

COMPORTAMENTO DO ÁCIDO ACONÍTICO E DA VINHAÇA NO SOLO

VOLL, E.¹; ADEGAS, F.S.²; GAZZIERO, D.L.P.³

¹ Embrapa Soja; Fone: (43) 3371-6252; E-mail: voll@cnpso.embrapa.br; ² Embrapa Soja; Fone: (43) 3371-6112; E-mail: adegas@cnpso.embrapa.br; ³ Embrapa Soja; Fone: (43) 3371-6270; E-mail: gazziero@cnpso.embrapa.br

Resumo

Dois experimentos foram instalados com o objetivo de determinar os efeitos da vinhaça na germinação e no crescimento do caule e raízes do amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), introduzido no Agar e no solo, em condições de laboratório. A vinhaça é um efluente poluente, advindo de destilarias de álcool, no qual ocorre o ácido aconítico (AA), um componente com atividade alelopática sobre espécies de plantas daninhas. Tratamentos com doses de até 15 mM de AA e de vinhaça, complementados com maiores níveis de umidade no solo, foram estabelecidos. Os resultados indicaram comportamentos diferenciados do AA no meio de cultivo do amendoim-bravo, sendo mais inibitório no Agar. Doses de AA a 10 mM inibiram acentuadamente o amendoim-bravo no Agar, enquanto que doses de até 15 mM no solo não indicaram nenhuma inibição. Por sua vez, a vinhaça inibiu totalmente o amendoim-bravo no Agar na dose diluída de até 1/8 de vinhaça, enquanto que no solo a dose de 1/2 tendeu a produzir uma inibição não significativa da germinação e crescimento do amendoim-bravo. A adição de maior nível de umidade no solo teve efeito negativo sobre a germinação. A aplicação de AA em Agar favoreceu o aumento de fungos sobre as sementes de amendoim-bravo, bem como aumentos de umidade do solo ou aumentos de vinhaça, na superfície do mesmo.

Palavras-chave: alelopatia, controle, *Euphorbia heterophylla*, fungos

Abstract

Two experiments were carried out with the objective of determining effects of vinasse on germination and growth of stem and roots of wild peanut (*Euphorbia heterophylla*), introduced in Agar and in soil, under laboratory conditions. Vinasse is a pollutant effluent, occurring in alcohol distilleries, in which occurs aconitic acid (AA), a substance with allelopathic activity on weed species. Treatments with doses up to 15 mM of AA and with vinasse, complemented with higher humidity levels in the soil, were established. Results indicated differentiated behaviors on wild peanut, being more inhibitory in Agar. Doses of AA up to 10 mM strongly inhibited wild peanut in Agar, while up to 15 mM of AA in the soil didn't indicate any inhibition. Also, vinasse inhibited totally wild peanut in Agar at the lowest dose of 1/8, while in the soil the dose of 1/2 tended to produce a non significant inhibition of germination and growth of wild peanut. Addition of higher humidity level in the soil avoided germination. Application of AA in Agar favored fungi increase on wild peanut seeds, as well as higher levels of humidity in soil or vinasse, on the soil surface.

Key Words: allelopathy, control, *Euphorbia heterophylla*, fungi

Introdução

O cultivo da soja orgânica deve beneficiar-se com o aproveitamento de efluentes das destilarias de álcool, seja pela sua distribuição nessas lavouras, bem como pelo seu cultivo em áreas de cana, por ocasião da renovação dos canaviais. A produção anual de cana no Brasil é da ordem de 629 milhões toneladas/ano, sendo 55,4% direcionada para produção de álcool e 45,0% para açúcar (CONAB, 2009), tendo havido uma profusão acentuada da cultura da cana e a construção de muitas usinas com finalidades de produção de etanol e/ou açúcar.

Segundo Azânia et al. (2003) o principal efluente das destilarias de álcool é a vinhaça. Além de ser fonte de nutrientes como K, sua principal fonte, apresenta também Ca, Mg e matéria orgânica, bem como outra muito importante a ser melhor pesquisada, o ácido aconítico. A partir da década de 1980, a expansão canavieira com o advento Proálcool, acentuou consideravelmente a escala e a intensidade de um problema ambiental de primeira grandeza, qual seja o da excessiva e indiscriminada utilização da vinhaça in natura como fertilizante no processo denominado de fertirrigação (Szmrecsányi, 1994). A sua aplicação nas dosagens de 80 a 120 m³ ha⁻¹ tem ajudado a recompor a

fertilidade química do solo, podendo provocar problemas de salinização em maiores quantidades em solos (Cruz, 1991).

O ácido aconítico ($C_6H_6O_6$), um açúcar de fórmula estrutural diferenciada, que apresenta atividade alelopática, é um componente orgânico importante de estruturas vegetais, sendo exsudado pelas raízes e encontrado na vinhaça. O ácido aconítico é encontrado nas gramíneas e, principalmente, na cana-de-açúcar e seus subprodutos provenientes da manufatura do açúcar e álcool, como da vinhaça (Hanine et al., 1990; Malmay et al., 1995). Segundo Larrahondo et al. (2000) uma lista de 15 compostos orgânicos foi detectada em cana Colombiana na qual foi determinado um teor de 1,8% de ácido t-aconítico, entre outras substâncias. É um ácido orgânico de baixo peso molecular e pode ser encontrado na solução do solo, juntamente com outros ácidos (Hees et al., 2000), achando-se ligado a frações de Al e Fe (Szmigielska et al., 1997).

A vinhaça, frequentemente utilizada nas áreas canavieiras, em quantidades variáveis como meio para correção do solo, principalmente para potássio, por conter ácido aconítico, também pode apresentar efeitos alelopáticos, controlando espécies de plantas daninhas (Voll et al., 2004). Segundo Azânia et al. (2003) a maioria dos trabalhos encontrados com subprodutos da indústria sucroalcooleira aborda aspectos da influência do uso deles na fertilidade do solo e nutrição de culturas. Menções ao controle de plantas daninhas foram feitas por Buss et al. (1978), que testaram o efeito da aplicação de vinhaça em mistura com herbicidas sobre a população de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar, constatando que alguns dos herbicidas poderiam ter a sua eficácia prejudicada quando aplicados com vinhaça. Balbo Jr. (1984), que estudou os efeitos da vinhaça sobre a emergência e o desenvolvimento inicial do fedegoso (*Cassia tora*), cultivado em vasos, observou que a mesma afetou negativamente a velocidade de emergência da planta. Christofolletti et al. (1985) observaram efeitos variáveis de quantidades de aplicação de vinhaça sobre algumas espécies de plantas daninhas, bem como suas interações com o controle químico na cultura da cana-de-açúcar. Voll et al. (1997, 2004) observaram a campo a redução significativa do período de sobrevivência de trapoeraba (*Commelina benghalensis*), atribuído a exudações de ácido aconítico por cobertura de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*). Testes adicionais feitos em laboratório confirmam efeitos inibitórios do ácido aconítico sobre a germinação e crescimento de outras espécies daninhas como amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*), picão-preto (*Bidens pilosa*) e guanxuma (*Sida rhombifolia*) (Voll et al., 2010; no prelo).

O objetivo desse experimento foi determinar os efeitos do ácido aconítico e da sua presença na vinhaça, introduzidos no Agar e no solo, sobre a germinação e no crescimento do amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), em condições de laboratório.

Material e métodos

Dois experimentos foram instalados em 2010, sob condições de laboratório. O experimento A teve um delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e quatro repetições, consistindo dos seguintes tratamentos: I) em Agar: a) soluções de doses de ácido aconítico (AA) (p.a.): 1) 0,0 mM; 2) 2,5 mM ; 3) 10,0 mM; b) soluções de vinhaça: 1/2, 1/4 e 1/8, complementadas com água destilada; II) no solo: a) doses de ácido aconítico (AA) (p.a.): 1) 0,0 mM; 2) 15,0 mM ; b) soluções de vinhaça: 1/2, 1/4 e 1/8, complementados com água destilada. O peso molecular do AA é de 174,11 g/mol. O solo usado foi de textura média (50% de argila, 8% silte e 42% de areia), apresentando uma densidade média de $1,16 \text{ g cm}^{-3}$ no gerbox.

O Experimento B foi estabelecido para complementar informações não fornecidas pelo anterior e consistiu de 09 (nove) tratamentos envolvendo soluções de vinhaça e volumes de irrigação adicionados a recipientes (10x10x5 cm; gerbox) com solo, ou seja - 1) doses de vinhaça: zero, 1/2 dose e dose integral; 2) níveis de umedecimento do solo: 1,0 :4, 1,5 :4 e 2,0 :4 (altura em cm da camada de solução : altura da camada de solo no gerbox), constituindo-se num experimento com delineamento fatorial 3x3. O solo foi peneirado e secado ao ar ambiente, à sombra, sendo o mesmo do experimento anterior.

Os meios de cultura foram preparados com Agar (12 g L^{-1}) para as soluções de AA com ou doses de vinhaça, esterilizados em autoclave a $115^\circ\text{C}/15 \text{ min}$. AA foi adicionado e homogenizado no ágar aos 40°C . Após, uma camada de 1,0 cm das soluções foi vertida em recipientes plásticos com tampa. Os recipientes (gerbox) com solo foram preenchidos com uma camada de 4 cm de solo, levemente compactados (densidade = $1,16 \text{ g cm}^{-3}$), sua umidade evaporada ao ambiente e acrescentada a camada de solução de AA ou vinhaça. Outro recipiente similar sem tampa foi invertido e colado com fita sobre o anterior, quando o gerbox foi preenchido com solo. Foi considerado que a vinhaça teria uma concentração aproximada de 30 mM de AA L^{-1} , ou o equivalente a $5,220 \text{ g L}^{-1}$ de AA. Vinte e cinco (25) sementes de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*),

previamente esterilizadas externamente em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por dois minutos e enxaguadas, foram semeadas na superfície dos tratamentos, com auxílio de pinça, sob capela de fluxo laminar. As sementes foram levemente pressionadas na superfície do Agar, enquanto que no solo foram incorporadas e cobertas com solo a 0,3 cm de profundidade. O experimento foi instalado em câmara de germinação, alternando períodos diários de 12/12 horas de luz (sem/com) e temperatura de 20/30°C.

As avaliações do experimento foram feitas aos 09 dias após a instalação, sendo determinadas a contagem de plântulas germinadas; os comprimentos do caule e das raízes foram determinados através da média ponderada das medidas de grupos de plântulas germinadas de diferentes tamanhos. A intensidade de fungos endofíticos desenvolvidos sobre as unidades de sementes foi determinada (%); no solo foi feita uma avaliação visual da intensidade da cobertura do solo. O experimento foi submetido à análise estatística, sendo aplicado o F-teste. As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5%.

Resultados e discussão

De modo geral, os resultados do Experimento 1 (Tabela 1) indicam efeitos alelopáticos significativos dos tratamentos do ácido aconítico (AA) sobre o amendoim-bravo, ocorrendo reduções na taxa de germinação, no caule e nas raízes, em meio de Agar. No solo não ocorreu diferença de efeitos entre tratamentos, que se assemelharam à testemunha sem AA ou vinhaça (VI). A germinação do amendoim-bravo foi de 41% no Agar, sendo maior no solo, de 66%. O crescimento do caule foi reduzido pelo AA no Agar, não diferindo dos tratamentos no solo, enquanto que a raiz foi significativamente maior no solo.

Em Agar, os efeitos do AA a 2,5 mM, embora não significativos sobre a redução da germinação de amendoim-bravo, reduziram a mesma e o crescimento do caule e das raízes a partir dessa dose. Os efeitos das diluições de 1/2, 1/4 e 1/8 de vinhaça em Agar impediram a germinação do amendoim-bravo, o que poderia indicar a presença do AA contido na vinhaça em doses maiores do que 10,0 mM de AA. A presença de fungos endofíticos (*Verticillium* sp. e *Fusarium* sp.) mostrou-se significativamente maior sobre as sementes à 2,5 mM de AA e sobre a dose de 1/8 VI no ágar, em relação a testemunha sem AA; no solo não foram detectados. Os resultados obtidos com AA (p.a.) em Agar confirmam a ocorrência de efeitos alelopáticos observados com trapoeraba (*Commelina* sp.) por Voll et al. (2004). A completa inibição do amendoim-bravo com a vinhaça supõe-se que seja devido às quantidades não determinadas de AA contido na mesma, em teores maiores que os testados.

Tabela 1. Efeitos de ácido aconítico (AA) e de vinhaça (VI), incorporados em meio de Agar e de solo sobre as características de germinação e crescimento do caule e das raízes de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), em câmara de germinação controlada.

TRATAMENTOS	Plântulas -%	Caule-cm	Raiz-cm	Fungos-%
I) AGAR				
1 - 0,0	41 bc ¹	7,66 bcd	4,66 b	5,0 a
2 - 2,5 AA	28 b	0,90 a	0,20 a	27,0 c
3 - 10,0 AA	3 a	0,45 a	0,08 a	14,0 abc
4 - 1/8 VI ²	0 a	0,00 a	0,00 a	25,0 bc
5 - 1/4 VI	0 a	0,00 a	0,00 a	10,0 ab
6 - 1/2 VI	0 a	0,00 a	0,00 a	0,0 a
II) SOLO txm				
7 - 0,0	66 d	8,10 cd	7,19 c	0,0 nd
8 - 15,0 AA	71 d	9,50 d	7,15 c	0,0 nd
9 - 1/8 VI	64 cd	8,80 d	7,71 c	0,0 nd
10 - 1/4 VI	59 cd	6,50 bc	7,35 c	0,0 nd
11 - 1/2 VI	53 cd	5,35 b	6,81 bc	0,0 nd
CV%	26,9	21,5	26,8	52,9

¹ Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

² Solução com 125 ml de vinhaça + 875 ml de água.

No solo, a germinação de amendoim-bravo foi maior do que no meio de Agar, na ausência de AA ou vinhaça, embora não tenha apresentado diferenças significativas quanto ao crescimento do caule. Por sua vez, em relação às raízes o crescimento no Agar foi menor e afetado pelo AA, enquanto que no solo com maior desenvolvimento, não foi afetado pela dose maior de 15,0 mM de AA, ou pelas semelhantes doses de vinhaça testadas em Agar. Observa-se certa tendência de redução das variáveis analisadas com a 1/2 dose de vinhaça aplicada no solo. A ausência desses efeitos inibitórios sobre o amendoim-bravo no solo, tanto do AA quanto da vinhaça, segundo Szmigielska et al. (1997), pode estar relacionada com ligações do AA a frações de Al e Fe.

A presença de fungos sobre as sementes, supostas colonizações endofíticas de *Verticillium* e *Fusarium*, ocorrendo sobre cada unidade de semente, foram observadas no meio de Agar, estimuladas pela presença do AA e não observadas neste experimento nas condições de solo. O comportamento do amendoim-bravo em relação à meia dose de vinhaça usada (1/2 VI) no solo (Tabela 1) motivou testes adicionais de vinhaça (dose cheia) e de teores de umidade, maiores do que 100 ml (150 ml e 200 ml > 100 ml). Os resultados obtidos (Tabela 2) indicam reduções de germinação e crescimento com o suprimento de 200 ml de umidade introduzida no gerbox, seja de água ou das soluções de vinhaça. A vinhaça acarretou reduções significativas com as meias doses usadas em relação aos tratamentos de água de 100 e 150 ml, ou melhor, o nível de 150 ml de água produziu um ligeiro aumento de crescimento do amendoim-bravo em relação a 100 ml de água. As doses cheias de vinhaça, por sua vez, nas tres quantidades de umidade fornecidas ao solo nos gerbox causaram inibição total da germinação/crescimento do amendoim-bravo. Uma avaliação visual da presença fúngica (de cor esbranquiçada) presente sobre o solo indicou sua ausência nos recipientes só com água, ocorreu, porém um estímulo crescente com o aumento da umidade e dos níveis de vinhaça.

Tabela 2. Comportamento de diferentes doses de vinhaça no solo e níveis de umidade do solo na germinação de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), em câmara de germinação controlada.

Tratamento		Plântulas	Caule	Raiz	Fungos - %
Dose de vinhaça (VI)	Vinhaça + Água (ml)	%	cm	cm	Avaliação visual da área coberta
0 ²	0 + 100	53 b ¹	5,86 cd	4,64 b	0
0	0 + 150	50 b	8,40 d	4,82 b	0
0	0 + 200	4 a	3,25 abc	1,08 a	0
1/2	50 + 50	10 a	2,21 ab	1,54 a	20
1/2	75 + 75	14 a	3,59 bc	1,73 a	30
1/2	100 + 100	0 a	0,00 a	0,00 a	60
1	100 + 0	0 a	0,00 a	0,00 a	10
1	150 + 0	0 a	0,00 a	0,00 a	50
1	200 + 0	0 a	0,00 a	0,00 a	70
CV%		36,3	38,7	34,6	

¹ Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

² Meia dose de vinhaça, aumentados com água para compor umidades no solo de 100, 150 e 200 ml.

De modo geral, na Tabela 1, observa-se um efeito inibitório (alelopático) acentuado, em Agar, com a dose de 10,0 mM de AA, sobre a germinação e o crescimento de amendoim-bravo, não sendo suficiente no solo, com 15,0 mM, para produzir semelhantes efeitos. A meia dose de vinhaça no Agar iniciou algum efeito inibitório não significativo, que foi acentuado no segundo experimento (Tabela 2). Neste observa-se que a inibição foi completa com a dose de vinhaça de 100 ml (diluída, ou não), correspondendo a uma aplicação de 100 m³ ha⁻¹, o que seria suficiente para fins práticos. As condições de uso da vinhaça em termos de quantidades distribuídas no solo, e a época que antecede uma cultura, podem ser importantes tanto para controlar espécies de plantas daninhas, quanto para a própria cultura a ser estabelecida.

Literatura citada

CONAB, 2009. Acompanhamento da Safra Brasileira. Cana-de-açúcar.
http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento2009_set2009.pdf

- CHRISTOFFOLETI, P.J.; BACCHI, O.O.S. Efeitos da aplicação de vinhaça sobre a população e controle químico de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Planta Daninha**, v.9, n.1/2, p.60-70, 1985.
- CRUZ, R.L. Efeito da aplicação de vinhaça sobre o solo e água subterrânea. São Carlos: USP/EESC, 1991. (Dissertação de Mestrado).
- HANINE, H.; MOURGUES, J.; MOLINIER, J. Aconitic acid removal during cane juice clarification. **Intern. Sugar Journal**, v.92, n.1103, p.219-220, 230, 238, 1990.
- HEES, PAW-VAN; LUNDSTROM, U.S.; GIESLER, R. et al. Low molecular weight organic acids and their Al-complexes in soil solution - composition, distribution and seasonal variation in three podzolized soils. Special issue: The podzolization process. **Geoderma**, v.94, n.2-3-4, p.173-200, 2000.
- LARRAHONDO, J.E.; MORALES, A.A.; VICTORIA, M.H.; JARAMILLO, A. Compuestos organicos en vinaza. Colombia: CENICANA, v.22, n.3, p.5-6, 2000. (Carta trimestral)
- MALMARY, G. H.; MONTEIL, F.; MOLINIER, J.R. et al. Recovery of aconitic acid from simulated aqueous effluents of the sugar-cane industry through liquid-liquid extraction. **Bioresource Technology**, v.52, n.1, p.33-36, 1995.
- SZMIGIELSKA, A.M.; REES, K.C.J.-VAN; CIESLINSKI, G.; HUANG, P.M.; VAN-REES, K.C.J. Comparison of liquid and gas chromatography for analysis of low molecular weight organic acids in rhizosphere soil. **Comm. Soil Sci. Plant An.**, v.28, n.1-2, p.99-111, 1997.
- SZMRECSÁNYI, T.; RAMOS, P.; RAMOS FILHO, L. O.; VEIGA FILHO, A. de A. **Dimensões, riscos e desafios da atual expansão canavieira**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 152p. (Texto para Discussão, 32).
- VOLL, E.; KARAN, D.; GAZZIERO, D.L.P. Dinâmica de populações de trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.) sob manejos de solo e de herbicidas. **Pesq. Agropec. Brasileira**, v.32, n.6, p.571-578, 1997.
- VOLL, E.; FRANCHINI, J. C.; CRUZ, R. T.; GAZZIERO, D. L. P.; BRIGHENTI, A. M.; ADEGAS, F. S. Chemical interactions of *Brachiaria plantaginea* with *Commelina benghalensis* and *Acanthospermum hispidum* in soybean cropping systems. **J. Chem. Ecology**, v. 30, n. 7, p. 1467-1475, 2004.
- VOLL, E; ADEGAS, F. S.; GAZZIERO, D. L. P. Efeitos do ácido aconítico em sementes de plantas daninhas de diferentes origens. **Planta Daninha**, v.28 ; n.1 ; p.13-22, 2010.