a respeito dos mecanismos que regulam o padrão de produção e de distribuição dos aleloquímicos na planta, bem como sobre os fatores que interferem nos resultados. As informações disponíveis mostram que substâncias químicas com atividade alelopática estão presentes em todos os órgãos das plantas: folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes (SOUZA FILHO et al., 1997). Entretanto, a distribuição das substâncias não é uniforme, havendo variações em função da espécie e do órgão da planta analisado (INDERJIT, 2001; KOBAYASHI, 2004). Com relação às variações na alocação dessas substâncias na parte aérea e nas raízes, em função da idade de crescimento, Wardle (1987) sugeriu que algumas plantas são provavelmente alelopáticas apenas em certos estádios de seu ciclo.

A produção de aleloquímicos pelas plantas pode ser regulada por diversos fatores ambientais, como temperatura, intensidade luminosa, disponibilidade de água e nutrientes, textura do solo e microrganismos presentes. A influência de outros fatores, como radiação UV, doenças e ataque de insetos, por exemplo, modificam diretamente a taxa de produção dos aleloquímicos. Além disso, os fatores relacionados ao estresse podem aumentar a atividade biológica referente aos aleloquímicos (TONGMA et al., 2001). Kong et al. (2002) verificaram que o efeito alelopático de *Ageratum conyzoides* sobre várias espécies foi aumentado, quando a planta foi colocada em condições de déficit nutricional e competição.

A ação dos vários aleloquímicos está envolvida na inibição e em modificações nos padrões de crescimento ou desenvolvimento das plantas. As informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas ainda são poucas. Uma das grandes dificuldades que se apresenta, é que sua ação não é muito específica, podendo uma mesma substância desempenhar várias funções ou só atuar quando em presença de outras, em combinações e

proporções específicas, e provocar efeitos secundários difíceis de distinguir dos principais. A inibição tipicamente alelopática resulta da ação combinada de grupos de aleloquímicos que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos (EINHELLING, 1996).

Seigler (1996) sugeriu que os aleloquímicos podem ser seletivos em suas ações e as plantas podem ser seletivas em suas respostas, também por este motivo torna-se difícil sintetizar o modo de ação destes compostos. No entanto, vários autores listaram inúmeros mecanismos de ação dos aleloquímicos, que afetam vários processos fisiológicos das plantas (EINHELLING, 1996; INDERJIT, 2001; KOBAYASHI, 2004; REIGOSA et al., 1999). Os compostos alelopáticos podem afetar processos, tais como: germinação de sementes, crescimento de plântulas, assimilação de nutrientes, fotossíntese, respiração, síntese de proteína, atividade de várias enzimas e perda de nutrientes pelos efeitos na permeabilidade da membrana celular (TONGMA et al., 2001).

De acordo com Caamal-Maldonado et al. (2001), os metabólitos secundários podem apresentar função defensiva, ajudando no crescimento da planta que o produz. Estes compostos possuem função ecológica de defender a planta contra herbívoros e atuam como atrativos para polinizadores, feromônio, além da ação alelopática.

Diante da variedade da atuação dos compostos secundários, principalmente na ação alelopática, os aleloquímicos podem ser considerados como um recurso para o desenvolvimento de herbicidas naturais ou de um estimulante para o crescimento de algumas plantas (FERREIRA e AQUILA, 2000; MORITA et al., 2005).

Segundo Souza Filho e Alves (2002), os compostos alelopáticos são inibidores de germinação e crescimento, pois interferem na divisão celular, permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas. Para Gatti et al. (2004), alguns compostos químicos têm atividade alelopática inibitória em altas concentrações e, em menores, podem estimular o mesmo processo. E que os aleloquímicos podem atuar em vários processos simultaneamente e ter uma resposta diferenciada para o mesmo ou para diferentes processos, dependendo da concentração deste composto.

Estudar os mecanismos de ação das substâncias potencialmente alelopáticas é importante para se entender as interações entre plantas, tanto nos ecossistemas naturais, como nos agrícolas, uma vez que a atividade alelopática pode envolver interações entre componentes abióticos e bióticos, estes através de múltiplos compostos que podem ter relações sinérgicas que potencializam suas ações (INDERJIT, 2001; OLOFSDOTTER e MALLIK, 2001).

2.3 Avaliação do potencial alelopático de espécies vegetais

Para constatar a ação alelopática os bioensaios têm grande importância, pois alguns parâmetros podem ser controlados (como temperatura e disponibilidade de água) para investigar os mecanismos que estão interagindo. Uma das formas mais usadas para se estudar a alelopatia é utilizar extratos aquosos de parte(s) da planta, sendo as folhas e as raízes as mais comuns, por conterem maior quantidade de substâncias fitotóxicas (ELJARRAT e BARCELÓ, 2001).

A germinação de sementes e o crescimento de plântulas são as variáveis mais analisadas nos testes alelopáticos com extratos aquosos. Isso porque, a emergência e o crescimento da plântula são as fases mais suscetíveis do desenvolvimento vegetal, pois nelas ocorrem rápidas mudanças fisiológicas (AERTS et al., 1991). As substâncias alelopáticas podem inibir a germinação, induzir o aparecimento de plântulas anormais e/ou ainda prejudicar o crescimento das mesmas. Muitos parâmetros são usados para avaliar o crescimento, sendo o comprimento e a massa seca de raiz e da parte aérea os mais utilizados (FUJII et al., 2004).

Os extratos aquosos das folhas de *Caesalpinia pluviosa* DC. (Caesalpinaceae), *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Caesalpinaceae), *Mimosa artemisiana* Heringer & Paula (Mimosaceae), *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Macbr. (Mimosaceae), *Clitoria fairchildiana* (Fabaceae) e *Erythrina speciosa* Andrews (Fabaceae) foram usados em sementes de alface (*Lactuca sativa*). A maioria das espécies testadas inibiu o desenvolvimento radicial da alface, mas apenas *Mimosa artemisiana* afetou sua germinação (SOARES et al., 2002).

Souza Filho et al. (2003) analisaram as variações nos efeitos alelopáticos do calopogônio (*Calopogonium mucunoides*) em função da idade de coleta das raízes e parte aérea dessa leguminosa forrageira e da densidade de sementes de *Mimosa pudica* (malícia), *Urena lobata* (malva), *Senna obtusifolia* (mata-pasto) e *Senna occidentalis* (fedegoso). A pesquisa revelou que a intensidade dos efeitos alelopáticos mostrou-se crescente com a idade da leguminosa (planta doadora) e decrescente com a densidade de sementes das espécies invasoras (plantas receptoras).

Na avaliação da atividade alelopática de extratos aquosos de carqueja (*Baccharis trimera* Less. DC) e confrei (*Symphytum officinale* L.) em sementes de soja e milho, foram observados efeitos alelopáticos dos extratos brutos de ambas as espécies medicinais na

germinação de sementes e no crescimento de plântulas, tanto de milho quanto de soja, mesmo em concentrações baixas (CLAUDINO e CARVALHO, 2004).

Os extratos de alcalóides glicosilados totais e de solasonina dos frutos verdes de *Solanum crinitum* mostraram elevada atividade inibitória sobre a germinação e o desenvolvimento das plântulas de alface, sendo a solasonina mais ativa (ALVES et al., 2003).

Soares e Vieira (2000) investigaram a atividade alelopática de cinco espécies de Gleicheniaceae, através da ação de extratos aquosos sobre a germinação e desenvolvimento radicular de alface. As plantas doadoras testadas, foram: *Dicranopteris flexuosa* (Schrader) Underw., *Gleicheniella pectinata* (Willd.) Ching, *Sticherus bifidus* (Willd.) Ching, *Sticherus penniger* (Mart.) Copel., *Sticherus nigropaleaceus* (Sturm.) J. Prado & Lellinger e os autores constataram forte inibição das variáveis analisadas.

Fagioli et al., (1997) avaliaram o potencial alelopático de *Brachiaria decumbens* e de *B. brizantha* sobre a germinação e o vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan*), utilizando extratos aquosos das braquiárias, nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% (v/v). Constataram que os extratos de ambas as braquiárias apresentaram efeito inibitório no comprimento e produções de matéria seca da radícula e da parte aérea.

Segundo Inderjit (2001), os resultados obtidos em laboratórios devem ser inseridos em contexto mais geral para que não se crie uma distância entre os ensaios laboratoriais e o ambiente natural.

2.4 Alelopátia em sistemas agroflorestais

Cada vez mais se torna necessário que a agropecuária se desenvolva em harmonia com o ambiente para manter o equilíbrio ecológico e proporcionar condições satisfatórias de sobrevivência ao homem. Nesse sentido, a Agroecologia propõe sistemas de produção que têm como objetivo garantir que os agroecossistemas sejam produtivos, competitivos e sustentáveis ao longo do tempo (LEITE, 2002).

Os sistemas agroflorestais (SAFs) são sistemas de produção que combinam árvores (especialmente leguminosas) e culturas alimentícias (ALTIERI, 2002). Bene et al. (1977) definiram os sistemas agroflorestais como um manejo sustentável da terra que permite incrementar a produção total, combinando agricultura, plantação de espécies florestais e frutíferas e ou animais simultânea ou seqüencialmente, e que seja compatível com o padrão cultural da população da região. Nair (1999) afirmou que a agrossilvicultura é o uso da terra que envolve retenção deliberada de árvores, introdução ou mistura de árvores, ou arbustos nos

campos de produção agrícola ou pecuária e que permite obter benefícios a partir das interações ecológicas e econômicas que acontecem nesse processo.

Os SAFs frequentemente são mencionados como um tipo de agricultura sustentável (ALFAIA et al., 2003). A adoção desses sistemas pode reduzir as queimadas, aumentar a diversidade de espécies, preservar os ciclos dos nutrientes e manter níveis razoáveis de produtividade. Esses sistemas podem, ainda, promover a integração de áreas rurais, considerando a participação das comunidades locais na procura de soluções comuns para o desenvolvimento sustentado, assegurando o acesso e a utilização racional dos recursos naturais (COSTA et al., 2002).

O sistema de cultivo em aléias, também chamado de “alley cropping”, é um dos sistemas agroflorestais mais simples. Trata-se, essencialmente, do cultivo de uma cultura alimentar plantada entre aléias (linhas) de espécies arbóreas, cujos ramos são cortados periodicamente e usados como fonte de nutrientes e cobertura morta (LEITE, 2002).

Nesse modelo, árvores de leguminosas são as preferidas por serem praticamente independentes de influxos de N inorgânico dissolvido na solução do solo, pois retiram o N_2 da atmosfera através da fixação biológica de nitrogênio. As leguminosas também fazem associação com fungos micorrízicos, o que pode melhorar sobremaneira a absorção de nutrientes, principalmente do fósforo, por ser de baixa mobilidade no solo. Apresentam também maior profundidade do sistema radicular, lhes conferindo capacidade para absorver água e nutrientes que estejam fora do alcance das raízes de culturas anuais, além de apresentarem vantagem em relação a outras espécies, na intensidade do processo de imobilização, que consiste na absorção e metabolização dos nutrientes nas raízes, caules e folhas. Considerando ainda que os resíduos de leguminosas apresentam baixa relação C/N, pode-se afirmar que essas plantas têm uma vantagem adicional no processo reverso: a mineralização da matéria orgânica (FERRAZ JÚNIOR, 2000).

Esse sistema tem sido estudado em áreas experimentais de vários locais, comprovando, através de experimentos de longa duração, a sua sustentabilidade quando consorciado a culturas de interesse econômico. Esse modelo de produção melhora as propriedades físico-químicas e biológicas do solo e resulta em diversos benefícios para a cultura associada, os quais incluem: o aporte de matéria orgânica que causa a melhoria da estrutura e da porosidade do solo, favorecendo a disponibilidade de água e oxigênio; o tamponamento das temperaturas do solo, o que favorece a atividade biológica; o controle da erosão superficial, principalmente em áreas declivosas (ALEGRE e RAO, 1996); o aumento da diversidade de espécies, o que pode reduzir a ocorrência de pragas e doenças; o maior

controle de ervas daninhas devido à copa das árvores e pela cobertura morta adicionada ao solo (MACLEAN et al., 2003) ou ainda pela produção de metabólitos secundários que exercem efeitos alelopáticos, inibindo a germinação de sementes e/ou afetando o crescimento de plântulas indesejadas (MORITA et al., 2005; RASHID et al., 2005).

Trabalhos realizados no Quênia demonstraram que os rendimentos de milho cultivado em aléias de leucena (*Leucaena leucocephala*) foram aumentados substancialmente (MATHUVA et al., 1998). O uso de leguminosas arbóreas como a leucena (*L. leucocephala*) e o sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) em sistema de cultivo em aléias, resultou em altas produções de matéria seca para cobertura do solo e adubação verde, elevando os níveis de produtividade das culturas do arroz (FERRAZ JÚNIOR, 2000; FERRAZ JÚNIOR et al., 2006), do milho e do feijão caupi (LEITE, 2002), demonstrando que essas espécies apresentam um potencial elevado para a utilização em um sistema agroflorestal.

Porém, esse sistema apresenta algumas limitações, como por exemplo, competições entre as árvores e a cultura consorciada por água, nutrientes e luz. A competição por água e nutrientes pode ser minimizada pela seleção de espécies arbóreas portadoras de uma arquitetura radicular compatível e mais eficiente na partição de matéria seca e nutrientes para a parte aérea. A poda freqüente dos ramos pode minimizar a competição por luz e por água entre determinadas espécies arbóreas e a cultura consorciada (AKINNIFESI et al., 1999).

Um fator importante que também tem sido apontado como limitante ao sucesso desses sistemas é a produção de metabólitos secundários por raízes e folhas de várias espécies de leguminosas usadas em sistema de cultivo em aléias. Rizvi et al. (1999) listaram aproximadamente 80 espécies consideradas agroflorestais com potencialidades alelopáticas sobre diversas outras espécies, por exemplo, ingá (*Inga edulis*) e leucena (*Leucaena leucocephala*), que liberam substâncias que exercem efeitos alelopáticos às culturas anuais, como o arroz.

Hauser (1993) avaliou a ação das folhas de *Acioa barteri*, *Cassia siamea*, *Flemingia macrophylla* e *Gmelina arborea* na germinação e no estabelecimento de plântulas de milho, e no crescimento de mudas de mandioca, e concluiu que essas espécies exercem efeitos deletérios para as culturas.

Anthofer et al. (1998) observaram os efeitos inibidores de várias espécies arbóreas sobre o trigo. Dentre elas se destacaram três leguminosas: *Acacia polyacantha*, *A. nilotica* e *Erythrina abyssinica*.

Um aspecto interessante das interações planta-planta envolvendo leguminosas potencialmente alelopáticas é o aproveitamento de algumas dessas arbóreas no controle de

espécies invasoras e pragas. Em pesquisa realizada por Caamal-maldonado et al. (2001), as leguminosas *Mucuna deeringiana* (Bort) Merr., *Canavalia ensiformis* (L.) DC. e *Leucaena leucocephala* inibiram o crescimento de plantas indesejáveis e reduziram a sobrevivência de insetos e nematóides.

O conhecimento do potencial alelopático de leguminosas arbóreas usadas em SAFs é de essencial importância para o sucesso desses sistemas, principalmente no que diz respeito a interações prejudiciais entre espécies arbóreas e plantas cultivadas (ANTHOFER et al., 1998).

Apesar da sua importância, sabe-se muito pouco sobre a ecologia química de leguminosas arbóreas. Mas é provável que interações químicas, como a alelopatia, interfiram no estabelecimento dessas plantas e de outras ao seu redor. Grande parte dos trabalhos nesse sentido está sendo realizada com espécies herbáceas exóticas (SOARES et al., 2002). Por exemplo, *Melilotus messanensis* tem sido intensamente estudada desde a última década, o que levou ao isolamento de diversos metabólitos fitotóxicos como triterpenóides, isoflavonóides e pterocarpanos (MACIAS et al., 1999). Outra leguminosa herbácea da qual foram isolados triterpenóides polares com atividade alelopática é a alfafa, *Medicago sativa* (OLESZEK, 1993).

2.4.1 Potencial alelopático do sombreiro

O sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) e a leucena (*Leucaena leucocephala*) são plantas da família das leguminosas que apresentam grande potencial para uso em sistemas agroflorestais simultâneos com culturas anuais (FERRAZ JÚNIOR, 2000).

Clitoria fairchildiana é uma espécie nativa conhecida vulgarmente como sombreiro (Figura 1) e está amplamente distribuída em várias regiões do Brasil, tendo sido muito utilizada em arborização urbana. Apesar do aumento das investigações do potencial fitotóxico das leguminosas brasileiras ocorrido nas últimas décadas, o conhecimento atual ainda é considerado escasso. Nesses trabalhos, os bioensaios laboratoriais têm sido amplamente utilizados em etapas iniciais, já que permitem estudar esse fenômeno isoladamente, ou seja, eliminando-se outros mecanismos de interferência que ocorrem na natureza (SILVA e AQUILA, 2006). Especificamente para o sombreiro, são poucos os trabalhos já realizados sobre as potencialidades alelopáticas dessa planta e, apesar disso, ainda não se sabe com exatidão qual ou quais as substâncias químicas envolvidas na sua atividade alelopática (SOARES et al., 2002).

Gomes et al. (2007) realizaram a análise espectrométrica das frações obtidas através de partição com solventes e técnicas cromatográficas do extrato metanólico dos galhos do sombreiro, o que conduziu ao isolamento de nove substâncias: acil-sitosterol, sitosterona, lupeol, sitosterol, biochanina A, prunetina, genisteína, naringenina, 6-desoxiclitoriacetal. Entretanto, são necessários estudos mais específicos com cada uma dessas substâncias para identificar qual delas pode ser responsável pela ação alelopática dessa planta já comprovada.

Em pesquisa conduzida por Moura et al. (2007), foram investigados os efeitos de diferentes concentrações do extrato aquoso de *Clitoria fairchildiana* na germinação e vigor das sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e cenoura (*Daucus carota* L.). Foram avaliados a Percentagem de Germinação e o Índice de Velocidade de Germinação. O extrato preparado a partir da parte aérea (folhas frescas), ocasionou inibição e retardamento da velocidade de germinação em ambas as olerícolas.

Soares et al. (2002) avaliaram as atividades fitotóxicas do extrato aquoso do sombreiro, com e sem a presença de derivados fenólicos, sobre a germinação e o crescimento de plântulas de alface. Eles constataram que, o extrato aquoso contendo derivados fenólicos (da própria planta) mostrou-se tóxico em relação às variáveis analisadas e o extrato sem os fenólicos apresentou um efeito tóxico maior ainda, ou seja, a eliminação dos fenólicos presentes na solução aquosa das folhas dessa leguminosa estimulou a sua fitotoxidez.

Os mesmos autores falam sobre a capacidade dos derivados fenólicos de complexar algumas substâncias nitrogenadas, como proteínas e aminoácidos. E sugerem, portanto, que possivelmente a presença de fenólicos minimize o efeito tóxico de algum outro tipo de substância produzida pelo sombreiro, considerando que essa atividade dos derivados fenólicos pode fornecer uma pista sobre a natureza química da fitotoxina presente nessa planta.

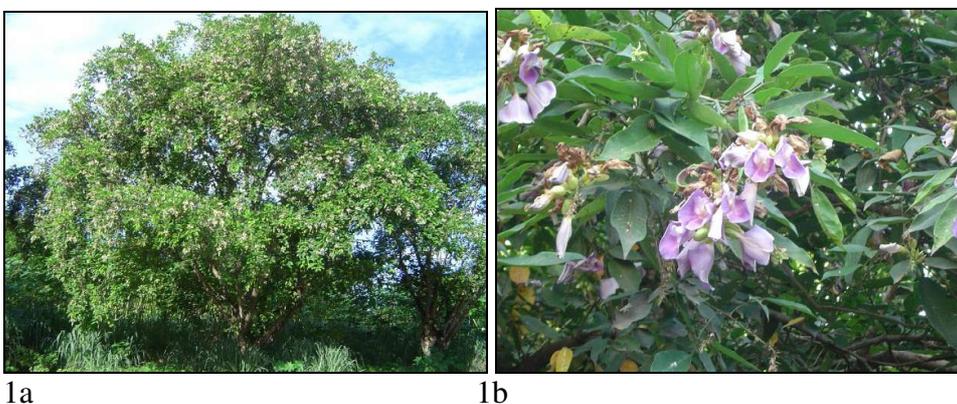


Figura 1. Sombreiro: 1a. Árvore de sombreiro; 1b. Folhas e flores de sombreiro (Fotos: MELO, 2008).

2.4.2 Potencial alelopático da leucena

Leucaena leucocephala é originária da América do Sul e é encontrada em toda região tropical. Atualmente, a leucena (Figura 2) apresenta múltipla utilização: no reflorestamento de áreas degradadas, na alimentação animal, como adubo verde e também como herbicida natural. Essa leguminosa arbórea contém em seus tecidos um aminoácido não protéico, o ácido b-[N-(3-hidroxi-4-oxopiridil)]-a-aminopropiônico (mimosina), muito tóxico para animais. No entanto, enzimas presentes na planta podem degradar (autólise) rapidamente a mimosina para 3,4-diidroxipiridona (DHP), piruvato e amônia (PRATES et al., 2000).

Vários autores registraram a toxicidade da mimosina em plantas através da inibição da germinação de sementes e crescimento de plântulas de feijão-mungo (*Phaseolus aureus*) e desenvolvimento radicial de alface (*Lactuca sativa*) e arroz (*Oryza sativa*). Muitos desses autores atribuíram os efeitos alelopáticos da leucena à ação da mimosina (PRATES et al., 2000; PIRES et al., 2001).

Tawata e Hongo (1987) relataram que o crescimento de radícula de arroz (*Oryza sativa*), rabanete (*Raphanus sativus*), mostarda (*Brassica rapa*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) foi estimulado pela mimosina a uma concentração igual ou menor que 1 mg mL^{-1} . Entretanto, em cenoura (*Daucus carota*) e picão-preto (*Bidens pilosa*), o crescimento da radícula foi inibido pela mimosina a uma concentração igual ou menor que 10 mg mL^{-1} ; e à concentração de 100 mg mL^{-1} a mimosina inibiu completamente o crescimento do sistema radicular dessas espécies.

Estudos realizados por Souza Filho et al. (1997) com o extrato aquoso da parte aérea da leucena mostraram que houve inibição da germinação e do comprimento da radícula de desmódio (*Desmodium adscendens*), guanxuma (*Sida rhombifolia*) e assa-peixe (*Vernonia polyanthes*). Os autores concluíram que esses efeitos provavelmente estariam relacionados com a mimosina.

Foram desenvolvidos bioensaios, na Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS), para avaliar o efeito de extratos aquosos, a frio e a quente, da parte aérea de leucena, sobre a germinação e o desenvolvimento das plantas de milho (*Zea mays* L.). O extrato obtido com água fria (EF) e aplicado ao solo não causou nenhum efeito fitotóxico sobre a germinação e o desenvolvimento das plantas de milho. O extrato obtido com água quente (EQ), quando aplicado em papel-germiteste ou papel-filtro, causou redução no comprimento da raiz seminal, mas não interferiu na germinação das sementes de milho. O

comprimento da raiz seminal foi um indicador mais sensível aos efeitos do extrato obtido com água quente do que a germinação (PRATES et al., 2000).

Pires et al. (2001), realizaram estudos com leucena e observaram redução na germinação do picão-preto pelo extrato aquoso de leucena a 50% (p/v). Os mesmos autores aplicaram extrato de leucena em plantas daninhas e verificaram que o efeito fitotóxico foi menor em solo quando comparado com o papel de filtro.



Figura 2. Leucena: 2a. Árvore de leucena (Foto: RAMOS, 2008); 2b. Folhas e flores de leucena (Foto: DUFFY, 2008).

2.5 Alelopatia x Substâncias húmicas do solo

2.5.1 Substâncias húmicas do solo: definições e classificação

O solo é um sistema vivo em constante transformação. Nele vivem milhares de organismos e animais intimamente dependentes da matéria orgânica (MO), que lhes fornece energia e nutrientes para sua sobrevivência. A natureza predominante dos microorganismos, o número, as espécies e o grau de atividade dos mesmos, são conseqüências da qualidade e quantidade de materiais que retroalimentam a matéria orgânica que serve de alimento; e das condições físicas (textura, aeração e umidade) e químicas (quantidade de sais nutrientes, pH e elementos tóxicos) encontradas no solo (SANTOS e CAMARGO, 1999).

A matéria orgânica do solo (MOS) apresenta-se como um complexo sistema de substâncias carbônicas, cuja dinâmica é mantida pela contínua renovação de resíduos orgânicos de diversas naturezas e por uma constante transformação, sob ação de fatores edáficos, climáticos, biológicos, químicos e físicos, que, por definição, são processos de

estabilização do húmus em função de aspectos quantitativos e qualitativos detectados no ecossistema (SILVA e MOURA, 2004).

Para Silva e Pasqual (2002), a MOS é toda fração orgânica localizada abaixo da superfície do solo, e consiste de matéria morta com 98% do Carbono orgânico do solo, e viva com aproximadamente 4% do total de C orgânico do solo, que venha de plantas, microrganismos, da meso e macro fauna morta, e de resíduos de animais e microrganismos do solo.

A matéria orgânica do solo pode ser dividida em dois grupos fundamentais. O primeiro está formado por compostos bem definidos quimicamente, geralmente incolores e que são exclusivos do solo. A maioria são compostos simples, de baixo peso molecular, utilizado geralmente pelos microrganismos como substrato, portanto de existência transitória. Entre estes compostos se encontram proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas, álcool, auxinas, aldeídos e ácidos aromáticos e alifáticos. Estes compostos constituem aproximadamente, de 10 a 15% da reserva total do carbono orgânico nos solos minerais. O segundo grupo é representado pelas substâncias húmicas (SH) propriamente ditas, constituindo de 85 a 90 % da reserva total do carbono orgânico (HAYES e CLAPP, 2001).

Segundo Benites et al. (2003), a definição de substâncias húmicas (SH) não é simples e reflete bem a complexidade do material orgânico. Esses autores relataram que Stevenson (1994) definiu SH como uma série de polímeros amorfos de coloração amarelo-marrom a preta, de peso molecular relativamente alto e formados por reações de sínteses secundárias, bióticas e abióticas.

As substâncias húmicas são produtos da degradação oxidativa e subsequente polimerização da matéria orgânica animal e vegetal. Elas são constituídas por uma mistura de compostos de elevada massa molar com uma grande variedade de grupos funcionais. Suas características moleculares podem variar dependendo da idade ou da origem do material sendo, por isso, definidas operacionalmente (RAUEN et al., 2002).

Para MacCarthy (2001), as definições dadas às SH são vagas e pouco indicam sobre a natureza química dos materiais húmicos. Devido à imprecisão dos conceitos dados, é também comum definir esses materiais operacionalmente em termos de procedimentos laboratoriais usados para extraí-los de solos, sedimentos e águas.

O termo substâncias húmicas (SH) é genérico e operacional para descrever materiais e frações orgânicas obtidas a partir do fracionamento químico da matéria orgânica do solo com

base em suas características de solubilidade em meio alcalino e ácido (FONTANA et al., 2005).

O procedimento clássico de extração do solo resulta em três frações principais: humina (insolúvel em meio aquoso) ácidos fúlvicos (solúveis em água em qualquer pH) e ácidos húmicos (solúveis em água em pH alcalino). Os ácidos húmicos e fúlvicos representam a porção solúvel em meio alcalino, de maior reatividade e conseqüentemente de maior polaridade. Os ácidos fúlvicos são os compostos de maior solubilidade por apresentarem maior polaridade e menor tamanho molecular. Estes compostos são os principais responsáveis por mecanismos de transporte de cátions dentro do solo, por meio de complexos organometálicos, o que caracteriza o processo de queluviação. Os ácidos húmicos são os compostos mais estudados e apresentam pouca solubilidade nas condições de acidez normalmente encontrada em solos. A humina consiste em um aglomerado de materiais húmicos e não húmicos e, como tal, poderia ser melhor descrita como um material que contém SH do que uma substância húmica propriamente dita (MACCARTHY, 2001).

Os conhecimentos exatos sobre a produção dessas substâncias, ainda hoje, são incompletos e diversos autores apresentam rotas diferentes para a sua formação. Contudo, sabe-se que a origem delas está ligada à atividade de enzimas e microorganismos do solo sobre o material orgânico incorporado (SILVA e MOURA, 2004).

Com o objetivo de identificar e ordenar todos os aspectos intrínsecos aos materiais húmicos, MacCarthy (2001) examinou criticamente uma extensa gama de informações e idéias publicadas sobre SH. Os resultados do seu empenho foram expressos na forma de princípios. Ele propôs que a natureza química e a função ecológica das substâncias húmicas podem ser raciocinadas com base em dois princípios fundamentais:

1- As SH abragem uma extraordinária e complexa mistura de moléculas altamente heterogêneas, quimicamente reativas e refratárias, resultantes da degradação da matéria orgânica, formadas por processos que envolvem reações químicas entre diversas moléculas. 2- A heterogeneidade molecular inerente às SH torna possível o material húmico altamente refratário, desempenhando, desse modo, um papel chave no sistema ecológico do solo (MACCARTHY, 2001).

MacCarthy (2001) esperava que os princípios expostos e as opiniões expressas no seu trabalho estimulasse futuras pesquisas que pudessem levar a uma exata compreensão sobre a síntese, a composição e os mecanismos de ação dessas substâncias.

2.5.2 Importância das substâncias húmicas para o solo e para as plantas

Um número crescente de experiências de campo vem demonstrando os benefícios do uso das substâncias húmicas na agricultura. Os resultados induzem a concluir que os ácidos húmicos e fúlvicos aumentam a absorção de nutrientes e melhoram a estrutura do solo, com efeitos diretos na produção, produtividade e qualidade de diversos cultivos (SILVA e PASQUAL, 2002).

Entre as SH, os ácidos húmicos e fúlvicos são os mais estudados. Devido estas substâncias estarem fisicamente protegidas em associação com superfícies minerais ou retidos dentro de agregados, são resistentes ao ataque microbiano podendo permanecer no solo por centenas de anos (SILVA e MOURA, 2004).

As substâncias húmicas e os minerais de argila são agentes cimentantes que muito contribuem para a agregação do solo. Há uma interação entre os colóides orgânicos e inorgânicos do solo, formando complexos estáveis que favorecem sua estruturação. A grande estabilidade dos complexos argilo-húmicos e sua característica de floculação das partículas dos solos aumentam a porosidade e conseqüentemente diminuem a densidade aparente dos solos (ALLARD, 2006).

As substâncias húmicas incrementam a CTC e a CTA, protegendo e disponibilizando os cátions e ânions para as plantas. Elas têm destacada capacidade para ligar-se e reter os ânions (NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , OH^- , PO_4^{2-} , CO_3^{3-}) por possuir grupos amino, ligações peptídicas, polipeptídicos e outros nitrogenados. Esses ânions, ligados diretamente ou através de metais no caso dos fosfatos, são facilmente assimilados pelas plantas. Esta propriedade de intercâmbio iônico das SH do solo, quando bem manejada, otimiza a eficiência dos fertilizantes e reduz a sua ação contaminante. Esta característica define a ação tampão dessas substâncias nos solos (RICE e MACCARTHY, 1990).

As substâncias húmicas têm imensa capacidade de reter água no solo, mediante a formação de agregados. Pela propriedade coloidal das substâncias húmicas, a agregação das moléculas pelas ligações covalentes com o hidrogênio, formando estruturas esponjosas com grandes espaços vazios, consegue reter grande quantidade de água no solo, liberando-a lentamente para a planta, controlando sua água capilar. A solubilidade das substâncias húmicas, além de depender do pH do meio, depende da associação com materiais minerais, como argila, silte e areia, como também, com sais solúveis, formando estruturas bi ou tridimensionais insolúveis evitando a perda de nutrientes por lixiviação em solos arenosos.

Esta é uma das características da estabilidade dessas substâncias no solo (HAYES e CLAPP, 2001).

De acordo com Valladares et al. (2003), as SH desempenham papel importante no fluxo de nutrientes em diversos sistemas ecológicos, na emissão de carbono (C-CO₂) para a atmosfera e nas interações entre metais pesados e defensivos agrícolas, sendo que cada fração tem efeito diferenciado no ciclo de cada nutriente.

Vaughan e Malcolm (1985) conduziram experiências com trigo em solução nutritiva, usando água destilada e solução de substâncias húmicas. Os resultados demonstraram que os ácidos húmicos não só melhoraram a solução nutritiva, como estimularam o crescimento do sistema radicular, de brotos e da biomassa em comparação à água destilada.

Pouco se sabe, ainda, sobre os teores de ácidos húmicos e fúlvicos ideais para os cultivos. Contudo, alguns trabalhos indicaram que as culturas respondem à ação dessas substâncias até determinado nível. Chen e Aviad (1990) demonstraram a influência dos ácidos húmicos no comprimento de brotos e raízes no cultivo de melão em solução nutritiva, chegando à conclusão que houve um efeito interativo entre os ácidos húmicos e nutrientes da solução e que o nível ótimo da concentração dessas substâncias foi de 37 ppm.

2.5.3 Fitotoxicidade dos aleloquímicos no solo

A atividade fitotóxica dos aleloquímicos no solo tem sido considerada uma interação planta-planta. Contudo, muitos compostos potencialmente alelopáticos são sintetizados, metabolizados e liberados pelas plantas doadoras no solo, onde penetram e interagem com seus diversos componentes antes de serem absorvidos pelas plantas receptoras (TAKEUCHI et al., 2001).

O comportamento dos aleloquímicos nos ecossistemas naturais e agroecossistemas é fortemente afetado pelos fatores bióticos (organismos) e abióticos (físicos e químicos) do solo, os quais podem limitar a fitotoxicidade dessas substâncias alelopáticas em termos de qualidade e quantidade requeridas para causar danos (KOBAYASHI, 2004).

Pouca atenção tem sido dada à avaliação dos elementos que afetam a ação fitotóxica dos aleloquímicos no solo, embora muitos bioensaios laboratoriais tenham mostrado pouca similaridade com a atividade alelopática sob condições de campo (INDERJIT et al., 2001). O comportamento dos aleloquímicos no solo é governado não só por suas propriedades físico-químicas, mas também podem ser afetados por diversos fatores do solo e das plantas doadora e receptora. Esses fatores, por sua vez, podem ser influenciados por condições ambientais.

Assim, a alelopatia no solo é um fenômeno de complexas interações entre aleloquímicos, plantas (doadora e receptora) e solo, sob determinadas condições ambientais. Por isso, torna-se difícil separar os efeitos alelopáticos de outros eventos entre plantas, como competição e/ou interação (INDERJIT, 2001; INDERJIT et al., 2001; KOBAYASHI, 2004).

Segundo Tongma et al. (2001), a quantidade de aleloquímicos liberada pela planta doadora e a suscetibilidade da planta receptora dependem, em parte, das condições de desenvolvimento de ambas. Esses autores relatam que, sob condições de estresse hídrico no campo, o crescimento de “Mexican sunflower” (*Tithonia diversifolia*) foi reduzido, mas a planta continha uma maior quantidade de substâncias alelopáticas por peso seco do que na ausência de estresse hídrico.

Horimoto et al. (2002) relataram que, na agricultura, algumas plantas têm sido usadas como adubo verde para melhorar as propriedades do solo e incrementar a produção dos cultivos. Entretanto, algumas vezes o crescimento e a produtividade das culturas têm sido reduzidos por essa prática. Esse efeito é parcialmente atribuído à liberação de substâncias fitotóxicas pelos materiais incorporados ao solo. Em pesquisa realizada por esses autores, o efeito alelopático das substâncias liberadas por materiais orgânicos incorporados ao solo foi afetado por fatores ambientais e pelas propriedades físico-químicas do solo.

De acordo com Kobayashi (2004), se um aleloquímico afeta diretamente o crescimento de uma planta, ele pode estar presente na solução do solo e ser utilizado pela planta. Contudo, a quantidade desses compostos alelopáticos na solução do solo é desconhecida por causa da dificuldade em mensurá-la. Assim, a concentração de aleloquímicos na solução do solo é um fator diretamente dominante na determinação de sua atividade fitotóxica.

Os principais processos que controlam as concentrações dos aleloquímicos na solução do solo, são: adsorção, dissociação e transporte. Os aleloquímicos são adsorvidos pela fração sólida do solo, dissociados desta fração, transportados com água e metabolizados pelos microorganismos na solução do solo (KOBAYASHI, 2002). Esses processos, por sua vez, são afetados por fatores do solo, como textura, matéria orgânica e inorgânica, superfícies minerais reativas, capacidade de trocas iônicas, íons inorgânicos, umidade e organismos específicos, dentre outros, os quais influenciam não somente o comportamento dos aleloquímicos no solo, mas também o desenvolvimento de plantas doadoras e receptoras, ocasionando diferentes interações fitotóxicas entre solo e plantas (INDERJIT, 2001; KOBAYASHI, 2002; TONGMA et al., 2001).

Para Kobayashi (2004), a concentração de aleloquímicos na solução do solo pode ter um papel chave na ação alelopática, porque plantas receptoras podem absorver diretamente os aleloquímicos dessa solução. Consequentemente, o autor sugere que a atividade fitotóxica de aleloquímicos no solo é induzida pela concentração desses compostos em sua fração líquida.

Para melhor entender como os aleloquímicos agem sobre as plantas no solo, são necessárias pesquisas mais específicas que envolvam a análise das interações entre planta doadora, aleloquímicos, solo, planta receptora e os fatores que afetam o comportamento desses compostos no solo.

2.5.4 Influência das substâncias húmicas do solo sobre a fitotoxicidade dos aleloquímicos

A natureza, a quantidade e a ação das substâncias alelopáticas diferem com as espécies envolvidas, a idade do órgão da planta, a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de nutrientes, a atividade microbiana da rizosfera e com a composição dos solos em que se encontram as raízes (NARDI et al., 2002).

Kobayashi (2004) afirmou que os mecanismos de ação dos aleloquímicos nos ecossistemas naturais e agroecossistemas sofrem influência de fatores bióticos (organismos) e abióticos (físicos e químicos) do solo, os quais podem limitar a fitotoxicidade dessas substâncias alelopáticas em termos de qualidade e quantidade necessárias para causar danos. Pires et al. (2001) aplicaram extrato de leucena em plantas daninhas e verificaram que o efeito fitotóxico foi menor em solo quando comparado com o papel de filtro, indicando que algum fator relacionado ao solo pode ter neutralizado o potencial fitotóxico da mimosina, aleloquímico presente na leucena.

As substâncias húmicas, as quais incluem duas principais frações, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos, são os componentes mais importantes da matéria orgânica não-viva do solo (HAYES e CLAPP, 2001) e exercem, entre outros, importantes efeitos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos sobre germinação de sementes e crescimento de plantas, incluindo uma ação genética (NARDI et al., 2002).

Existem amplas evidências de que as SH são absorvidas pelas plantas e incorporadas em seus tecidos, onde elas podem interferir diretamente em vários processos metabólicos. Os efeitos estimulantes ou inibitórios das SH sobre o desenvolvimento de plantas são determinados em função de sua origem, natureza, concentração e de possíveis interações com diversos compostos químicos de diferentes naturezas e funções biológicas (FERRARA et al., 2004; LOFFREDO et al., 2004, 2005; NARDI et al., 2002).

Apesar dos esforços feitos para relatar as funcionalidades, as estruturas, o peso molecular e os efeitos exatos das SH sobre o desenvolvimento de plantas, os mecanismos pelos quais elas exercem esses efeitos ainda são escassamente conhecidos. Aparentemente, suas moléculas ou frações ricas em grupos carboxílicos e de pequeno tamanho molecular são as mais biologicamente ativas (HAYES e CLAPP, 2001).

Diversos autores afirmaram que as SH do solo são capazes de adsorver uma ampla variedade de substâncias químicas orgânicas por vários mecanismos moleculares e exercer uma atividade protetora sobre germinação de sementes e crescimento de plantas da ação fitotóxica dos aleloquímicos. Com base nisso, sugeriram a hipótese de que o papel (ou um dos papéis) das SH poderia estar relacionado à regulação da alelopatia nas plantas (FERRARA et al., 2004; LOFFREDO et al., 2005; NARDI et al., 2002).

A alelopatia potencial de frações de clorofórmio e metanol extraídas de raízes de tomate mostrou-se suprimida ou reduzida quando essas frações foram aplicadas em combinação com ácidos húmicos do solo (LOFFREDO et al., 2004).

Substâncias húmicas de diferentes origens demonstraram exercer um efeito antimutagênico e antitóxico na germinação de sementes de plantas leguminosas tratadas com hidrazina maleica mutagênica, o que foi também atribuído, mas em menor parte, à adsorção de hidrazina maleica pelas SH (FERRARA et al., 2004).

Em trabalho realizado por Loffredo et al. (2005), a ação fitotóxica dos aleloquímicos sobre alface e tomate foi regulada pela presença de ácidos húmicos e fúlvicos sobre a alface e de ácidos fúlvicos sobre o tomate. Estes autores sugerem que a eficiência das SH em controlar a ação alelopática dos aleloquímicos testados está aparentemente ligada não somente às suas propriedades funcionais e estruturais e concentração, mas também às espécies de plantas, os órgãos considerados e os tipos de aleloquímicos. Os mesmos autores observaram, ainda, que a adsorção de todos os aleloquímicos pelos ácidos húmicos foi rápida e seguiu um modelo linear e propõem que adsorção pode ter sido responsável, em parte, pela ação antitóxica das SH.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, na Fazenda Escola do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), em São Luís-MA, no período de outubro a dezembro de 2007, no qual foram registrados os seguintes dados climáticos, em média: 29°C de temperatura, 441,7 cal/cm²/dia de radiação solar e 71% de umidade relativa do ar.

Para a realização dos procedimentos experimentais foram utilizados extratos aquosos de folhas frescas das leguminosas leucena (*Leucaena leucocephala*) e sombreiro (*Clitoria fairchildiana*), sementes de milho híbrido (AG 1051 - Monsanto) e ácidos húmicos e fúlvicos extraídos da camada superficial de um argissolo vermelho amarelo quartzarênico, cujas características químicas encontram-se descritas na Tabela 1.

Foram realizados dois experimentos, consecutivamente. O primeiro teve como objetivo avaliar o potencial alelopático das leguminosas sobre a germinação e o crescimento de sementes de milho. O segundo foi executado com o intuito de testar as substâncias húmicas do solo na reversão desses efeitos alelopáticos.

Tabela 1. Características químicas do argissolo vermelho amarelo quartzarênico.

M.O	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	Na	Al	C
g/dm ³	(CaCl ₂)	mg/dm ³			mmol _c /dm ³				%
23	4,3	5	0,3	9	2	45			1,33

3.1 Experimento 1: avaliação dos efeitos alelopáticos da leucena e do sombreiro sobre a germinação e o crescimento de sementes de milho

3.1.1 Preparo das soluções

Foram realizados os mesmos procedimentos para obtenção e aplicação dos extratos de ambas as espécies leguminosas.

Foram utilizadas folhas frescas de populações de leucena e de sombreiro presentes em áreas pertencentes ao Núcleo Tecnológico de Engenharia Rural (NTER), em São Luís-MA. O material vegetal fresco coletado foi primeiramente pesado e lavado com água destilada. Em seguida, efetuou-se o turbilhonamento das folhas em liquidificador industrial, na proporção de

200 g para 1 L de água destilada. Este processo foi seguido de peneiramento e filtração, tendo sido obtida uma solução que foi considerada o extrato bruto aquoso (EBA). Por meio da diluição do EBA, foram obtidas outras três soluções de concentração menor. O efeito destas quatro concentrações foi comparado com o da água destilada, considerada como controle, gerando nove tratamentos (CLAUDINO e CARVALHO, 2004).

3.1.2 Tratamentos

Os tratamentos adotados foram as seguintes soluções (v/v):

- H₂O (destilada)

- ES 25% (75% de água destilada e 25% de EBA de sombreiro)
- ES 50% (50% de água destilada e 50% de EBA de sombreiro)
- ES 75% (25% de água destilada e 75% de EBA de sombreiro)
- ES 100% (100% de EBA de sombreiro)

- EL 25% (75% de água destilada e 25% de EBA de leucena)
- EL 50% (50% de água destilada e 50% de EBA de leucena)
- EL 75% (25% de água destilada e 75% de EBA de leucena)
- EL 100% (100% de EBA de leucena)

3.1.3 Bioensaios de germinação e crescimento

Anteriormente à aplicação dos tratamentos, a qualidade fisiológica das sementes de milho foi determinada por meio do teste padrão de germinação (BRASIL, 1992), tendo sido verificada uma porcentagem de 88% de germinação.

Os bioensaios de germinação e crescimento foram realizados com cada uma das espécies leguminosas. As sementes de milho foram distribuídas em bandejas plásticas (23×29×7,5 cm), tendo areia como substrato (Figura 3). Toda a areia utilizada foi previamente armazenada em baldes de zinco e esterilizada em estufa à 80°C, por 24 horas. Esse substrato foi umedecido com as soluções nas concentrações acima citadas. Cada tratamento foi regado com a solução correspondente (500 mL por bandeja), a cada 48 horas, até a retirada final das plântulas. Os bioensaios tiveram duração de nove dias.

As avaliações foram conduzidas no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Estadual do Maranhão. As variáveis analisadas foram as seguintes: plântulas normais (%); plântulas anormais (%); comprimento de radícula (cm); comprimento total (cm); peso de matéria seca de radícula (g) e peso de matéria seca total (g). Os critérios de avaliação foram adotados conforme recomendação da Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

Foram feitas duas avaliações. A primeira aos sete dias após a semeadura e a última, aos nove dias de semeadura. Aos sete dias foram removidas do substrato apenas as plântulas normais e bem desenvolvidas (Figura 4), para evitar o risco de entrelaçamento de raízes. As plântulas foram então lavadas em água corrente para a retirada da areia. Em seguida, foram feitas as medições da altura da planta e do comprimento da raiz (cm), considerada a distância do ápice foliar até a ponta do sistema radicular.



Figura 3. Bandejas com areia esterilizada.

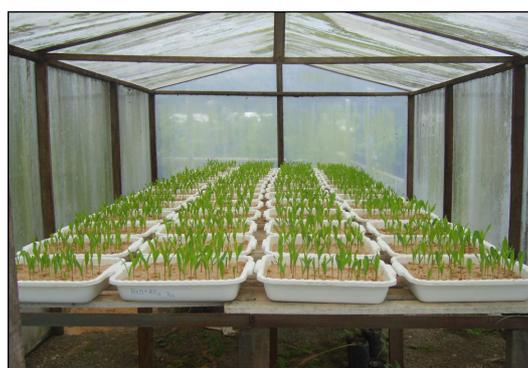


Figura 4. Plântulas de milho aos sete dias de semeadura.

Depois de feitas as avaliações biométricas, as plântulas foram colocadas em sacos de papel e mantidos em estufa a 65°C até peso constante (Figura 5). Em seguida, o material vegetal foi pesado em balança analítica de precisão, obtendo-se assim os valores de massa seca das radículas e das plântulas.

Aos nove dias foram retiradas as plântulas restantes. Foram conferidas as quantidades de plântulas anormais e de sementes não germinadas, tendo sido descartadas em seguida. Para as plântulas normais, foram efetuados os mesmos procedimentos da avaliação realizada aos sete dias após a semeadura.



Figura 5. Separação e secagem das plântulas de milho: 5a. Plântulas de milho separadas em sacos de papel; 5b. Secagem das plântulas na estufa.

3.1.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 9 tratamentos e 4 repetições, totalizando 36 bandejas. Cada bandeja continha 50 sementes, tendo sido utilizado, portanto, um total geral de 1800 sementes.

3.1.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância por meio do programa estatístico SAEG. 8.0.

3.2 Experimento 2: testes de reversão dos efeitos alelopáticos do sombreiro no milho por meio do uso de substâncias húmicas do solo

3.2.1 Preparo das soluções

No Experimento 1, todos os tratamentos que continham extrato bruto aquoso de sombreiro (EBA em todas as concentrações) apresentaram significativa redução da porcentagem de plântulas normais (vide Tabela 2, à página 31). Em virtude disso, optou-se em utilizar somente essa leguminosa para os testes com as substâncias húmicas do solo. Desta forma, as soluções empregadas neste Experimento foram resultantes da combinação de

soluções à base de ácidos húmicos ou fúlvicos do solo + soluções à base de EBA de sombreiro.

3.2.1.1 Soluções de ácidos húmicos e fúlvicos do solo

Primeiramente, foram feitas a extração e o fracionamento das substâncias húmicas do solo, empregando a metodologia sugerida por Benites et al. (2003), adaptada da técnica apresentada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS).

Para isso, coletou-se uma amostra de solo no mesmo local onde foram coletadas as folhas de sombreiro utilizadas nesta pesquisa, à profundidade de 0-20 cm. O solo foi posto para secar ao ar e passado em peneira de 2 mm, obtendo-se, assim, a terra fina seca ao ar (TFSA). Foram pesados 200 g da amostra de solo, posteriormente dividida em oito partes de 25 g. Esta divisão foi feita em função da grande quantidade de solo utilizada e do número de tubos existentes na centrífuga (oito tubos de 100 mL). Em cada tubo de centrífuga foram depositados 25 g de solo + 40 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Os tubos foram agitados manualmente e deixados em repouso por 30 minutos. Em seguida, os tubos tiveram seus pesos igualados pela adição de água destilada e foram centrifugados a 5000 rpm à temperatura de 15°C durante 30 minutos. Após a centrifugação, os sobrenadantes foram cuidadosamente recolhidos e reservados.

Os tubos receberam mais 40 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹, tendo sido agitados manualmente até o desprendimento e ressuspensão completa do material precipitado. Depois de repousarem por 30 minutos, foram centrifugados a 5000 rpm à temperatura de 15°C durante 30 minutos. Os sobrenadantes foram recolhidos e misturados aos sobrenadantes da primeira centrifugação, resultando numa porção líquida alcalina, chamada de extrato alcalino (com pH 13,0, aproximadamente). Os precipitados foram descartados.

O extrato alcalino teve seu pH ajustado para 1,0 pela adição de H₂SO₄ 20% e foi centrifugado em seguida a 5000 rpm durante 30 minutos. Após centrifugação, seguiu-se a filtração em filtro de membrana de 0,45µm sob vácuo, obtendo-se, desta forma, a suspensão e o precipitado.

A suspensão teve o seu volume aferido para 2000 mL usando água destilada, sendo esta, a solução denominada de fração ácidos fúlvicos (FAF). Em seguida, adicionou-se NaOH 0,1 mol L⁻¹ sobre o precipitado até a lavagem completa do filtro e aferiu-se o seu volume para 2000 mL usando água destilada, obtendo-se a solução denominada de fração ácidos húmicos (FAH). Finalmente, os pHs das duas frações foram ajustados para 6,0 (Figura 6).



Figura 6. Fração ácidos húmicos (à esquerda) e fração ácidos fúlvicos do solo (à direita).

Por meio da diluição da fração ácidos fúlvicos (FAF), foram preparadas três soluções de concentração menor, especificadas a seguir:

- Solução AF 20% (80% de água destilada e 20% de FAF)
- Solução AF 30% (70% de água destilada e 30% de FAF)
- Solução AF 40% (60% de água destilada e 40% de FAF)

Procedeu-se da mesma forma para a fração ácidos húmicos. Por meio da diluição dessa fração, foram preparadas três soluções de concentração menor, as quais foram:

- Solução AH 20% (80% de água destilada e 20% de FAH)
- Solução AH 30% (70% de água destilada e 30% de FAH)
- Solução AH 40% (60% de água destilada e 40% de FAH)

3.2.1.2 Soluções de EBA do sombreiro

Para a preparação do extrato bruto aquoso (EBA) do sombreiro, repetiu-se o processo detalhado no item 3.1.1. Por meio da diluição desse extrato, obtiveram-se duas soluções nas seguintes concentrações:

- Solução ES 50% (50% de água destilada e 50% do EBA)
- Solução ES 100% (100% do EBA)

3.2.2 Tratamentos

Foram misturadas as diferentes concentrações de ácidos húmicos e fúlvicos do solo e de extrato bruto aquoso do sombreiro, resultando em 21 tratamentos (v/v), os quais foram:

- H₂O (0% de EBA de sombreiro) - controle
- H₂O + AF 20% (50% de água destilada + 50% de solução AF20%)
- H₂O + AF 30% (50% de água destilada + 50% de solução AF30%)
- H₂O + AF 40% (50% de água destilada + 50% de solução AF40%)
- H₂O + AH 20% (50% de água destilada + 50% de solução AH20%)
- H₂O + AH 30% (50% de água destilada + 50% de solução AH30%)
- H₂O + AH 40% (50% de água destilada + 50% de solução AH40%)

- ES 50% (100% de EBA de sombreiro 50%) - controle
- ES 50% + AF 20% (50% de EBA de sombreiro 50% + 50% de solução AF20%)
- ES 50% + AF 30% (50% de EBA de sombreiro 50% + 50% de solução AF30%)
- ES 50% + AF 40% (50% de EBA de sombreiro 50% + 50% de solução AF40%)
- ES 50% + AH 20% (50% de EBA de sombreiro 50% + 50% de solução AH20%)
- ES 50% + AH 30% (50% de EBA de sombreiro 50% + 50% de solução AH30%)
- ES 50% + AH 40% (50% de EBA de sombreiro 50% + 50% de solução AH40%)

- ES 100% (100% de EBA de sombreiro 100%) - controle
- ES 100% + AF 20% (50% de EBA de sombreiro 100% + 50% de solução AF20%)
- ES 100% + AF 30% (50% de EBA de sombreiro 100% + 50% de solução AF30%)
- ES 100% + AF 40% (50% de EBA de sombreiro 100% + 50% de solução AF40%)
- ES 100% + AH 20% (50% de EBA de sombreiro 100% + 50% de solução AH20%)
- ES 100% + AH 30% (50% de EBA de sombreiro 100% + 50% de solução AH30%)
- ES 100% + AH 40% (50% de EBA de sombreiro 100% + 50% de solução AH40%)

3.2.3 Bioensaios de germinação e crescimento

Os bioensaios de germinação e crescimento foram conduzidos repetindo-se os procedimentos experimentais aplicados no Experimento 1. As sementes de milho foram distribuídas em bandejas plásticas (23×29×7,5 cm), tendo areia como substrato. A areia foi previamente armazenada em baldes de zinco e esterilizada em estufa à 80°C, por 24 horas. Esse substrato foi umedecido com as soluções nas concentrações acima citadas. Cada tratamento foi regado com a solução correspondente (500 mL por bandeja), a cada 48 horas, até a retirada final das plântulas. Os bioensaios tiveram duração de nove dias.

As avaliações foram conduzidas no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Estadual do Maranhão. As variáveis analisadas foram as seguintes: plântulas normais (%); plântulas anormais (%); comprimento de radícula (cm); comprimento total (cm); peso de matéria seca de radícula (g) e peso de matéria seca total (g). Os critérios de avaliação foram adotados conforme recomendação da Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

Foram feitas duas avaliações. A primeira aos sete dias após a semeadura e a última, aos nove dias de semeadura. Aos sete dias foram removidas do substrato apenas as plântulas normais e bem desenvolvidas, para evitar o risco de entrelaçamento de raízes. As plântulas foram então lavadas em água corrente para a retirada da areia. Em seguida, foram feitas as medições da altura da planta e do comprimento da raiz (cm), considerada a distância do ápice foliar até a ponta do sistema radicular.

Depois de feitas as avaliações biométricas, as plântulas foram colocadas em sacos de papel e mantidos em estufa a 65°C até peso constante. Decorrido este período, o material vegetal foi pesado em balança analítica de precisão, obtendo-se assim os valores de massa seca das radículas e das plântulas.

Aos nove dias foram retiradas as plântulas restantes. Foram conferidas as quantidades de plântulas anormais e de sementes não germinadas, tendo sido descartadas em seguida. Para as plântulas normais, foram efetuados os mesmos procedimentos da avaliação realizada aos sete dias após a semeadura.

3.2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 3 repetições, num total de 63 bandejas, sendo 21 bandejas para os testes com água destilada e mais 21 para os testes com cada leguminosa. Cada bandeja continha 50 sementes, totalizando, portanto, 3150 sementes utilizadas.

3.2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância por meio do programa estatístico SAEG. 8.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1

4.1.1 Influência do extrato de sombreiro

Em todas as variáveis analisadas, foram verificadas influências negativas do extrato de sombreiro (Tabela 2). Aerts et al. (1991) explicaram que a emergência e o crescimento da plântula são as variáveis mais analisadas nos testes alelopáticos com extratos aquosos porque são as fases mais suscetíveis do desenvolvimento vegetal, por sofrerem rápidas mudanças fisiológicas.

Houve diminuição da germinação e regressão do crescimento de raízes e de plântulas à medida que aumentou a concentração do extrato de sombreiro (Figuras 7 e 8). Este fato provavelmente ocorreu pela presença de algum aleloquímico inibindo o crescimento e caracterizando, portanto, efeito alelopático prejudicial.

Quanto ao percentual de germinação normal, todos os tratamentos diferiram significativamente do controle (0%), tendo sido observada uma drástica ação inibitória já a partir de 25% do extrato de sombreiro. Essa ação tornou-se mais acentuada nas concentrações de 50% e 75%.

Tabela 2. Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de matéria seca do milho, em diferentes concentrações dos extratos de sombreiro (ES) e de leucena (EL).

Conc. (v/v)	Plantas normais (%)		Plantas anormais (%)		Comprimento total (cm)		Comprimento de raiz (cm)		Peso de matéria seca total (g)		Peso de matéria seca de raiz (g)	
	ES	EL	ES	EL	ES	EL	ES	EL	ES	EL	ES	EL
0%	90,50	90,50	2,50	2,50	23,80	23,80	14,77	14,77	3,68	3,68	2,38	2,38
	Aa	Ba	Ca	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Ba	Aa	Aa
25%	18,50	97,50	78,00	0,50	20,65	26,27	8,50	15,00	0,80	4,15	0,32	2,42
	Bb	ABa	Ba	Ab	Ab	Aa	Bb	Aa	Bb	Aa	Bb	Aa
50%	2,00	91,50	94,00	2,00	8,82	26,00	3,50	14,00	0,10	3,80	0,05	1,95
	Cb	ABa	Aa	Ab	Bb	Aa	Cb	Aa	Cb	Ba	Cb	Ba
75%	1,50	95,50	92,00	1,00	7,88	23,48	3,25	9,93	0,10	3,80	0,05	1,23
	Cb	ABa	Aa	Ab	Bb	Aa	Cb	Ba	Cb	Ba	Cb	Ca
100%	0,00	94,00	93,00	3,00	0,00	24,15	0,00	11,30	0,00	3,75	0,00	1,23
	Cb	ABa	Aa	Ab	Cb	Aa	Db	Ba	Cb	Ba	Cb	Ca

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam comparação entre as concentrações do extrato de uma mesma leguminosa (ES ou EL).

Letras minúsculas indicam comparação entre as duas leguminosas (ES e EL), dentro de uma mesma variável.

Letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste DMS.



Figura 7. Plântulas de milho somente em água destilada (testemunha).



8a



8b



8c



8d

Figura 8. Plântulas de milho com extrato de sombreiro: 8a. Plântulas de milho com 25% do extrato de sombreiro; 8b. Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro; 8c. Plântulas de milho com 75% do extrato de sombreiro; 8d. Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro.

Quando se utilizou o extrato 100% concentrado, constatou-se a total ausência de germinação normal. Segundo Dudai et al. (1999), a inibição mínima de 50% da germinação é considerada como um padrão satisfatório para avaliar as potencialidades alelopáticas de um extrato.

O índice de anormalidade esteve relacionado ao percentual de germinação normal e também apresentou valores divergentes quando comparados ao controle. O número de plântulas anormais aumentou significativamente a partir de 25% do extrato, sendo que, no extrato 100% concentrado, o percentual de anormalidade chegou a 93%, tendo sido o restante (7%) atribuído ao número de sementes não germinadas que, aqui, especificamente, foram classificadas como mortas.

O principal fator determinante do efeito da substância alelopática presente em *Clitoria fairchildiana* sobre as sementes de milho foi em relação à anormalidade das plântulas, fator identificado a partir das menores concentrações. Foram registradas anormalidades principalmente no sistema radicular, onde as raízes primárias apresentaram-se atrofiadas, defeituosas e, em alguns casos, praticamente ausentes (Figura 8). Algumas plântulas também não manifestaram raízes secundárias ou apresentaram raízes curtas e desproporcionais em relação à planta. Ferreira e Aquila (2000) afirmaram que a avaliação da anormalidade das plântulas é instrumento valioso nos experimentos de alelopatia e que danos na radícula são os sintomas mais comuns. Esta afirmação foi confirmada por Pires e Oliveira (2001), ao terem relatado que a presença da anormalidade em raízes parece ser um bom parâmetro para registro de anormalidade de plântulas, pois este órgão é mais sensível à ação alelopática que a parte aérea.

No que diz respeito à influência alelopática no crescimento, em todos os tratamentos com extrato, as médias das alturas das plântulas (total) regrediram à proporção que a concentração do extrato aumentou. Todas as médias mostraram-se menores em relação ao grupo controle (23,80 cm), embora este só não tenha diferido estatisticamente da concentração de 25% (20,65 cm). As concentrações de 50% e 75% não manifestaram diferenças significativas entre si (8,82 cm e 7,88 cm, respectivamente), mas indicaram diferenças expressivas em comparação à testemunha, com reduções de até 16cm, aproximadamente. No tratamento com extrato concentrado (100%) não houve medições de altura das plântulas nem do sistema radicular, pois nenhuma plântula foi considerada normal sob a ação do extrato puro.

O maior comprimento de raiz foi observado na testemunha (14,77 cm), seguido pela concentração de 25% (8,50 cm) e diminuindo à medida que houve aumento da concentração do extrato. Os valores obtidos para essa variável indicam um comportamento semelhante ao observado para o comprimento de plântulas. Resultados semelhantes foram observados por Soares et al. (2002) que, ao investigarem o potencial alelopático do extrato aquoso do sombreiro sobre o crescimento de alface (*Lactuca sativa* cv. Grand Rapids), verificaram que o

desenvolvimento radicial sofreu forte efeito inibidor. E, tal como neste trabalho, esse efeito foi acompanhado por danos e alterações morfológicas nas raízes, tais como: engrossamento, escurecimento e ausência da zona de absorção e coifa (estruturas atrofiadas). Morita et al. (2005) testaram as potencialidades alelopáticas de 92 espécies arbóreas, entre elas, algumas leguminosas e comprovaram que também estas possuíam potencial alelopático inibitório sobre o crescimento radicial de alface. Avaliando a atividade alelopática de extratos aquosos de carqueja (*Baccharis trimera* Less. DC) e confrei (*Symphytum officinale* L.) em sementes de milho, Claudino e Carvalho (2004) observaram efeitos alelopáticos dos extratos de ambas as espécies na germinação das sementes e no crescimento das plântulas, mesmo em concentrações baixas. Souza Filho e Alves (2002) explicaram que os compostos alelopáticos são inibidores de germinação e crescimento por interferirem na divisão celular, permeabilidade de membranas e na inativação de enzimas.

Quanto às massas produzidas, notou-se redução dos pesos em função do aumento da concentração do extrato. Fujii et al. (2004) relataram que as substâncias alelopáticas podem inibir a germinação, induzir o aparecimento de plântulas anormais e/ou ainda prejudicar o crescimento das mesmas, e que muitos parâmetros são usados para avaliar o crescimento, sendo o comprimento e a massa seca de raiz e da parte aérea os mais utilizados.

Maior peso de matéria seca de plântulas foi constatado no controle (3,68 g) em relação aos demais tratamentos. A concentração de 25% gerou uma massa seca de 0,80 g, enquanto que as concentrações de 50% e 75% produziram massas de 0,10 g. No tratamento com extrato concentrado (100%) não houve aferições de peso seco das plântulas nem do sistema radicular, pois nenhuma plântula desse tratamento foi considerada normal.

Ao averiguar as massas produzidas pelas raízes, verificou-se um comportamento semelhante ao relatado para o peso de massa seca de plântulas. A testemunha apresentou o maior valor de peso seco de raízes (2,38g), seguida pelo tratamento com 25% do extrato (0,32g) e pelas concentrações de 50% e 75%, que também apresentaram pesos de raízes equivalentes (0,05g).

4.1.2 Influência do extrato de leucena

Não foram observadas diferenças significativas nos percentuais de plântulas normais e anormais e no comprimento de plântulas, quando se utilizaram diferentes concentrações do extrato dessa leguminosa (Tabela 2). Esperava-se inibição da germinação e/ou do crescimento do milho causado pelo efeito tóxico da mimosina em plantas, conforme observações de alguns

autores (PIRES et al., 2001; SOUZA FILHO et al., 1997). Entretanto, observou-se leve estímulo na germinação (em todas as concentrações). Estes resultados estão de acordo com Prates et al. (2000), que testaram os efeitos do extrato aquoso de leucena à temperatura ambiente na germinação e no crescimento do milho e observaram estímulo no desenvolvimento das plantas.

Observou-se que em todos os tratamentos com extrato o número de plântulas normais foi semelhante ao controle. As pequenas variações de quantidade mostraram-se aleatórias, indicando não haver relação diretamente proporcional ao aumento da concentração. Também não foram constatadas diferenças expressivas quando se avaliou o índice de anormalidade das plântulas. Notaram-se apenas pequenas variações nas quantidades em cada tratamento, o que novamente aconteceu aleatoriamente, indicando também não haver relação diretamente proporcional ao aumento da concentração. A maioria dos trabalhos relata que os efeitos dos compostos alelopáticos se relacionam aos processos fisiológicos da planta receptora e, de maneira geral, agem como inibidores da germinação e do crescimento (AIRES et al., 2005; SOUZA FILHO et al., 2003; TAWAHA e TURK, 2003). Porém, alguns trabalhos demonstraram que estes compostos podem atuar como promotores de crescimento (ALVES et al., 2004; MORITA et al., 2005; SOARES et al., 2002). Aparentemente, isso indica que o efeito inibitório ou estimulante está relacionado às concentrações dessas substâncias (TAWAHA e TURK, 2003).

Ao analisar o comprimento de plântulas (total), verificou-se que, no geral, as plântulas apresentaram médias de altura semelhantes em todos os tratamentos, com variações de 1 a 3 cm entre elas. Contudo, vale ressaltar que as médias obtidas nas concentrações de 25%, 50% e 100% foram mais elevadas que a média do tratamento controle. Apenas a concentração de 75% obteve média de altura mais baixa. Os dados indicaram uma leve tendência estimuladora do crescimento do milho pelo extrato, porém os resultados não divergiram estatisticamente.

Em contrapartida, apesar de não terem sido registradas variações estatisticamente diferentes na altura da plântula, avaliando-se isoladamente o comprimento de raízes, notou-se que as concentrações de 25% e 50% não diferiram da testemunha (14,77 cm), entretanto, valores estatísticos diferentes foram observados nas concentrações mais altas (75% e 100%), que apresentaram menores tamanhos em relação ao controle (Figura 9). Souza Filho et al. (1997) também verificaram inibição do comprimento da radícula ao estudarem os efeitos do extrato aquoso da leucena sobre espécies invasoras de pastagens (*Desmodium adscendens*, *Sida rhombifolia* e *Vernonia polyanthes*) e concluíram que esse efeito provavelmente estaria relacionado com a mimosina que, além da radícula, teria inibido também a germinação.

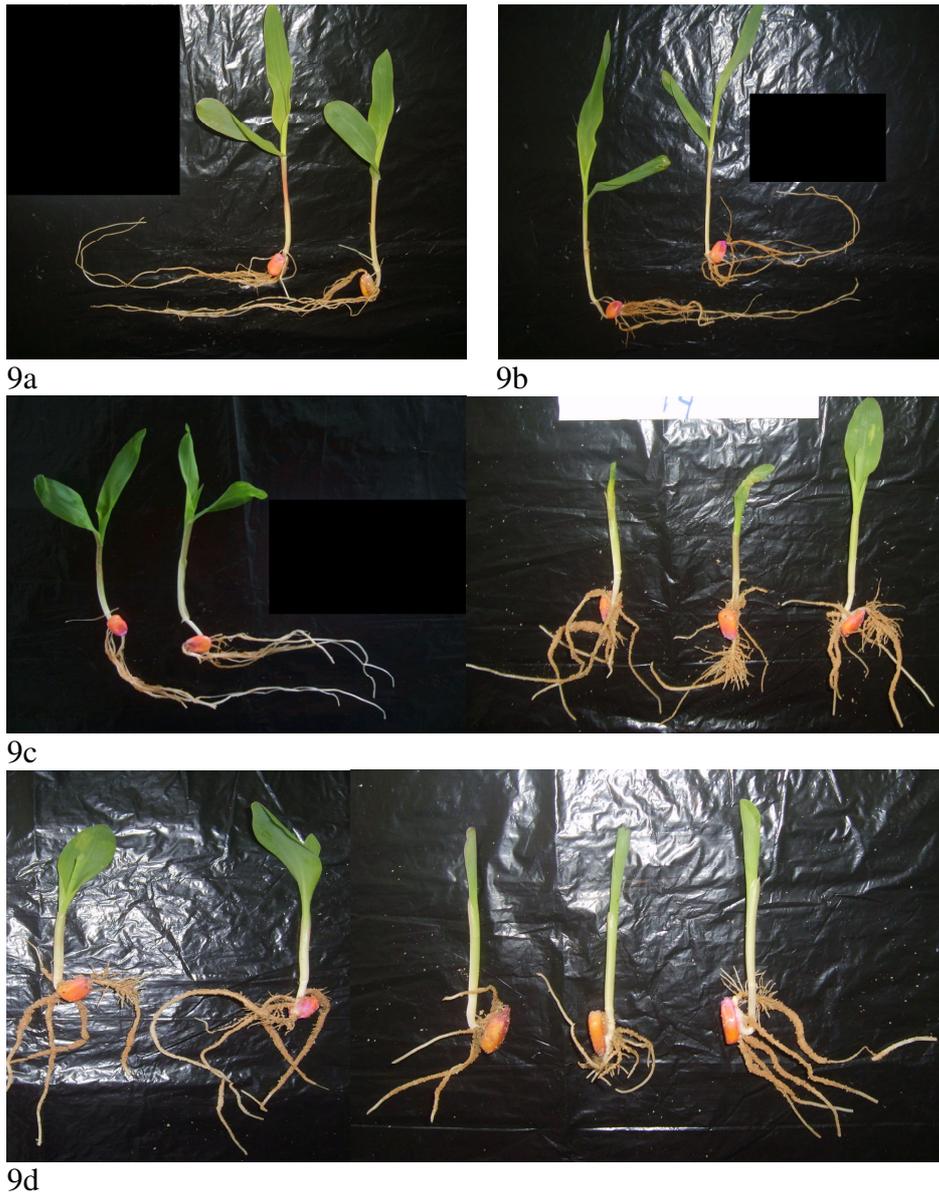


Figura 9. Plântulas de milho com extrato de leucena: 9a. Plântulas de milho com 25% do extrato de leucena; 9b. Plântulas de milho com 50% do extrato de leucena; 9c. Plântulas de milho com 75% do extrato de leucena; 9d. Plântulas de milho com 100% do extrato de leucena.

A análise estatística das massas secas das plântulas indicou que o único tratamento a diferir significativamente da testemunha (3,68 g) foi o que continha 25% do extrato, manifestando o maior peso seco (4,15 g) entre todos. No entanto, as demais concentrações também obtiveram pesos totais maiores que o controle, embora não significativos.

Maior peso de matéria seca de raiz também foi constatado no tratamento com 25% do extrato (2,42 g), que não diferiu da testemunha (2,38 g). A concentração de 50% diferiu das demais, gerando um peso seco intermediário (1,95 g), enquanto que as demais concentrações

(75% e 100%) produziram massas secas menores (1,23 g, ambas). Os valores demonstraram uma redução da massa seca de raiz a partir do nível de 50% do extrato.

Ao avaliar os efeitos do extrato aquoso de leucena à temperatura ambiente no crescimento do milho, Prates et al. (2000) constataram que não houve diferenças estatísticas na altura de plantas, peso de matéria seca de raízes e peso de matéria seca total. No que diz respeito à altura da planta, seus resultados assemelham-se aos obtidos nesta pesquisa, os quais não demonstraram diferenças expressivas nem em comparação ao controle, nem entre si. No entanto, em relação à matéria seca houve discordância, principalmente no peso seco de raiz, que na concentração de 25% chegou a superar a massa seca de raiz da testemunha e, nas demais concentrações (50%, 75% e 100%), apresentaram pesos inferiores. Gatti et al. (2004) explicaram que alguns compostos químicos têm atividade alelopática inibitória em altas concentrações e, em menores, podem estimular o mesmo processo. E que os aleloquímicos podem atuar em vários processos simultaneamente e ter uma resposta diferenciada para o mesmo ou para diferentes processos, dependendo da concentração deste composto.

Tawata e Hongo (1987) relataram que o crescimento de radícula de arroz (*Oryza sativa*), rabanete (*Raphanus sativus*), mostarda (*Brassica rapa*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) foi estimulado pela mimosina a uma concentração igual ou menor que $1\mu\text{g mL}^{-1}$. Entretanto, em cenoura (*Daucus carota*) e picão-preto (*Bidens pilosa*), o crescimento da radícula foi inibido por esta substância a uma concentração igual ou menor que $10\mu\text{g mL}^{-1}$; a concentração de $100\mu\text{g mL}^{-1}$ inibiu completamente o crescimento do sistema radicular dessas espécies.

4.1.3 Comparação dos efeitos de ambas as leguminosas

Verificou-se que a porcentagem de plântulas que germinaram e cresceram normalmente foi mais elevada com extrato de leucena do que com sombreiro (Tabela 2). Enquanto o sombreiro exerceu efeito prejudicial ao crescimento das plântulas, a leucena exerceu um efeito estimulante sobre essa mesma variável, chegando a superar a testemunha. Conseqüentemente, o índice de anormalidade foi mais alto para o sombreiro, chegando a atingir um máximo de 94% na concentração de 50%, sendo que, para a leucena, o maior percentual de anormalidade foi de 3%, obtido no tratamento que continha extrato puro (100%).

A leucena apresentou menor efeito alelopático em comparação ao do sombreiro, resultando em raízes mais longas e plântulas mais altas. Estas variaram de 23,48 cm a 26,27

cm, mostrando-se maiores não apenas em comparação ao sombreiro (com variação de 0 cm a 20,65 cm), mas também quando comparadas ao controle (23,80 cm).

A massa seca de plântulas foi mais elevada nos tratamentos com leucena (máxima de 4,15 g) do que com sombreiro (máxima de 0,80 g) e com água destilada (3,68 g). Maiores massas de raízes também foram obtidas na presença da leucena.

Ferreira e Áquila (2000) relataram que os aleloquímicos variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie ou de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles têm sua síntese e ação desencadeadas por eventuais condições a que as plantas estão expostas. Sobre a suscetibilidade ou não de plantas a um aleloquímico, esses mesmos autores explicaram que a resistência ou tolerância aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos é mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que outras.

4.2 Experimento 2

Primeiramente, são apresentados os resultados obtidos com a água destilada (0% do extrato de sombreiro); em seguida, com 50% do extrato e, finalmente, com o extrato puro (100%).

Quanto ao percentual de plântulas normais, não foram observadas diferenças entre os tratamentos (Tabela 3). Entretanto, vale a pena ressaltar que alguns deles demonstraram leve estímulo sobre a germinação, o que pôde ser deduzido pelo aumento do número de plântulas normais, em relação ao tratamento que continha apenas H₂O destilada (testemunha). O índice de anormalidade também não diferiu entre os tratamentos.

Sobre a variável comprimento total, percebeu-se que, em comparação com a testemunha (24,47 cm), todas as concentrações de ambos os ácidos demonstraram aumentos expressivos nas alturas das plântulas, porém, seus valores, que variaram de 28,60 cm a 30,50 cm, não diferiram entre si.

Tabela 3. Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (v/v), sem extrato de sombreiro.

Concent. (v/v)	Em 0% do extrato de sombreiro (ES)						
	H ₂ O	AF 20%	AF 30%	AF 40%	AH 20%	AH 30%	AH 40%
PlanNorm (%)	90,00 a	88,00 a	93,33 a	90,67 a	94,00 a	86,00 a	92,00 a
PlanAnorm (%)	2,67 a	4,00 a	2,67 a	4,67 a	2,67 a	8,67 a	2,00 a
CompTo (cm)	24,47 b	30,50 a	29,50 a	28,60 a	30,13 a	29,23 a	29,57 a
CompRa (cm)	14,23 b	17,50 a	17,97 a	16,60 a	17,63 a	16,70 a	16,93 a
PeSeTo (g)	3,77 a	2,50 d	2,40 d	2,67 c	2,93 b	2,50 d	2,77 bc
PeSeRa (g)	2,23 a	1,70 c	1,53 d	1,80 bc	2,00 b	1,70 c	1,77 c

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste DMS.

Observando-se os tamanhos das radículas, constatou-se comportamento semelhante ao relatado para a altura total. Todos os tratamentos que continham substâncias húmicas apresentaram raízes mais longas quando comparadas com a testemunha, contudo, as médias variaram aleatoriamente, ou seja, as diferentes concentrações testadas não demonstraram divergências significativas entre si, nem relação com o aumento da concentração. A ação das substâncias húmicas na germinação e no crescimento de plântulas foi relatada por Loffredo et al. (2005), afirmando que os ácidos fúlvicos e húmicos do solo exercem, entre outras funções, importantes efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos na germinação de sementes e crescimento de plântulas.

Em todas as concentrações de AF e AH houve significativa diminuição do peso de massa seca total em relação ao controle. Os tratamentos também mostraram diferenças expressivas entre si. As massas das raízes apresentaram variações entre as concentrações de ambos os ácidos, tendo sido observada leve diminuição dos pesos em relação à água destilada. Apenas o tratamento AH 20% teve seu peso de massa seca de raiz (2,00 g) aproximado ao do controle, que produziu a maior massa (2,23 g) de todos os tratamentos.

No que diz respeito ao potencial de reversão dos efeitos alelopáticos do sombreiro, quando se testaram as concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo misturadas ao extrato de sombreiro à 50%, no geral, observaram-se efeitos benéficos nas plântulas de milho (Figuras 10, 11 e 12). O percentual de germinação de plântulas normais, que foi de 3,33% no tratamento ES 50% (testemunha), no qual se utilizou apenas o extrato do sombreiro, chegou a alcançar o máximo de 81,33% quando se adicionaram 20% de solução de ácidos fúlvicos (Tabela 4). Os ácidos húmicos geraram menores percentuais, porém, ainda assim, maiores que o controle.



Figura 10. Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro, sem substâncias



11a



11b



11c

Figura 11. Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro + ácidos fúlvicos: 11a. 50% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos fúlvicos; 11b. 50% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos fúlvicos; 11c. 50% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos fúlvicos.



12a



12b



12c

Figura 12. Plântulas de milho com 50% do extrato de sombreiro + ácidos húmicos: 12a. 50% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos húmicos; 12b. 50% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos húmicos; 12c. 50% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos húmicos.

Tabela 4. Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (v/v), com 50% do extrato de sombreiro.

Concent. (v/v)	Em 50% do extrato de sombreiro (ES)						
	ES 50%	AF 20%	AF 30%	AF 40%	AH 20%	AH 30%	AH 40%
PlanNorm (%)	3,33 e	81,33 a	32,67 c	55,33 b	16,00 d	14,67 d	21,33 d
PlanAnorm (%)	92,00 a	16,00 e	62,00 c	40,00 d	78,00 bc	80,67 bc	71,33 bc
CompTo (cm)	14,10 c	27,87 b	29,13 a	30,27 a	27,00 b	29,20 a	27,53 b
CompRa (cm)	5,37 d	11,43 ab	11,90 ab	11,87 ab	12,83 ab	10,10 b	7,80 c
PeSeTo (g)	0,43 e	2,27 a	1,37 c	1,83 b	0,70 d	0,47 e	0,67 d
PeSeRa (g)	0,17 d	0,73 a	0,37 bc	0,53 b	0,30 c	0,13 d	0,17 d

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste DMS.

O índice de anormalidade da testemunha sofreu regressão em todos os tratamentos. Os melhores desempenhos foram obtidos pelos ácidos fúlvicos, nas três concentrações testadas (20%, 30% e 40%), que geraram, respectivamente, reduções de 76%, 30% e 52% em relação ao percentual de plântulas anormais atingido pela testemunha (92%). Em trabalho realizado por Loffredo et al. (2005), a ação fitotóxica dos aleloquímicos sobre alface e tomate foi regulada pela presença de ácidos húmicos e fúlvicos sobre a alface e de ácidos fúlvicos sobre o tomate. Ferrara et al. (2004) verificaram que SH de diferentes origens demonstraram exercer um efeito antimutagênico e antitóxico na germinação de sementes de plantas leguminosas tratadas com hidrazina maleica mutagênica, o que foi também atribuído, mas em menor parte, à adsorção de hidrazina maleica pelas substâncias húmicas.

Os resultados observados em ácidos fúlvicos variaram aleatoriamente, mesmo tendo sido todos superiores ao controle. Este fato sugere que os diferentes desempenhos podem estar relacionados aos níveis de concentração. Pouco se sabe, ainda, sobre os teores de ácidos húmicos e fúlvicos ideais para os cultivos. Contudo, vários autores afirmam que as culturas respondem à ação dessas substâncias apenas em determinados níveis e que os efeitos estimulantes ou inibitórios das SH sobre o desenvolvimento de plantas são determinados em função de sua origem, natureza, concentração e de possíveis interações com diversos compostos químicos de diferentes naturezas e funções biológicas (CHEN e AVIAD, 1990; FERRARA et al., 2004; LOFFREDO et al., 2004, 2005; NARDI et al., 2002; PIRES et al., 2001).

Chen e Aviad (1990) demonstraram a influência dos ácidos húmicos no comprimento de brotos e raízes no cultivo de melão em solução nutritiva, chegando à conclusão que houve um efeito interativo entre os ácidos húmicos e nutrientes da solução e que o nível ótimo da concentração dessas substâncias foi de 37 ppm.

A averiguação das variáveis relacionadas ao crescimento indicou aumento expressivo no tamanho das plântulas e das radículas. As médias de altura das plântulas e de comprimento das raízes tratadas apenas com extrato de sombreiro foram 14,10 cm e 5,37 cm, respectivamente. Entretanto, ao terem sido adicionados ácidos fúlvicos e húmicos em diferentes concentrações ao extrato da leguminosa, observaram-se acréscimos significativos nos tamanhos dessas duas variáveis, desde as mais baixas concentrações às mais altas, atingindo picos de 30,27 cm e 12,83 cm, respectivamente.

Os resultados alcançados estiveram em concordância com os comentários de alguns autores que afirmaram existir amplas evidências de que as substâncias húmicas são absorvidas pelas plantas e incorporadas aos seus tecidos, onde elas interferem diretamente em diversos processos metabólicos podendo reduzir efeitos alelopáticos sobre as culturas (LULAKIS e PETSAS, 1995; LOFFREDO et al., 2005). Estes autores indicaram a existência de correlações positivas entre as concentrações de ácidos húmicos e parâmetros como o número de raízes, o comprimento destas raízes e a altura e peso dos caules das plantas. Da mesma forma, quanto maior for o intervalo de tempo entre o contato com as substâncias húmicas e a data da avaliação dos parâmetros citados, maior será o efeito observado. Esses resultados parecem indicar uma proteção das substâncias húmicas aos efeitos alelopáticos existentes no ambiente.

Quantos ao peso de matéria seca total, todos os tratamentos com substâncias húmicas mostraram aumento significativo da massa seca total em comparação à testemunha (0,43 g), com exceção do tratamento AH 30%, que apresentou peso semelhante (0,47 g). Com relação às massas produzidas pelas radículas, apenas os tratamentos AH 30% e AH 40% não alcançaram maior peso de massa seca que a testemunha.

Outras evidências do potencial benéfico das substâncias húmicas em reverter os efeitos alelopáticos do sombreiro foram constatadas ao terem sido estas misturadas ao extrato 100% concentrado da leguminosa (Tabela 5). Usando-se o extrato com 100% de concentração sobre as sementes de milho, verificou-se a completa inibição da germinação, não se obtendo, portanto, nenhuma plântula normal (Figura 13). Já os resultados obtidos nos tratamentos em que se utilizaram os ácidos fúlvicos e húmicos do solo, indicam ter havido uma influência positiva desses ácidos, pois estes conseguiram impedir, em parte, a total inibição da germinação das sementes, tendo alcançados índices de até 58,67% de plântulas normais

(Figuras 14 e 15). Conseqüentemente, os percentuais de anormalidade sofreram decréscimos em todos os tratamentos com ácidos. O melhor resultado foi obtido em AF 30%, que gerou 38,67% de plântulas anormais, o que representou uma redução de 55,33% em relação ao percentual de anormalidade atingido pela testemunha (94%). Resultados semelhantes foram observados por Loffredo et al. (2004), em que a alelopatia potencial de frações de clorofórmio e metanol extraídas de raízes de tomate mostrou-se suprimida ou reduzida quando essas frações foram aplicadas em combinação com ácidos húmicos do solo.

Kobayashi (2004) afirmou que os mecanismos de ação dos aleloquímicos nos agroecossistemas sofrem influência de fatores bióticos e abióticos do solo, os quais podem limitar a fitotoxicidade dessas substâncias alelopáticas em termos de qualidade e quantidade necessárias para causar danos. Inderjit (2001) também sugeriu que fatores abióticos do solo, dentre eles as substâncias húmicas, podem modificar os aleloquímicos de forma benéfica, por exemplo, podem transformar polímeros fenólicos tóxicos em não tóxicos.

Tabela 5. Médias da porcentagem de plântulas normais e anormais, do comprimento de raízes e plântulas e do peso de massa seca do milho, em diferentes concentrações de ácidos fúlvicos e húmicos do solo (v/v), associadas ao extrato de sombreiro 100% concentrado.

Concent. (v/v)	Em 100% do extrato de sombreiro (ES)						
	ES 100%	AF 20%	AF 30%	AF 40%	AH 20%	AH 30%	AH 40%
PlanNorm (%)	0,00 d	25,33 c	58,67 a	56,00 a	25,33 c	26,00 c	39,33 b
PlanAnorm (%)	94,00 a	68,00 b	38,67 dc	42,00 dc	68,00 b	68,00 b	55,33 cc
CompTo (cm)	0,00 c	26,40 b	31,03 a	30,27 a	30,40 a	29,77 a	28,93 a
CompRa (cm)	0,00 e	7,60 d	10,80 c	15,20 a	13,63 b	11,60 c	12,63 bc
PeSeTo (g)	0,00 c	0,90 b	1,90 a	1,83 a	0,90 b	0,80 b	1,03 b
PeSeRa (g)	0,00 d	0,20 c	0,73 a	0,83 a	0,33 bc	0,20 c	0,43 b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste DMS.



Figura 13. Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro, sem substâncias húmicas.



Figura 14. Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro + ácidos fúlvicos: 14a. 100% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos fúlvicos; 14b. 100% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos fúlvicos; 14c. 100% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos fúlvicos.

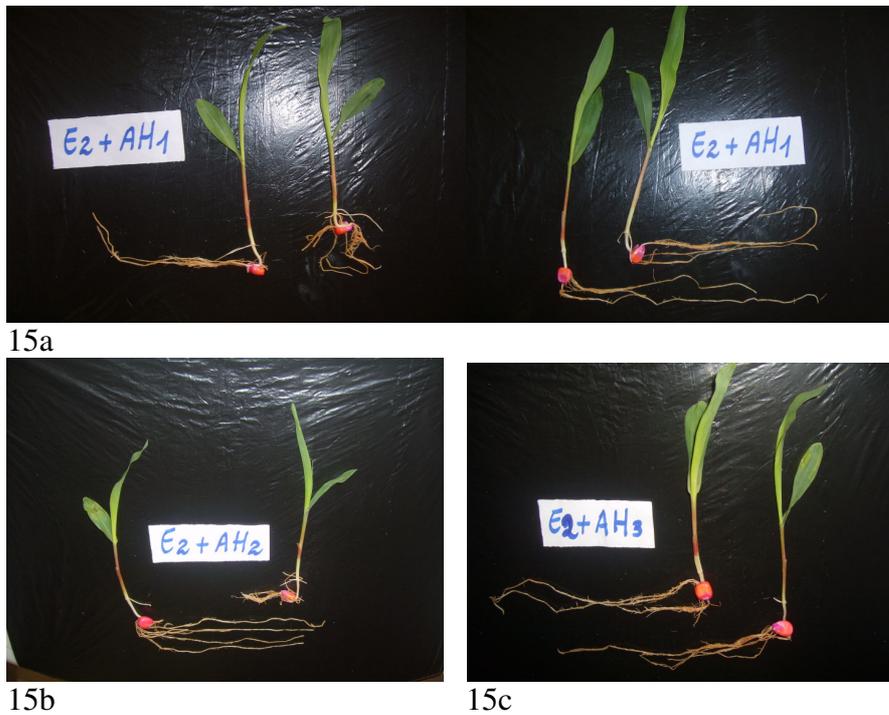


Figura 15. Plântulas de milho com 100% do extrato de sombreiro + ácidos húmicos: 15a. 100% do extrato de sombreiro + 20% de ácidos húmicos; 15b. 100% do extrato de sombreiro + 30% de ácidos húmicos; 15c. 100% do extrato de sombreiro + 40% de ácidos húmicos.

Pires et al. (2001) realizaram testes alelopáticos em plantas daninhas e verificaram que o efeito fitotóxico foi menor em solo quando comparado com o papel de filtro, indicando que algum fator relacionado ao solo pode ter neutralizado o potencial fitotóxico da substância envolvida.

Quanto às variáveis comprimento total, comprimento de raiz, peso de matéria seca total e de raiz, o tratamento controle (ES 100%) não obteve nenhum resultado, pelo fato de não ter havido plântulas normais.

Comparando-se as médias das alturas de plântulas (comprimento total) em todas as concentrações dos ácidos, verificou-se que a maior altura (31,03 cm) foi atingida no tratamento que continha 30% de ácidos fúlvicos. Apenas a média obtida em AF 20% diferiu das demais, apresentando menor altura de plântulas (26,40 cm). Menor comprimento de radícula também foi observado no tratamento AF 20% (7,60 cm) e as radículas mais longas foram encontradas na concentração de AF 40% (15,20 cm).

Plantas de abóbora apresentaram raízes maiores, maior altura de caule, maior número de flores e tamanho das folhas quando tratadas com substâncias húmicas derivadas de diferentes fontes. Também houve aumento de absorção de N, P, K, Ca, Mg e Fe nas raízes e de N, P e Fe nos caules destas plantas. Não houve variações significativas em função das fontes e das concentrações das substâncias húmicas (ABAD et al., 1991).

A análise estatística do peso de matéria seca total indicou que os tratamentos AF 30% e AF 40% foram os que produziram as maiores massas (total), com pesos de 1,90 g e 1,83 g, respectivamente. Estes não divergiram entre si, porém diferiram dos pesos constatados nas demais concentrações (de ambos os ácidos), que geraram massas equivalentes, com 0,90 g, em média.

Resultados semelhantes foram observados quanto às massas das raízes, tendo sido constatados os maiores valores de peso de massa seca de radículas nos tratamentos AF 30% e AF 40% (0,73 g e 0,83 g, respectivamente). Estes diferiram estatisticamente de todos os outros tratamentos.

No geral, os resultados verificados no segundo experimento se mostraram de acordo com os relatos de diversos autores que afirmaram que as SH do solo são capazes de adsorver uma ampla variedade de substâncias químicas orgânicas por vários mecanismos moleculares e exercer uma atividade protetora sobre germinação de sementes e crescimento de plantas contra a ação fitotóxica dos aleloquímicos. Com base nisso, sugeriram a hipótese de que o papel (ou um dos papéis) das SH poderia estar relacionado à regulação da alelopatia nas plantas (FERRARA et al., 2004; LOFFREDO et al., 2004, 2005; NARDI et al., 2002).

Sugeriram, ainda, que a eficiência das SH em controlar a ação alelopática dos aleloquímicos pode estar ligada não somente às suas propriedades funcionais e estruturais e concentração, mas também às espécies de plantas, os órgãos considerados e os tipos de aleloquímicos.

Esses resultados dão indicação de que a alelopátia é um processo dinâmico que está estreitamente relacionado a diversas condições e que a interação dos aleloquímicos com as substâncias húmicas representa um dos múltiplos fatores, aparentemente de crucial importância na modulação dos efeitos alelopáticos nas plantas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O principal fator determinante do efeito da substância alelopática presente no sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) sobre a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de milho refere-se à anormalidade das plântulas, observada a partir das menores concentrações.

Os benefícios propiciados pelo uso de substâncias húmicas (SH) na reversão desses efeitos alelopáticos foram claramente visíveis. Os resultados obtidos levam a crer que as SH reduzem os efeitos alelopáticos da leguminosa *Clitoria fairchildiana* em condições de campo. Com base nisso, acredita-se que a comunidade agrícola deve investir para o aumento de estudos nesta área, no sentido de formar conhecimentos técnico-científicos que embasem os resultados práticos já existentes, obtendo-se, desse modo, respostas a inúmeros questionamentos que diariamente se criam a respeito da ação dos ácidos fúlvicos e húmicos do solo na disponibilidade e absorção de nutrientes; no equilíbrio hormonal das plantas; no metabolismo enzimático dos vegetais; sua ação quelatizante e a sua habilidade de minimizar a toxicidade de plantas.

São necessárias pesquisas mais específicas para entender os fatores que afetam a alelopatia como resultado de interações planta-aleloquímicos-solo. Informações sobre os fatores que afetam a atividade fitotóxica de aleloquímicos no solo são muito úteis para a compreensão da alelopatia em agroecossistemas, incluindo os efeitos da matéria orgânica, superfícies minerais reativas, capacidade de trocas iônicas, íons inorgânicos e organismos específicos sobre a atuação dos aleloquímicos.

É importante enfatizar a necessidade de testes tanto laboratoriais quanto de campo. Estudos laboratoriais sobre a atividade alelopática podem mostrar o potencial fitotóxico dos aleloquímicos, enquanto que estudos de campo são fundamentais para entender os fatores que afetam sua atividade fitotóxica, embora ainda existam muitas dificuldades em estudos alelopáticos.

Muitas pesquisas expressam suas considerações em relação à insuficiência (imprecisão) de bioensaios de laboratórios para estudar a alelopatia para fins de esclarecimento do que ocorre no campo. Essa insuficiência permanecerá a menos que seja considerada a significância do solo e, dessa forma, seja dada especial atenção à influência de seus componentes sobre a ação fitotóxica dos aleloquímicos. No futuro, se tornará necessário fazer estudos mais holísticos, integrando os aleloquímicos e os vários componentes do substrato.

6 CONCLUSÕES

O extrato de leucena não exerceu ação alelopática negativa sobre as variáveis plântulas normais, anormais e comprimento de plântulas. Ao contrário, observou-se leve estímulo na germinação e no crescimento do milho. Efeitos prejudiciais moderados foram constatados apenas em altas concentrações do extrato e somente no comprimento das radículas e no peso de matéria seca de plântulas e de radículas.

O extrato de sombreiro exerceu efeito alelopático inibitório sobre a germinação das sementes e o crescimento das plântulas de milho, em todas as concentrações testadas. O fator determinante desse efeito foi a anormalidade de plântulas, constatada, principalmente, nas raízes atrofiadas.

No geral, as substâncias húmicas do solo (ácidos fúlvicos e húmicos) mostraram-se eficientes em reverter a ação alelopática inibitória do sombreiro sobre o milho. Contudo, em algumas variáveis, notou-se que os ácidos fúlvicos demonstraram maior potencial de reversão dessa ação.

De acordo com os resultados encontrados, acredita-se que as SH podem ser atuantes na reversão do efeito alelopático de leguminosas arbóreas usadas em sistemas agroflorestais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M. et al. Effects of humic substances from different sources on growth and nutrient content of cucumber plants. **Lecture Notes in Earth Sciences**, v. 33, p. 391-396, 1991.

AERTS, R. J. et al. Allelopathic Inhibition of Seed-Germination by Cinchona Alkaloids. **Phytochemistry**, v. 30, n. 9, p. 2947-2951, 1991.

AIRES, S. S.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamun indicum* L. (Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v.19, n. 2, p.339-344, 2005.

AKINNIFESI, F. K.; KANG, B. T.; LADIPO, D. O. Structural root form and fine root distribution of some woody species evaluated for agroforestry systems. **Agroforestry Systems**, n. 42, p. 121-138, 1999.

ALEGRE, J. C.; RAO, M. R. Soil and water conservation by contour hedging in the humid tropics of Peru. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, n. 57, p. 17-25, 1996.

ALFAIA, S. S. et al. Evaluation of soil fertility in smallholder agroforestry systems and pastures in western Amazonia. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 2003.

ALLARD, B. A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit Bound lipid, carbohydrate and amino acid distributions. **Elsevier Geoderma**, v.130, p.77-96, 2006.

ALTIERI, M. **Agroecologia**: bases científicas para uma agricultura sustentável. Guaíba Agropecuária, 2002. 592p.

ALVES, P. L. C. A. Estudo das propriedades alelopáticas de espécies de *Eucalyptus* spp. e sua potencialidade no manejo de plantas daninhas. **Relatório FINEP**, Jaboticabal: FCAV, 1992.

ALVES, C. C. F. et al. Atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e Ambiente**, v.10, n.1, p.93-97, 2003.

ALVES, M.da C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n.11, p.1083-1086, nov. 2004.

ANTHOFER, J.; HANSON, J.; JUTZI, S. Wheat growth as influenced by application of agroforestrytree prunings in ethiopian highlands. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 40, n.1, p.1-18, 1998.

BENE, J. G.; BEALL, H. W.; COTE, A. **Trees, food and people**: land management in the tropics. International Development Research Centre. Othawa, 1977.

BENITES, V. M.; MADARI, B.; MACHADO, P. L. O. de A. **Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo**: um procedimento simplificado de baixo custo. Embrapa solos. Comunicado Técnico, n.16, Rio de Janeiro, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

CAAMAL-MALDONADO, J. A. et al. The use of allelopathic legume cover and mulch species for weed control in cropping systems. **Agronomy Journal**, v. 93, jan./feb. 2001.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Carqueja (*Baccharis genistelloides*)**. Viçosa: Suprema, 2001. 102p.

CHEN, Y.; AVIAD, T. Efeitos de substâncias húmicas no crescimento de plantas. In: MACCARTHY, P.; CLAPP, E.; MALCOLM, R.; BLOOM, P. (Eds). **Substâncias húmicas no solo e ciência da colheita**. Leituras selecionadas. Madison, 1990. p. 161-186.

CLAUDINO, G.; CARVALHO, R. I. N. de. Efeito alelopático de extratos de carqueja e confrei em sementes de soja e milho. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 2, n. 4, p. 29-40, 2004.

COSTA, B. R.; ARRUDA, E. J.; LINCOLN, O. S. C. Sistemas agrossilvipastoris como alternativa sustentável para a agricultura familiar. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 3, n. 5, p. 25-32, set. 2002.

DUDAI, N. et al. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 5, p. 1079-1089, 1999.

DUFFY, J. E. **Biodiversity, trash heaps, and the evolutionary origins of crops**. Disponível em: <<http://www.earthportal.org/forum/?p=371>>. Acesso em: 31 de mai. de 2008.

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

ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D. Sample handling and analysis of allelochemical compounds in plants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 10, p. 584-590, 2001.

FAGIOLI, M. et al. Potencial alelopático da *Brachiaria decumbens* Stapf e *B. brizantha* Stapf na germinação e no vigor de sementes de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 7, n. ½, p. 243, 1997.

FERRARA, G.; LOFFREDO, E.; SENESI, N. Anticlastogenic, antitoxic and sorption effects of humic substances on the mutagen maleic hydrazide tested in leguminous plants. **European Journal of Soil Science**, v. 55, p. 449-458, 2004.

FERRAZ JÚNIOR, A. S. L. **Arroz de sequeiro em aléias de leguminosas sobre solo de baixa fertilidade natural**. 2000. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, [2000].

FERRAZ JÚNIOR, A. S. L. et al. Fitomassa, distribuição de raízes e aporte de nitrogênio e fósforo por leguminosas cultivadas em aléias em solo de baixa fertilidade. **Floresta e Ambiente**, v. 13, n.1, p. 61-68, 2006.

FERREIRA, A.G. e AQUILA, M.E.A.; Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 175-204, 2000.

FONTANA, A. et al. Carbono Orgânico e fracionamento químico da matéria orgânica em solos da Sierra de Ánimas – Uruguai. **Floresta e Ambiente**, v.12, n.1, p. 36-43, 2005.

FUJII, Y. et al. Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. **Weed Biology and Management**, v. 4, p.19-23, 2004.

GATTI, A.B.; PEREZ., S.C.; LIMA, M.I. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Ed. Universidade UFRGS, 2001.

GOMES, M. da R. et al. **Constituintes químicos isolados de *Clitoria fairchildiana* R. Howard (Leguminosae-Faboideae)**. Disponível em: <<http://www.ice.ufrj.br/posgrad/pdf/res-17.pdf>>. Acesso em: 10 de out. 2007.

HAUSER, S. Effect of *Acioa barteri*, *Cassia siamela*, *Flemingia macrophylla* and *Gmelina arborea* leaves on germination and early development of maize and cassava. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, n. 45, p. 263-273, 1993.

HAYES, M. H. B.; CLAPP, C. E. Humic substances: considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. **Soil Science**, v.166, n.11, p. 723-737, nov. 2001.

HORIMOTO, S. et al. Effect of hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) in paddy fields on weed suppression and rice yield. **Journal of Weed Science and Technology**, v. 47, p. 168-174, 2002.

INDERJIT. Soil: Environmental effects on allelochemical activity. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 79-84, 2001.

INDERJIT; KAUR, M.; FOY, C. L. On the significance of field studies in allelopathy. **Weed Technology Journal**, v. 15, p. 792-797, 2001.

KOBAYASHI K. Behaviors and phytotoxic activities of herbicides in soil. **Journal of Weed Science and Technology**, v. 47, p. 89-96, 2002.

KOBAYASHI, K. Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. **Weed Biology and Management**, v. 4, p. 1-7, 2004.

KONG, C.; HU, F.; XU, X. Allelopathic potential and chemical constituents of volatiles from *Ageratum conyzoides* under stress. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, p. 1173-1182, 2002.

LEITE, A. A. L. **Cultivo de milho em aléias de leguminosas como alternativa à agricultura de corte e queima**. 2002. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Estadual do Maranhão, [2002].

LOFFREDO, E.; LAERA, S.; SENESI, N. Effects of soil humic acid on allelopathic potential of root exudates from tomato plants. In: MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M.; SILVA, W. T. (Eds.). **Humic Substances and Soil and Water Environment**. International Humic Substances Society: St. Paul, MN, 2004; p. 145-147.

LOFFREDO, E.; MONACI, L. ; SENESI, N. Humic substances can modulate the allelopathic potential of caffeic, ferulic and salicylic acids for seedlings of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9424-30, 2005.

LULAKIS, M. D.; PETSAS, S. I. Effect of humic substances from vine-canec mature compost on tomato seedling growth. **Bioresource Technology**, v. 54 , p.179-182, 1995.

MACCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 738-751, 2001.

MACIAS, F.A. et al. Bioactive phenolics and polar compounds from *Melilotus messanensis*. **Phytochemistry**, London, v. 50, n. 1, p.35-46, 1999.

MACLEAN, R. H. et al. Impact of *Gliricidia sepium* and *Cassia spectabilis* hedgerows on weeds and insect pests of upland rice. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, n. 94, p. 275–288, 2003.

MATHUVA, M. N. et al. Improving maize (*Zea mays* L.) yields in semiarid highlands of Kenya: agroforestry or inorganic fertilizers? **Field Crops Research**, n. 55, p. 57-72, 1998.

MELO, E. A. de. **Árvores do Brasil**. Disponível em:
<www.arvores.brasil.nom.br/florin/sombrei.htm>. Acesso em: 31 de mai. 2008.

MOLISCH, H. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie**, Jena. Fisher, 1937.

MORITA, S.; ITO, M.; HARADA, J. Screening of allelopathic potential in arbor species. **Weed Biology and Management**, v. 5, p. 26-30, 2005.

MOURA, E. G. de. et al. **Efeito alelopático de *Clitoria fairchildiana* Howard sobre a germinação de diferentes espécies olerícolas**. Disponível em:
<http://200.210.234.180/HORTA/Download/Biblioteca/46_0147.pdf>. Acesso em: 10 de out. 2007.

NAIR, P. K. R. et al. Nutrient cycling in tropical agroforestry systems: myths and science. **Agroforestry in Sustainable Agricultural Systems**, p. 1-20, 1999.

NARDI, S. et al. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1527-1536, 2002.

OLESZEK, W. Allelopathic potentials of alfalfa (*Medicago sativa*) saponins – their relation to antifungal and hemolytic activities. **Journal of Chemical Ecology**, Dordrecht, v. 19, n. 8, p.1063-1074, 1993.

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

PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. p.145-185. In: OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J. (Coords.). **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba Agropecuária, 2001.

PIRES, N. M. et al. Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 61-65, jan./mar. 2001.

PRATES, H. T. et al. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35 n. 5, mai. 2000.

RAMOS, G. M. **Leucena pode aumentar produtividade do milho**. Disponível em: <<http://www.ambienteemfoco.com.br/?p=623>>. Acesso em: 31 de mai. 2008.

RASHID, A. et al. Inhibition of seed germination and seedling growth by hound's-tongue (*Cynoglossum officinale* L.) seed leachate. **Weed Biology and Management**, v. 5, p.143-149, may. 2005.

RAUEN, T.G. et al. Tensoatividade de ácidos húmicos de procedências distintas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 909-913, 2002.

REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, n. 5, p. 577-608, 1999.

REZENDE, C. de P. et al. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. **Boletim Agropecuário**, Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, n. 54, p.1-55, mai. 2003.

RICE, E.L. **Allelopathy**, 2.ed. Orlando: Academic Press, 1984. 422p.

RICE, E. L. Allelopathy: an overview. In: WALLER, G.R. **Allelochemical role in agriculture and forestry**. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1987. p. 7-22.

RICE, J. A.; MACCARTHY, P. A model of humin. **Environmental Science & Technology**, v. 24, p. 1875-1877, 1990.

RIZVI, S. J. H. et al. Allelopathic interactions in agroforestry systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 6, n. 18, p. 773-796, 1999.

SAMPIETRO, D.A. **Alelopatía: concepto, características, metodología de estudio e importancia**. Disponível em:

<http://produccionbovina.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/19-alelopatia.htm>. Acesso em: 5 ago. 2007.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo**. Porto Alegre: Gênese, 1999. 491p.

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

SILVA, F. M.; AQUILA, M. E. A. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. **Revista Árvore**, v. 30, n. 4, p. 547-555, 2006.

SILVA, A. C. da.; MOURA, E. G. de. Atributos e especificidades de solos de baixada no trópico úmido. In: MOURA, E. G. de (Org.). **Agroambientes de transição: entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil**. São Luís: UEMA, 2004. p.133-160.

SILVA, L. de M.V.da; PASQUAL, A. Dinâmica e modelagem da matéria orgânica do solo com ênfase ao ecossistema tropical. **Energia na Agricultura**, v. 14, n. 3, p. 13-24, 2002.

SOARES, G. L. G. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. Grand Rapids) por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, v. 7, p.190-197, 2000.

SOARES, G. L. G.; VIEIRA, T. R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. "grand rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 7, n. 1, p.180-184, 2000.

SOARES, G. L. G. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, v. 9, n. 1, p.119-126, 2002.

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

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Eds.). **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: EMBRAPA, 2002.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C. Efeitos alelopáticos do calopogônio em função de sua idade e da densidade de sementes da planta receptora. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 211-218, 2003.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: genesis, composition, reactions. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

TAKEUCHI, Y.; KAWAGUCHI, S.; YONEYAMA, K. Inhibitory and promotive allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.). **Weed Biology and Management**, v. 1, p. 147–156, 2001.

TAWATA, S.; HONGO, F. Mimosine allelopathy of *Leucaena*. **Leucaena Research Reports**, Taipei, v. 8, p. 40-41, 1987.

TAWAHA, A. M.; TURK, A. M. Allelopathic effects of black mustard (*Brassica nigra*) on germination and growth of wild barley (*Hordeum spontaneum*). **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 189, p. 298-303, 2003.

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. H. P. Potencial alelopático de cultivos de cobertura vegetal no desenvolvimento de plântulas de milho. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 287-292, 2005.

TONGMA, S.; KOBAYASHI, K.; USUI, K. Allelopathic activity of Mexican sunflower [*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray] in soil under natural field conditions and different moisture conditions. **Weed Biology and Management**, v. 1, p.115–119, 2001.

TORRES, A.; OLIVA, R. M.; CASTELLANO, D.; CROSS, P. (Eds). A Science for the Future. **In: FIRST WORLD CONGRESS ON ALLELOPATHY**, 1996, Cádiz. Spain, 1996, p.16-20.

TUKEY, H. B. JR. Implications of allelopathy in agricultural plant science. **The Botanical Review**, v. 35, p. 1–16, 1969.

VALLADARES, G. S. et al. **Proposta para classificação de Organossolos em níveis inferiores com base nas frações húmicas**. Embrapa Monitoramento por Satélite, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 2, Campinas, 2003.

VAUGHAN, D.; MALCOLM, R. E. (Eds.). **Solo, matéria orgânica e atividade biológica**. Martinus. Nijhoff Dordrecht, 1985.

WARDLE, D. A. Allelopathic in New Zealand pasture grassland ecosystem. **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**, v. 15, p. 243-255, 1987.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)