



INFLUÊNCIA DO EXTRATO BUTANÓLICO DE MILHETO NAS VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO E ATIVIDADE RESPIRATÓRIA DE ÁPICES DE SOJA (*Glycine max* L. Merrill)

*Angela Valderrama Parizotto*¹, *Fernanda Lima Kagami*¹, *Katia Aparecida Kern Cardoso*²,
*Emy Luiza Ishii Iwamoto*³

A alelopatia pode ser definida como qualquer processo que envolva metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influencie o crescimento e desenvolvimento dos sistemas biológicos. O controle de plantas daninhas tem sido o objeto de estudo nos últimos tempos, tendo em foco a alelopatia como alternativa para o seu controle devido à resistência aos fertilizantes sintéticos, dentro desses aleloquímicos esta a fração butanólica de milho. Entretanto, é necessário saber se estes aleloquímicos além de causarem a morte de plantas invasoras se provocam algum prejuízo a planta cultivada no caso a soja. Sementes de soja foram semeadas em caixas de gerbox sendo colocadas sobre 2 folhas de papel germitest previamente umedecidas com H₂O destilada ou com as diferentes concentrações do extrato butanólico de milho (250mg/L, 500mg/L e 1000mg/L) por 72h para as avaliações. A partir dessas análises resultados demonstraram o aumento no crescimento e biomassa fresca da raiz e caule da planta de soja, tendo o extrato butanólico de milho (1000mg/L) influenciado também no consumo de oxigênio de ápices radiculares de soja.

PALAVRAS-CHAVES: *alelopatia, butanólico de milho, respiração.*

INTRODUÇÃO

A alelopatia é um fenômeno definido como: “qualquer processo que envolva metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influencie o crescimento e desenvolvimento dos sistemas biológicos” (Anaya, 1999).

1 Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (área de concentração Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá-UEM-Maringá-Paraná. angelaparizotto@hotmail.com ; fernandakagami@gmail.com .

2 Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (área de concentração Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá-UEM-Maringá-Paraná. katiakern@hotmail.com.

3 Orientadora Professora Doutora do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (área de concentração Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá-UEM-Maringá-Paraná eliwamoto@uem.br.

Nas últimas décadas, o controle de plantas daninhas de modo eficiente foi aliado ao uso de fertilizantes sintéticos, resultando assim em um aumento da produtividade das culturas. Apesar do sucesso do controle com os herbicidas, algumas espécies têm desenvolvido resistência a determinados mecanismos de ação. Por causa disto, o estudo da alelopatia tem recebido considerável atenção nos últimos anos, seja pelos aleloquímicos liberados ao meio, que podem diminuir a produção agrícola (Chou, 1983), ou pelo potencial que representam como defensivos agrícolas naturais (Einhellig, 1985).

A utilização desses defensivos, como a palhada de milho, foi relatada por Freitas et al. (2006) que concluiu que sua utilização antecedendo o plantio de soja possibilitou a redução das doses dos herbicidas utilizadas para o controle em pós-emergência das plantas daninhas que estavam na cultura.

No entanto, as avaliações se restringiram ao efeito da palhada sobre o crescimento da gramínea *Brachiaria plantaginea*, sem que houvesse uma avaliação dos efeitos metabólicos causados na soja avaliando sua emergência e crescimento.

Existem inúmeros estudos sobre o potencial aleloquímico das plantas quando expostas isoladamente a plantas daninhas e/ou a plantas cultivadas. Entretanto, ainda são poucas as evidências que comprovam que ocorra a supressão de uma cultura por outra e suas influências fisiológicas e metabólicas tanto em plantas indesejadas quanto cultivadas.

Desse modo, estes experimentos tiveram como objetivo avaliar a influência do extrato butanólico de milho sobre variáveis de germinação, crescimento, determinação da atividade respiratória de mitocôndrias isoladas e de ápices radiculares de plântulas – tecido íntegro- de soja.

MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de soja foram submetidas à esterilização superficial em solução de hipoclorito de sódio 2%, lavadas em água destilada esterilizada e levadas para a câmara de fluxo laminar, para serem semeadas. Em caixas de gerbox (11 x 11), 25 sementes de soja foram colocadas sobre 2 folhas de papel germitest, previamente autoclavadas e umedecidas com H₂O destilada ou com as diferentes concentrações do extrato butanólico de milho. As seguintes concentrações foram utilizadas: 250mg/L, 500mg/L e 1000mg/L. Após a semeadura, as sementes foram levadas para câmara de germinação com fotoperíodo de 12 horas claro e escuro, na temperatura constante de 25°C.

No período de 72 horas, os caules e as raízes primárias foram removidos, seus comprimentos medidos e imediatamente pesados em balança analítica, para obtenção do peso de matéria fresca. Foram então, levadas a uma estufa com temperatura de 80°C por 24 horas, em seguida, determinado o peso de matéria seca.

Ápices radiculares obtidos de plântulas, expostas ou não ao extrato butanólico de milho, tiveram sua atividade respiratória determinada após o período de 72 horas. A respiração das raízes primárias das plântulas foi medida polarograficamente, a 25°C, usando um eletrodo de oxigênio tipo Clark, inserido na câmara de acrílico e conectado a um polarógrafo. Cerca de 0,2 gramas de ápices radiculares, foram retirados, pesados e imediatamente transferidos para a câmara de acrílico contendo 2ml do meio de incubação composto de solução nutritiva, com pH previamente ajustado para 5,8. A velocidade de consumo de oxigênio foi expressa em μ moles de oxigênio consumidos por minuto e relacionado à quantidade de tecidos, em gramas, utilizado para a medida. Considera-se a concentração de O₂ dissolvido no meio de incubação a 25°C de 250 μ M.

Para discriminar a respiração via citocromo-oxidase da respiração via oxidase alternativa e da respiração devida às oxidases extramitocondriais foram utilizados os inibidores SHAM e KCN, inibidores da AOX e da citocromo-oxidase, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis biométricas apresentam grande importância para avaliar o desenvolvimento e as respostas imediatas a exposição do composto alelopático. Os parâmetros de crescimento da soja – comprimento de raiz e de parte aérea – foram afetados significativamente em relação ao controle. No comprimento da raiz, a concentração de 1000mg/L do extrato butanólico de milho provocou um aumento significativo dessa variável, sendo que as outras concentrações (250 e 500 mg/L) não alteraram o crescimento. Já no comprimento do caule, as concentrações de 500 e 1000mg/L do extrato afetaram significativamente, provocando um aumento da parte aérea da plântula de soja, além de diferenciarem do controle as concentrações 500 e 1000 mg/L diferenciaram entre si (Figura 1).

A biomassa fresca apresentou diferença estatística quando as sementes de soja foram expostas ao extrato na concentração de 1000 mg/L que provocou o aumento da variável, significando assim uma maior capacidade de absorção de água e extrato o que propicia um melhor desenvolvimento para as plantas, dados estes que podem ser confirmados com a variável crescimento que teve um aumento significativo na mesma concentração. O aumento da biomassa fresca demonstra a capacidade do extrato em proporcionar uma melhoria metabólica às plantas de soja já que pode ser verificados aumentos nas variáveis biométricas. Já a biomassa seca não apresentou diferença para nenhum dos tratamentos (Figura 1).

Os resultados revelam que o extrato de milho na soja não causou inibição no crescimento - provocando ainda um aumento de suas variáveis biométricas (crescimento da raiz, parte aérea e massa fresca) na maior concentração, o que indica uma melhora em suas variáveis.

As medidas da atividade respiratória foi de 72 horas. As concentrações do extrato de milho testadas foram de: 0mg/L, 250mg/L, 500mg/L e 1000mg/L. Para a determinação da atividade respiratória dos ápices radiculares, foi primeiramente discriminada a respiração insensível ao SHAM e, posteriormente, a respiração insensível ao cianeto. Como mostrada na Figura 2, a atividade respiratória total dos ápices radiculares não sofreu alterações significativas nas concentrações de 250 e 500mg/L de extrato butanólico de milho. Entretanto, na concentração de 1000mg/L, a atividade respiratória dos ápices das raízes apresentou um aumento em torno de 28% em relação ao controle. Os dados revelam que a atividade respiratória foi decorrente principalmente da oxidase alternativa mitocondrial (AOX), pois a respiração foi inibida acentuadamente pela adição de SHAM (Figura 2B).

A respiração SHAM-insensível das raízes primárias foi em média 33%, 35%, 24% e 32% da respiração total nas concentrações de 0, 250, 500 e 1000mg/L, respectivamente. Porém, as médias não diferiram estatisticamente umas das outras, sugerindo que a respiração SHAM-insensível não foi alterada pelo extrato butanólico de milho. A respiração cianeto-insensível não apresentou atividade. Sugerindo desta forma que os ápices radiculares da soja não possuem consumo de oxigênio devido a oxidases extramitocondriais.

A fração maior da respiração total foi devido a atividade da oxidase alternativa mitocondrial, assim o incremento da respiração total observado na concentração de 1000mg/L deve-se ao aumento da atividade da AOX. Este aumento da atividade da AOX pode estar relacionado com o aumento da produção de EROS. A produção de EROS é uma inevitável consequência da cadeia transportadora de elétrons fotossintética (Arora et

al., 2002). A retirada rápida e eficiente das EROS é essencial, pois as EROS podem causar danos severos as células, podendo até levar a morte celular. Uma das funções sugeridas para a AOX é na manutenção da homeostase de oxigênio, reduzindo o excesso de oxigênio, sem interferir no suprimento de oxigênio para o complexo IV e, ao mesmo tempo minimizando a produção de EROS na mitocôndria (Skutnik e Rychter,2009). Outra hipótese seria a AOX como amortecedora das oscilações respiratórias que podem levar ao estresse oxidativo (Rasmusson et al, 2009).

Apesar do papel deletério atribuído as EROS, algumas hipóteses defendem seu papel de sinalizador celular. Desta forma, pode-se sugerir que as EROS, produzidas na fotossíntese, podem estar contribuindo para o aumento do crescimento do caule na soja, além de estimular a atividade da AOX para minimizar a produção de EROS.

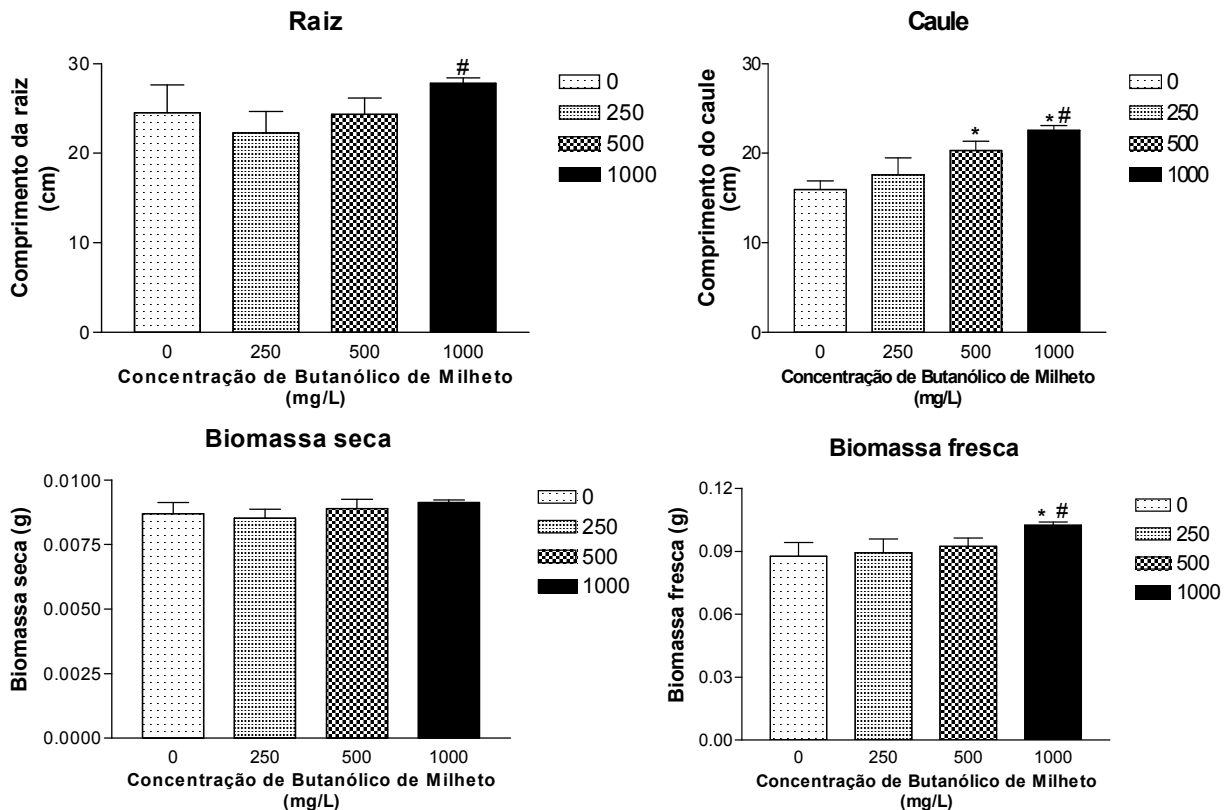


Figura. 1. Efeitos do extrato de butanólico de milho sobre o comprimento da raiz e caule (cm), biomassa fresca e seca (g) de plântulas de soja. Os valores são médias \pm erro padrão; médias com * diferem do controle pelo teste de Duncan $p < 0,05$.

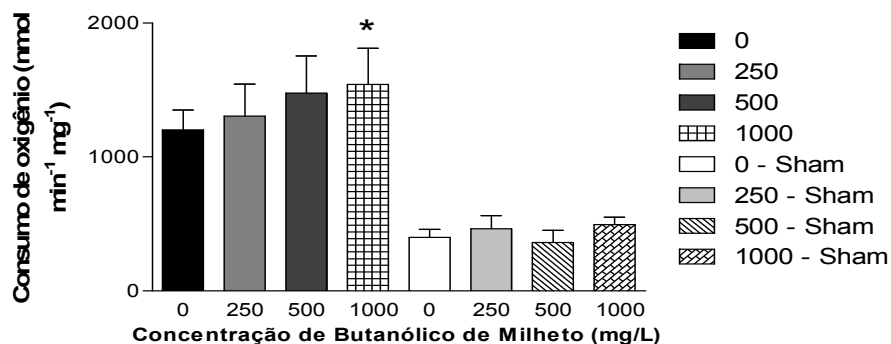


Figura. 2. Efeitos do extrato butanólico de milho sobre a atividade respiratória em raízes primárias de soja. Consumo de oxigênio na ausência (respiração total) e presença de SHAM avaliado em polarógrafo. N=5 médias com * diferem do controle pelo teste de Duncan $p < 0,05$.

CONCLUSÃO

Dessa forma, em plântulas de soja podemos observar que um componente químico no ext

rato butanólico de milho estaria agindo na célula estimulando o crescimento do caule que por conseqüência causa um aumento na fotossíntese e EROS. Este excesso de EROS estimularia a atividade da AOX, responsável por minimizar este aumento. Mais estudos seriam necessários para confirmar esta hipótese, como a investigação de algumas enzimas antioxidantes e outros para identificar o mecanismo de redução do crescimento em amendoim-bravo.

REFERÊNCIAS

- Anaya, A.L. (1999) Allelopathy as a tool in the mangement of biotic resources in agroecosystems. **Crit Rev Plant Sci** 18: p.697-739.
- Arora, A.; Sairam, R. K.; Srivastava, G. C. (2002) Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science** 82: p.1227-1238.
- Chou, C.H. (1983) Allelopathy in agroecosystems in Taiwan. In: Chou,Ch-H; Waller, G.R. (eds). **Allelochemicals and Pheromones**. Taipei/Taiwan: Academia Sinica Monograph Series 5: p. 27-64.
- Einhellig FA (1985) Allelopathy – a natural protection, allelochemicals. In: Blushan M. (ed.) **Handbook of Natural Pesticides: Methods. Volume 1. Theory, Practice, and Detection**. Boca Raton/FL: CRC Press, p.161-200.
- Freita SP, Rodrigues JC, Silva CMM (2006) Manejo de plantas daninhas no plantio direto da soja (*Glycine max*) sobre o milho (*Pennisetum maximum*). **Planta Daninha** 24: p. 481-487.
- Rasmusson, A.G.; Fernie, A.R.; vanDongen J.T. (2009) Alternative oxidase: a defence against metabolic fluctuations? **PhysiolPlant** 82: p.137:371.
- Skutnik, M., Rychter, A.M. (2009) Differential response of antioxidant systems in leaves and roots of barley subjected to anoxia and post-anoxia. **JPlantPhysiol** 37: p.166:926.