

ALELOPATIA DO ÁCIDO ACONÍTICO SOBRE SOJA E TEORES DE LIGNINA

VOLL, E.¹; KRZYZANOWSKI, F.C.²; GAZZIERO, D.L.P.³; ADEGAS, F.S.⁴

¹ Embrapa Soja; Plantas Daninhas; Fone: (43) 3371-6252; E-mail: voll@cnpso.embrapa.br; ² Embrapa Soja; Sementes; Fone: (43) 3371-6252; E-mail: fck@cnpso.embrapa.br; ³ Embrapa Soja; Plantas Daninhas; Fone: (43) 3371-6252; E-mail: gazziero@cnpso.embrapa.br; ⁴ Embrapa Soja; Plantas Daninhas; Fone: (43) 3371-6252; E-mail: adegas@cnpso.embrapa.br

Resumo

Um experimento foi instalado com o objetivo de determinar os efeitos alelopáticos do ácido t-aconítico (AA) sobre 15 cultivares de soja, em que foram determinadas as porcentagens de lignina do tegumento das sementes, variando entre 0,56% e 7,0%. O experimento foi conduzido em meio de cultura de Agar, em condições controladas de laboratório. Sabe-se que condições de cultivo de soja ocorrem por ocasião da renovação dos canaviais, onde com a exsudação de AA pelas raízes da cana, bem como as lavouras recebem aplicações de vinhaça. 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 2,5 mM de AA foram estabelecidos em relação à testemunha sem AA, para todas as cultivares de soja. Os dados indicaram comportamentos inibitórios do AA para as cultivares. De modo geral, não foram significativos para a variável germinação, exceto para a cv. V-MAX RR (2,33%). Quatro cultivares de soja tiveram o comprimento do caule inibido, tendo variações de teores de lignina entre 1,65% e 7,0%. Oito cultivares de soja tiveram o comprimento das raízes inibidas, sendo, de modo geral, a variável mais afetada, envolvendo qualquer teor de lignina. A possibilidade de ocorrer um estímulo da atividade predatória de fungos de solo sobre as sementes foi observada apenas sobre a cv de soja BR02 03841 (2,60%), a qual já apresentava alto grau de infestação na ausência de AA. A média das cultivares apresentou efeitos inibitórios de AA sobre comprimento do caule e raízes das cultivares de soja, não importando os níveis de lignina encontrados nos seus tegumentos.

Palavras-chave: alelopatia, cultivares de soja, inibição

Abstract

An experiment was carried out with the objective of determining allelopathic effects of t-aconitic acid (AA) on 15 soybean cultivars, in which were determined lignin contents in seed teguments, varying between 0,56% and 7,0%. The experiment was led in Agar medium, in laboratory under controlled conditions. It is known that soybean crop planting conditions happen at the renewal of sugar cane plantations, where occurs AA exsudation by cane roots, as well as farmings receive vinasse applications. Vinasse is a pollutant effluent, produced by alcohol distilleries, in which occurs aconitic acid, a component with allelopathic activity on weed species. Treatments with doses of 2,5 mM of AA were established in relation to a check without AA, for all soybean cultivars. The data indicated inhibitory behaviors of AA on those cultivars. In general, they were not significant to germination, except to the cv. V-MAX RR (2,33%). Four soybean cultivars showed stem length inhibition, having lignin content between 1,65% and 7,0%. Eight soybean cultivars showed root length inhibition, the most affected variable, involving any lignin level. Stimulus to occur soil fungi predatory activity on the seeds was just observed on the soybean cultivar BR02 03841 (2,60%), the one which already presented high degree of infestation in the absence of AA. Cultivars average presented inhibitory effects of AA for soybean length of stem and roots, no matter levels of lignin found in their teguments.

Key Words: allelopathy, soybean cultivars, inhibition

Introdução

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. A partir da década de 1980, a expansão canavieira com o advento Proácool, 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, 2008).

Atento a essa evolução, a cultura da soja 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. Segundo Azânia et al. (2003) o principal efluente das destilarias de álcool é a vinhaça. Além de ser uma fonte de K, apresentando também Ca, Mg e matéria orgânica, bem como outra muito importante a ser melhor pesquisada, o ácido aconítico, que apresenta atividade alelopática no controle de plantas daninhas (Voll et al., 2004), podendo afetar também a cultura da soja (Voll et al., 2009). Outras pesquisas sobre o manejo e controle de plantas daninhas com vinhaça foram feitas por Buss et al. (1978), Balbo Jr. (1984), Christofolleti et al. (1985) e Voll et al. (2010).

O ácido aconítico ($C_6H_6O_6$), um açúcar de fórmula estrutural diferenciada, é um componente orgânico importante de estruturas vegetais, sendo exsudado pelas raízes e também um componente da vinhaça. 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).

O objetivo do experimento foi determinar os efeitos do ácido t-aconítico e da sua presença na vinhaça, introduzidos no ágar, sobre a germinação e no crescimento de cultivares de soja, em condições de laboratório.

Material e métodos

O experimento foi instalado sob condições de laboratório, num delineamento experimental inteiramente casualizado, com 15 cultivares de soja, variando teores de lignina no tegumento das sementes e quatro repetições. As cultivares foram as seguintes, seguidos dos seus teores de lignina determinados: BRS 243 RR (0,56%), BR05 87061 RR (0,57%), BR05 - 74231 RR (0,85%), BR05 - 73737 RR (1,05%), BRS 246 RR (1,28%), BRS 232 (1,65%), BRS03 04768 (2,04%), V-MAX RR (2,33%), BR02 03841 (2,60%), BRS 284 (3,15%), BRS 256 RR SM (4,25%), BRS 255 RR (5,09%), BR05 162 93 (5,43%), BR05 - 80330 (5,95%) e DOKO (7,0%). Os teores de lignina foram determinados segundo a metodologia descrita por Krzyzanowski et al. (2001).

O meio de cultura foi preparado com Agar (12 g L^{-1}) com as soluções de AA, esterilizados em autoclave a $115^\circ\text{C}/15 \text{ min}$. AA foi adicionado e homogenizado no Agar aos 40°C . Após, uma camada de 1,0 cm das soluções foi vertida em recipientes plásticos com tampa (gerbox). Vinte e cinco (25) sementes de soja (*Glycine max*), previamente esterilizadas 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. O experimento foi instalado em câmara de germinação, alternando períodos diários de 12/12 horas de luz (sem/com) e temperatura de $20/30^\circ\text{C}$.

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 de medidas de grupos de plântulas germinadas de diferentes tamanhos. Uma avaliação da porcentagem de sementes colonizadas por fungos endofíticos das sementes foi determinada. 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

Efeitos inibitórios do AA sobre as cultivares, de modo geral, não foram significativos para a variável germinação, exceto para a cv. V-MAX RR (Tabela 1). Quanto ao caule foram afetadas as cvs. BRS 232, V-MAX, BRS 255 RR e Doko, respectivamente com 1,65%, 2,33%, 5,09% e 7,0% de lignina. O comprimento das raízes das cvs. (8) foi a variável mais afetada, envolvendo qualquer nível de lignina. As cvs. com as raízes afetadas pelo AA foram: BRS 243 RR (0,56%), BR05 87061 RR (0,57%), BR05 - 73737 RR (1,05%), BRS 246 RR (1,28%), BRS 232 (1,65%), BRS03 04768 (2,04%), BR05 16293 (5,43%) e DOKO (7,0%). A possibilidade de ocorrer um aumento da atividade predatória de fungos de solo sobre as sementes foi observada apenas sobre a cv. de soja BR02 03841 (2,60%), com baixo percentual de germinação (24%), a qual já apresentava alto grau de infestação na

ausência de AA. A média geral das cvs. apresentou efeito significativo para a manifestação dos efeitos inibitórios de AA sobre as cvs. de soja, para comprimento do caule e raízes, não importando os níveis de lignina encontrados nos seus tegumentos.

O tegumento da semente da soja é bastante fino e reduzido em teores de lignina (Delouche et al., 1967), tendo mesmo pouca influência na sua resistência a danos (Bilanski, 1966), entre outros fatores a considerar. A presença de grandes depósitos de suberina, lignina ou cutina nos tegumentos é comum em tegumentos de muitas sementes de leguminosas (Copeland, 1976). Em soja a absorção de água, bem como de nutrientes, no qual estaria incluída a absorção de AA, é admitida a presença de uma camada contínua de suberina, que em sementes normais seriam depósitos na forma de gotas com espaços, permitindo a passagem da água (Duangpatra, 1976). No caso de sementes duras, a impermeabilidade do tegumento é atribuída à presença de uma camada subcuticular suberizada e espessamento das células de Malpighi (Watson, 1948).

Como não se propôs essas alternativas de pesquisa, os resultados obtidos ficam por conta de comportamentos fisiológicos e metabólicos comuns ou normais das cultivares testadas. Segundo Voll et al. (2009) efeitos alelopáticos do AA variam de acordo com os genótipos de soja, podendo reduzir a germinação e o crescimento de plântulas de soja.

Tabela 1. Efeitos alelopáticos do ácido aconítico sobre o poder germinativo, crescimento do caule e das raízes de cultivares de soja, relacionado com teores de lignina do tegumento das sementes.

CULTIVAR (Lignina %)	Poder germinativo (%)		Comprimento do caule (cm)		Comprimento da raiz (cm)	
	AA 0	AA 2,5 mM	AA 0	AA 2,5 mM	AA 0	AA2,5 mM
BRS 243 RR (0,56%)	78,0 a ¹	84,0 a	4,06 a	4,04 a	4,39 b	1,60 a
BR05 87061 RR (0,57%)	95,0 a	99,0 a	4,51 a	3,11a	6,89 b	3,09 a
BR05 - 74231 RR (0,85%)	94,0 a	87,0 a	5,39 a	6,01a	4,75 a	4,11a
BR05 - 73737 RR (1,05%)	84,0 a	82,5 a	4,22 a	3,39 a	3,72 b	2,02 a
BRS 246 RR (1,28%)	88,0 a	87,0 a	4,24 a	3,58 a	4,38 b	2,25 a
BRS 232 (1,65%)	93,0 a	94,7 a	5,13 b	3,18 a	3,86 b	1,73 a
BRS03 04768 (2,04%)	97,0 a	97,0 a	4,50 a	3,53 a	6,38 b	3,34 a
V-MAX RR (2,33%)	81,0 b	36,0 a	4,76 b	1,70 a	2,33 a	0,68 a
BR02 03841 (2,60%)	24,0 a	23,0 a	1,80 a	1,75 a	1,77 a	1,00 a
BRS 284 (3,15%)	88,0 a	95,0 a	4,90 a	3,73 a	3,39 a	3,20 a
BRS 256 RR SM (4,25%)	92,0 a	97,0 a	4,57 a	5,42 a	3,69 a	3,56 a
BRS 255 RR (5,09%)	81,0 a	89,3 a	6,39 b	3,97 a	4,76 a	2,78 a
BR05 16293 (5,43%)	94,0 a	96,0 a	5,37 a	4,04 a	6,34 b	3,13 a
BR05 - 80330 (5,95%)	83,1 a	91,0 a	3,45 a	4,70 a	3,24 a	2,77 a
DOKO (7,0%)	100,0 a	95,0 a	8,12 b	5,12 a	7,78 b	2,88 a
Médias	85,3 a	84,0 a	4,9 b	3,9 a	4,63 b	2,58 a
CV%	9,65		27,28		38,73	

¹ Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Literatura citada

AZANIA, A.A.P.M.; MARQUES, M.O.; PAVANI, M.C.M.D.; AZANIA, C.A.M. Germinação de sementes de *Sida rhombifolia* e *Brachiaria decumbens* influenciada por vinhaça, flegmaça e óleo de fúsel. **Planta Daninha**, v.21, n.3, p.443-449, 2003.

BALBO JR., L. **Estudos preliminares dos efeitos da vinhaça sobre a emergência e desenvolvimento inicial de plantas daninhas. I - Fedegoso (Cassia tora L.)**. 1984. 41 f. Trabalho (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1984.

BILANSKI, W.K. Damage resistance to seed grains. **Am. Soc. Agri. Eng. Transac.**, v.9, n.3, p.360-363, 1966.

BUSS, A. DA GLÓRIA, N.A.; JACINTHO, O.A. Viabilidade do uso de herbicidas em mistura com vinhaça para o controle de plantas daninhas em soqueiras de cana-de-açúcar. **Plantas Daninhas**, v.1, n.2, p.49-56, 1978.

CONAB, 2009. Acompanhamento da Safra Brasileira. Cana-de-açúcar.

http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento2009_set2009.pdf

- COPELAND, L.O. How seed damage affects germination. **Crop & Soils**, v.24, n.9, p.9-12, 1976.
- 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.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LEINHARD, M. **Mechanical damage to seed**. Proc. Short Course for Seedsmen. Seed Tech. Lab/Miss. State Univ., Mississippi, 1967.
- DUANGPATRA, J. **Some characteristics of the impermeable seed coat in soybeans** (*Glycine max* (L.) Merrill). Dissertation (Ph.D.). Miss. State Univ., Miss. State, Miss. 1976.
- 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.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; MANDARINO, J.M.G.; KASTER, M. Comparison between two gravimetric methods to determine the lignin content in soybean seed coat. **Seed Science and Technology**, n.29, p.619-624, 2001.
- 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. et al. 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.; 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.; GARCIA, A.; GAZZIERO, D.L.P.; ADEGAS, F.S. Alelopatia do ácido aconítico em soja. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 4, n. 6, p. 645-648, 2009.
- VOLL, E; GAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F. S. Efeitos do ácido aconítico em sementes de plantas daninhas de diferentes origens. **Planta Daninha**, v.28 ; n.1 ; p.13-22, 2010.
- WATSON, D.P. Structure of the testa and its relation to germination in the Papilionaceae tribes Trifoliae and Loteae. **Ann. Bot. New Series**, v.2, p.385-410, 1948.