

# POTENCIAL ALELOPÁTICO DE 2-BENZOXAZOLINONA (BOA) E SUA INTERAÇÃO COM ATRAZINE NO CRESCIMENTO DE PLANTAS<sup>1</sup>

ITAMAR F. SOUZA<sup>2</sup> e FRANK A. EINHELLIG<sup>3</sup>

## RESUMO

Dois experimentos de laboratório foram conduzidos na Universidade de South Dakota, Vermillion, SD, EUA, em 1990, para determinar os efeitos do ácido hidroxâmico benzoxazolinona (BOA), do herbicida atrazine e de suas misturas sobre o crescimento e teor de clorofila de lentilha d'água (*Lemna minor*). BOA na concentração de 0,5 mM foi aplicado em combinação com atrazine a 0,001 e 0,005 mM em caixas plásticas com 24 células de 2,5 ml, contendo 3 frondes de lentilha d'água em solução nutritiva. BOA e atrazine,

aplicados isoladamente, inibiram o número, o peso seco e o teor de clorofila. Atrazine apresentou uma maior ação inibitória que BOA. A combinação BOA (0,05 mM) e atrazine a 0,001 mM foi antagonística. A inibição induzida pelo atrazine a 0,001 mM foi, em parte, neutralizada, porém, com a dose 0,005 mM a sua ação inibitória não foi alterada.

**Palavras-chave:** Acido hidroxâmico, alelopatia, lentilha d'água, *Lemna minor*.

## ABSTRACT

### Allelopathic potential of 2-benzoxazolinone (BOA) and its interactions with atrazine on plant growth

Two laboratory experiments were carried out at the University of South Dakota, Vermillion, SD, USA, in 1990, to determine the effects of hydroxamic acid benzoxazolinone (BOA), the herbicide atrazine, and a mixture thereof on duckweed growth and its chlorophyll content. BOA at 0.5 mM concentration was applied in combination with atrazine at 0.001 and 0.005 mM in a 2.5 ml cell tissue cluster dish containing three fronds of duckweed in nutrient solution. Single applications of BOA and atrazine inhibited duckweed

frond number, frond dry weight, and its chlorophyll content. Atrazine showed stronger inhibition effect than BOA. The combination BOA and atrazine at 0.001 mM was antagonistic where the inhibition induced by the herbicide was counteracted. Unlike atrazine at 0.001 mM, BOA added to atrazine at 0.005 mM did not counteract the inhibition caused by the herbicide.

**Additional index words:** Hydroxamic acid, allelopathy, duckweed, *Lemna minor*.

## INTRODUÇÃO

O primeiro relato sobre 2-benzoxazolinona BOA foi em 1955 em plântulas de centeio (*Secale cereale*), citado por Virtanen & Hietala (1960). Estes autores também isolaram 6-metoxi-2,3-benzoxazolinona (MBOA) de plantas de trigo (*Triticum aestivum*) e milho (*Zea mays*), simultaneamente

com Loomis e co-autores (Loomis *et al.*, 1957). Os glicosídeos DIBOA-Glc e DIMBOA-Glc dos ácidos hidroxâmicos DIBOA e DIMBOA, respectivamente, foram mais tarde isolados das mesmas plantas (Virtanen & Hietala, 1960). Isolados de outras substâncias do tipo 1,4-benzoxazina (HMBOA-Glc) têm sido descritos em milho (Tipton & Buell, 1967).

Na planta intacta, BOA e MBOA ocorrem nas formas glucosídicas de onde os ácidos hidroxâmicos são enzimaticamente liberados após algum tipo de dano celular, como ataque de patógenos ou homogeinização (Long *et al.*, 1974;

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 19/05/94 e na forma revisada em 27/10/94

<sup>2</sup> Pesquisador, EPAMIG, Caixa Postal 176, Lavras, MG 37200-000

<sup>3</sup> Pesquisador, University of South Dakota, Vermillion, SD, USA

Venis & Watson, 1978). Virtanem & Hietala (1960), observaram que quando tecidos intactos são cuidadosamente extraídos, somente derivados glucosídicos são observados, indicando que não existe nenhum ácido hidroxâmico livre ou benzoxazolinona no tecido intacto vivo. Após alguma injúria à planta,  $\square$ -glucosidase é liberado e rapidamente hidroliza o glucosídeo para a forma aglicone a qual, por sua vez, decompõe em água para formar a benzoxazolinona.

Estes compostos foram primeiramente isolados para o estudo de suas atividades biológicas contra fungos e a praga *Ostrinia nubilis* (Nair *et al.*, 1990).

Desde então, novas atividades biológicas foram descobertas: resistência de milho à *Ostrinia nubilis* (Nair *et al.*, 1990) e afideos (Argandona *et al.*, 1980), resistência à fungos e bactérias (Corcuera *et al.*, 1978; Woodward *et al.*, 1978), efeitos alelopáticos (Barnes & Putnam, 1987), e detoxificação de herbicidas (Hamilton, 1964) e pesticidas (Niemeyer, 1988). Estas estão entre as mais importantes atividades biológicas dos ácidos hidroxâmicos.

Embora este grupo de compostos tenha sido extensivamente estudado, a maioria dos trabalhos sobre interações planta x planta e planta x fungos e insetos tratam da forma glucosídica ou de seus ácidos hidroxâmicos; poucos relatam sobre benzoxazolinonas (Argandona *et al.*, 1980; Corcuera *et al.*, 1978; Tipton & Buell, 1970; Quiroz, 1989; Woodward *et al.*, 1978; Zuniga *et al.*, 1983).

Os objetivos deste estudo foram de avaliar 2-benzoxazolinona como agente aleloquímico, em comparação com o herbicida atrazine, bem como suas interações sobre o crescimento e teor de clorofila de lentilha d'água (*Lemna minor*).

## MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram instalados em 1990, no Departamento de Biologia da Universidade de South Dakota, Vermillion, SD, USA.

Lentilha d'água de cultura axênica foi desenvolvida em câmara de crescimento sob temperatura de 28°C e intensidade luminosa de 200  $\square$ E/m<sup>2</sup>/s. Após 12 dias elas atingiram tamanho suficiente para serem transferidas para as caixas plásticas (placas experimentais com 24 células de 2,5 ml cada célula).<sup>1</sup>

A solução nutritiva usada para receber as diferentes concentrações e as plântulas de lentilha d'água pré-desenvolvidas na câmara de crescimento, foi "E-medium" (Hillman, 1961), modificada por (Einhellig *et al.*, 1985).

Cada tratamento consistiu de três frondes de lentilha d'água por célula, contendo 2ml de "E-medium", adicionado das dosagens de BOA (0,0 e 0,5 mM) e atrazine (0,0; 0,001 e 0,005 mM).

Quatro placas experimentais foram colocadas em câmara de crescimento por sete dias, sob as mesmas condições de temperatura e intensidade luminosa anteriores, medindo posteriormente número de frondes, peso seco e teor de clorofila.

Determinou-se o número de frondes em duas das placas avaliando a matéria seca dos frondes em estufa de circu-

<sup>1</sup> Costar™. Disponível através de Beloow Galss Inc., 340 Edrudo Road, Veniland, NJ 08360, USA.

lação forçada à 40°C por 24 horas. Nas outras duas placas experimentais também o número de frondes e o teor de clorofila foram avaliados. A extração da clorofila foi de acordo com Knudson *et al.* (1977) onde frondes de duas células foram imersas em um frasco com 5ml de etanol 95%, durante 24 horas, e transferidas para um segundo frasco. Estas frondes foram imersas novamente em etanol 95%, por outras 24 horas, e as duas soluções foram misturadas e uma alíquota de 10ml foi usada para a leitura de absorbância (A) nos comprimentos de ondas de 665 e 649 nm, num espectrofotômetro Varian Cary 118CX. Posteriormente, os teores das clorofilas foram determinados de acordo com as equações (Wintermans & DeMotts, 1965; Knudson *et al.*, 1977):

$$\begin{aligned} \text{ug clorofila}_a/\text{ml} &= 13,70 \times A_{665} - 5,76 \times A_{649} \\ \text{ug clorofila}_b/\text{ml} &= 25,80 \times A_{649} - 7,60 \times A_{665} \\ \text{ug clorofila}_{ab}/\text{ml} &= 6,10 \times A_{665} + 20,04 \times A_{649} \end{aligned}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos efeitos de BOA e atrazine sobre o crescimento de lentilha d'água são apresentados na Tabela 1. BOA inibiu o número e o peso seco de frondes. Atrazine a 0,001 mM inibiu mais o crescimento de lentilha d'água do que BOA a 0,5 mM.

**TABELA 1 - Efeitos de BOA + atrazine sobre o número médio de frondes e peso seco de lentilha d'água.**

mM		Número	Peso (mg)
BOA	atrazine		
<b>Experimento 1</b>			
0,0	0,000	50,5 A <sup>1</sup>	4,4 A
0,5	0,000	33,0 B	3,6 B
0,0	0,001	6,6 D	0,7 D
0,0	0,005	3,2 E	0,2 E
0,5	0,001	29,4 C	3,2 C
0,5	0,005	4,9 E	0,4 DE
<b>Experimento 2</b>			
0,0	0,000	44,0 A	4,2 A
0,5	0,000	28,2 B	3,5 B
0,0	0,001	21,7 C	1,4 D
0,0	0,005	3,6 E	0,4 E
0,5	0,001	24,0 C	2,2 C
0,5	0,005	6,6 D	0,4 E

<sup>1</sup> Médias dentro da mesma coluna, seguidas pelas mesmas letras, não diferem entre si de acordo com o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A combinação BOA mais atrazine mostrou um efeito antagônico. Isto foi especialmente notado quando atrazine foi usado a 0,001 mM na mistura, exceto para número de frondes no experimento 2.

BOA reduziu significativamente o teor de clorofila de lentilha d'água (Tabela 2), indicando que BOA inibe a fotossíntese. Este resultado coincide com o fato de que, em

**TABELA 2 - Efeito de BOA e atrazine nos teores de clorofila de lentilha d'água.**

mM		ug/ml		
BOA	atrazine	clorofila <sub>a</sub>	clorofila <sub>b</sub>	clorofila <sub>ab</sub>
<b>Experimento 1</b>				
0,0	0,000	12,24 A <sup>1</sup>	4,10 A	16,59 A
0,5	0,000	9,66 B	3,28 B	12,94 B
0,0	0,001	1,40 D	0,52 C	1,92 D
0,0	0,005	0,50 E	0,20 C	0,70 E
0,5	0,001	7,68 C	2,84 B	10,50 C
0,5	0,005	0,75 DE	0,29 C	1,03 DE
<b>Experimento 2</b>				
0,0	0,000	9,85 A	4,82 A	14,46 A
0,5	0,000	8,57 B	3,74 B	12,07 B
0,0	0,001	3,40 D	1,73 D	5,00 D
0,0	0,005	0,61 E	0,23 E	0,79 E
0,5	0,001	5,93 C	2,89 C	8,80 C
0,5	0,005	1,06 E	0,48 E	1,55 E

<sup>1</sup> Médias dentro da mesma coluna, seguidas pelas mesmas letras, não diferem entre si de acordo com o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

experimentos prévios, BOA promoveu sintomas semelhantes àqueles causados pelos herbicidas inibidores de fotossíntese (dados não apresentados).

Os teores de clorofilas, clorofila<sub>b</sub> e clorofila<sub>a+b</sub> foram mais reduzidos por atrazine à 0,001 mM que por BOA à 0,5 mM. Quando BOA foi adicionado ao atrazine à 0,001 mM, a inibição do teor de clorofila causada pelo atrazine foi evitada, embora não ao nível de BOA aplicado sozinho. Os efeitos de atrazine à 0,005 mM sobre o teor de clorofila foi muito drástico para ser evitado pela adição de BOA.

## LITERATURA CITADA

- ARGANDONA, V.A.; LUZA, J.G.; NIEMEYER, H.M.; CORCUERA, L.J. Role of hydroxamic acids in the resistance of cereals to aphids. **Phytochemistry**, v.19, p.1665-1668, 1980.
- BARNES, J.P.; PUTNAM, A.R. Role of benzoxazinones in allelopathy by rye (*Secale cereale*). **Journal of Chemical Ecology**, v.13, p.889-906, 1987.
- CORCUERA, L.J.; WOODWARD, M.D.; HELGESON, J.P.; KELMAN, A.; UPPER, C.D. 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, an inhibitor from *Zea mays* with differential activity against soft rotting *Erwinia* species. **Plant Physiology**, v.61, p.791-795, 1978.
- EINHELLIG, F.A.; LEATHER, G.E.; HOBBS, L.L. Use of *Lemna minor* as a bioassay in allelopathy. **Journal of chemical Ecology**, v.11, p.65-72, 1985.
- HAMILTON, R.H. Tolerance of several grass species to 2-chloro-s-triazine herbicides in relation to degradation and content of benzoxazinone derivatives. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.12, p.14-17, 1964.
- HILLMAN, W.S. Experimental control of flowering in *Lemna.III*: A relationship between medium composition and the opposite photoperiodic response of *L. perpusilla* 6746 and *L. gibba* G3. **American Journal of Botany**, v.48, p.413-419, 1961.
- KNUDSON, L.L.; TIBBITTS, T.W.; EDWARDS, G.E. Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. **Plant Physiology**, v.60, p.606-608, 1977.
- LONG, B.J.; DUNN, G.M.; ROUTLEY, D.G. Rapid procedure for estimating cyclic hydroxamate (DIMBOA) concentration in maize. **Crop Science**, v.14, p.601-603, 1974.
- LOOMIS, R.S.; BECK, S.D.; STAUFFER, J.R. The European corn borer (*Pyrausta nubilalis*) and its principal host plant. V: A chemical study of host-plant resistance. **Plant Physiology**, v.32, p.379-385, 1957.
- NAIR, J.G.; WHITENACK, C.J.; PUTNAM, A.R. 2,2-oxo-1,1-azobenzene: A microbially transformed allelochemical from 2,3-benzoxazolinone. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, p.353-364, 1990.
- NIEMEYER, H.M. Review article number 39: Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones) difference chemicals in the Gramineae. **Phytochemistry**, v.27, p.3349-3358, 1988.
- QUIROZ, A. Behaviour of 4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones in strong acid media. **Chemical Interactions Between Organisms**, IFS Workshop, November 12-17, 1989, Universidad de Chile, 1989.
- TIPTON, C.L.; BUELL, E. Ferric iron complexes of hydroxamic acids from maize. **Phytochemistry**, v.9, p.1215-1217, 1970.
- VENTS, J.A.; WATSON, P.J. Naturally occurring modifiers of auxin-receptor interaction in corn: identification as benzoxazolinones. **Planta**, v.103, p.103-107, 1978.
- VIRTANEM, A.I.; HIETALA, P.K. Precursors of benzoxazolinone in rye plants. I: Precursor II, the aglicone. **Acta of Chemical Scandinaviana**, v.14, p.499-502, 1960.
- WINTERMANS, J.F.G.M.; DeMOTTS, A. Spectrophotometry characteristics of chlorophylls *a* and *b* and their pheophytins in ethanol. **Biochemical and Biophysical Acta**, v.109, p.446-453, 1965.
- WOODWARD, J.D.; CORCUERA, L.J.; HELGESON, J.P.; KELMAN, J.P.; UPPER, C.D. Factors that influence the activity of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(3H)-one on *Erwinia* species in plants. **Plant Physiology**, v.61, p.803-805, 1978.
- ZUNIGA, G.E.; ARGANDONA, V.J.; NIEMEYER, J.M.; CORCUERA, L.J. Hydroxamic acid content in wild and cultivated Gramineae. **Phytochemistry**, v.22, p.2665-2666, 1983.