



## **INFLUÊNCIA DO ALELOQUÍMICO 2-BENZOXAZOLINONA NA ATIVIDADE FOTOSSINTÉTICA DE PLANTAS DE SOJA (*Glycine Max* L.Merrill)**

Angela Valderrama Parizotto<sup>1</sup>, *Marcela de Paiva Foletto*<sup>1</sup>, *Graciene Bido*<sup>2</sup>, *Oswaldo Ferrarese Filho*<sup>3</sup>

A alelopatia é um fenômeno que ocorre amplamente na natureza como um dos mecanismos pelos quais algumas plantas podem interferir em suas vizinhas de diversas formas. O 2-Benzoxazolinone (BOA) é um aleloquímico presente em muitas monocotiledôneas e possui alta fitotoxicidade, interferindo na germinação, na divisão celular, no metabolismo e inibição do crescimento de plantas superiores, encontrado principalmente em cereais, atuando como fator de resistência a doenças microbianas, a insetos e como um potencial aleloquímico. Plantas de soja incubadas em sistemas de fotoperíodo, aeração e temperatura controlados foram expostas ao aleloquímico 2-Benzoxazolinone na concentração de 0,5 mM no 12º dia de cultivo. Em dias consecutivos (14º, 16º, 18º e 20º dias) foram feitas análises relacionadas à capacidade de fotossíntese da planta com um analisador de gás por infra-vermelho (IRGA) acoplado a um medidor de fluorescência da clorofila a. Ao final do experimento (22º dia), variáveis biométricas foram mensuradas (comprimento de raiz, caule e cálculo de área foliar). A partir destas análises, resultados demonstraram que BOA apresenta um efeito prejudicial para o desenvolvimento da soja, principalmente nos períodos iniciais de exposição. Sendo que a suspensão do uso promove a recuperação de alguns índices, o que permite inferir que a BOA pode ser usada como um herbicida natural com pequenos efeitos residuais.

**PALAVRAS-CHAVE:** 2-Benzoxazolinona, fitotoxicidade, fotossíntese

<sup>1</sup> 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](mailto:angelaparizotto@hotmail.com); [mpfoletto@yahoo.com.br](mailto:mpfoletto@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (área de concentração Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá-UEM-Maringá-Paraná. [gsbido@hotmail.com](mailto:gsbido@hotmail.com)

<sup>3</sup> Orientador Professor Doutor do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (área de concentração Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá-UEM-Maringá-Paraná. [oferrarese@uem.br](mailto:oferrarese@uem.br)

## INTRODUÇÃO

A alelopatia é um fenômeno que ocorre amplamente na natureza, e tem sido postulado como um dos mecanismos pelos quais algumas plantas podem interferir em suas vizinhas, alterando o padrão e a densidade da vegetação em uma comunidade de plantas (Rice, 1974). Tem sido proposto que as interações alelopáticas apresentam grande efeito no processo evolutivo de comunidades de plantas através da perda de susceptibilidade de algumas espécies por interferência química e pela imposição da pressão seletiva favorecendo indivíduos resistentes a inibição de um dado aleloquímico (Bais et al., 2004).

Os aleloquímicos são primordialmente oriundos do metabolismo secundário. Com raras exceções, provêm das vias metabólicas do ácido chiquímico, acetato, ou ainda, de esqueletos químicos resultantes de uma combinação dessas duas vias (Almeida, 1988).

O 2-Benzoxazolinone (BOA) é um aleloquímico presente em muitas monocotiledôneas e possui alta fitotoxicidade encontrado principalmente em cereais (Sánchez-Moreiras e Reigosa 2010) sendo um potencial candidato a herbicida natural. Este composto é produzido naturalmente como um anti-Fusarium, sendo um importante fator de resistência contra doenças microbianas, insetos e como aleloquímico (Sicker et al., 2000).

Atua de maneira dose-dependente na germinação, crescimento das plantas, metabolismo energético de plantas superiores, dano oxidativo e celular, peroxidação lipídica, divisão celular das radículas e fotossíntese. Embora mostre efeitos mais fortes na germinação de sementes, os impactos no desenvolvimento da planta adulta também são importante devido à sua presença contínua no campo quando culturas que sintetizam a BOA são usadas como cobertura vegetal e em rotações de cultura (Dhima et al., 2006).

Portanto, o nosso estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do aleloquímico BOA 0,5mM nas variáveis fotossíntese, transpiração, carbono intercelular, condutância estomática, teor de clorofila e crescimento em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max* L. Merr.), variedade BRS-232, submetidas a desinfecção em solução de NaClO a 2%, foram germinadas em câmara escura, a 25°C, e as plântulas obtidas após três dias. Após três dias, as plântulas foram transferidas para recipientes de acrílico contendo 350 ml de solução nutritiva com o pH 6,0. Os recipientes foram acondicionados em ambiente controlado: temperatura a 25°C, sistema de aeração contínua e uma iluminação com densidade de fluxo de fótons (PFD) de 290  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 14h claro/10h escuro, onde permaneceram por 22 dias, tendo a solução nutritiva renovada de dois em dois dias. No tratamento a BOA 0,5 mM foi adicionado à solução nutritiva apenas no 12º dia de cultivo. Para as análises do 14º, 16º, 18º e 20º dias as plantas voltaram a ser tratadas apenas com solução nutritiva para verificar a sua recuperação.

As análises de fluorescência e fotossíntese da plantas de soja foram realizadas com um analisador de gás por infra-vermelho (LCpro+, ADC-BioScientific) acoplado a um medidor de fluorescência da clorofila a (Fluorometer PAM-2000). As medidas de fotossíntese e fluorescência na luz foram realizadas a 25°C sob uma PFD de 1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Os parâmetros de fotossíntese e fluorescência foram mensurados nos 14º, 16º, 18º e 20º dias de cultivo utilizando os folíolos terminais dos 1ºs trifólios completamente expandidos no 14º e nos outros dias de análise foram utilizados os 2ºs trifólios.

A fluorescência inicial da clorofila ( $F_o$ ) e a fluorescência máxima ( $F_m$ ) foram mensuradas após 20 min de adaptação ao escuro. O parâmetro  $F_v/F_m$  foi calculado a partir da fórmula  $F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m$ .

Determinaram-se os teores de clorofila nos folíolos terminais do 1º e 2º trifólio com auxílio do medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Minolta câmera Co. Ltd.).

Os comprimentos foram determinados ao final do experimento com 22 dias de cultivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O 2-Benzoxazolinone é um potente composto alelopático que tem se mostrado previamente com uma alta capacidade fitotóxica (Baerson et al., 2005). Esta fitotoxicidade altera diversas variáveis, entre elas a fotossíntese, afetada diretamente pela exposição a este metabólito secundário.

As figuras 01, 02, 03 e 04 apresentam parâmetros relacionados às trocas gasosas realizadas pelas plantas. A taxa fotossintética ( $A$ ) permite avaliar a capacidade de realização de síntese de compostos orgânicos na presença de luz, no 14º e 16º dias de cultivo as plantas tratadas com BOA 0,5 mM sofreram uma redução significativa na capacidade fotossintética quando comparadas com as plantas controle, verificando um restabelecimento, mesmo não significativo ao fim do experimento.

A influência do 2-Benzoxazolinone na fotossíntese em plantas de alface é relatada por Sánchez-Moreiras e Reigosa (2010), em que estas são expostas ao aleloquímico e tem sua fitotoxicidade mensurada por meio da fotossíntese por 96h.

Devido às trocas gasosas, a fotossíntese, respiração, transpiração, condutância estomática e concentração interna de  $CO_2$  estão diretamente interligadas. Na figura 2 observa-se a diminuição da condutância estomática das plantas expostas a BOA de forma comparativa com a diminuição da taxa fotossintética, tendo os menores índices de fotossíntese e condutância estomática após os dois primeiros dias de exposição ao aleloquímico. A concentração de  $CO_2$  intercelular ( $C_i$ ) no 20º dia de cultivo estava significativamente maior nas plantas tratadas com BOA 0,5 mM comparadas as controle (Figura 03), demonstrando uma linearidade com a condutância estomática das plantas tratadas na figura 02. A maior  $C_i$  coincide com a maior taxa fotossintética (figura 01).

A transpiração ( $E$ ) diminuiu nas plantas tratadas em relação às plantas controle nas leituras realizadas no 14º, 16º e 18º dias de cultivo, sendo significativa a redução apenas no 14º dia (Figura 04), esta diminuição se deve ao fechamento estomático demonstrado na figura 02. Com a diminuição da abertura estomática a transpiração é afetada diretamente já que a transpiração nas plantas pode ser cuticular, lenticular e estomática. A transpiração pelos estômatos é o principal tipo, sendo afetada diretamente pela condutância estomática.

A incidência da luz nas folhas das plantas pode apresentar três destinos: transporte de elétrons, calor e fluorescência. A fluorescência no claro (Yield) corresponde ao rendimento quântico do fluxo de elétrons através do PSII in vivo, ou seja, a eficiência global de centros de reação do FSII na luz ( $\Phi_{PSII}$ ), medindo a proporção da energia absorvida que é usada na fotoquímica (a eficiência alcançada) (Sánchez-Moreiras and Reigosa 2010). Os valores de fluorescência da *clorofila a* adaptada a luz (Yield) e adaptada ao escuro ( $F_v/F_m$ ) referentes ao 1º trifólio (14º dia de leitura) e 2º trifólio (16º, 18º e 20º dias de leitura) de plantas de soja são demonstrados na tabela 01, verificou-se uma redução significativa da fluorescência na presença de luz no primeiro (14º) e no terceiro (18º) dias de leitura quando comparados ao controle.

O resultado da fluorescência no escuro foi significativo apenas no primeiro dia de leitura (14º).

Quando se compara a taxa fotossintética e a medida de fluorescência no claro, verifica-se que mesmo as plantas tendo se recuperado em relação a fotossíntese (figura 01) elas não se recuperaram em termos da eficiência de se utilizar desses elétrons absorvidos na fase fotoquímica. A inibição de valores  $\Phi$ PSII insinua uma fraca eficiência dos centros de reação do FSII e indica uma alteração da taxa de transporte de elétrons linear, sugerindo que a proporção de fótons absorvidos pelo PSII e usado para a fotossíntese é reduzida.

O teor de clorofila (figura 05) é a média da quantidade de clorofila presente em uma determinada área foliar, observou-se o menor teor de clorofila do 16º ao 18º dia de exposição à BOA estando relacionada com a redução da taxa fotossintética (figura 01).

Em relação aos parâmetros de crescimento – comprimento de raiz e de caule – apenas o comprimento do caule diminui em relação ao controle de forma significativa (Figura 06). As variáveis biométricas indicam visualmente o estresse sofrido pela planta durante o período de exposição à BOA. A área foliar do primeiro trifólio foi significativamente diferente (50% menor) entre o controle e as plantas exposta ao aleloquímico. Após o 14º dia as plantas não foram mais expostas à BOA, sendo a solução nutritiva apenas renovada, isto demonstrou a não alteração da área foliar do segundo trifólio. Sanchez-Moreiras e Reigosa (2005) em plantas de alface concluíram que BOA afeta o metabolismo oxidativo, iniciando um processo de indução de senescência com conseqüente inibição do crescimento e desenvolvimento das plantas.

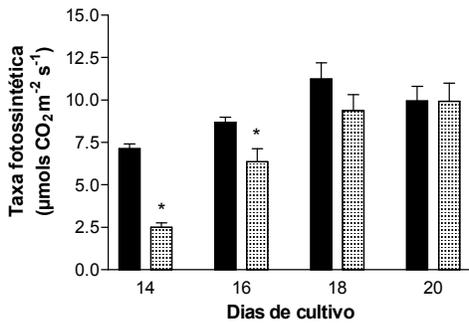


Figura 1

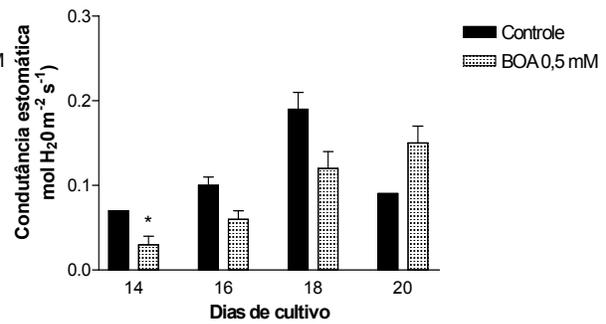


Figura 2

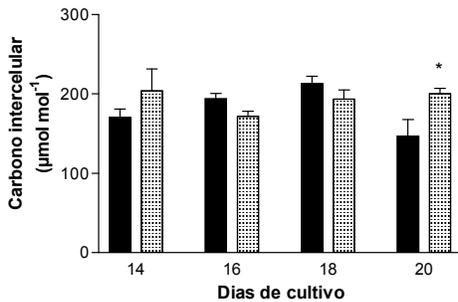


Figura 3

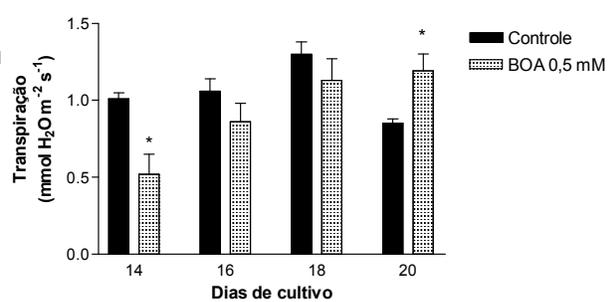


Figura 4

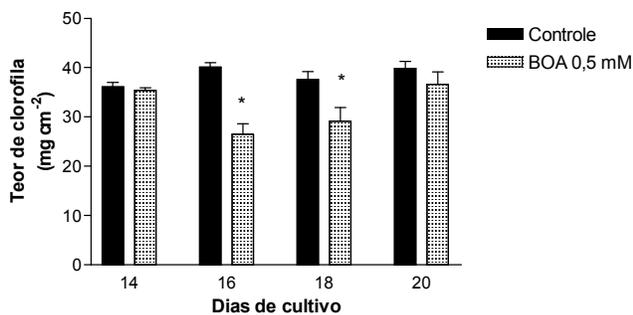


Figura 5

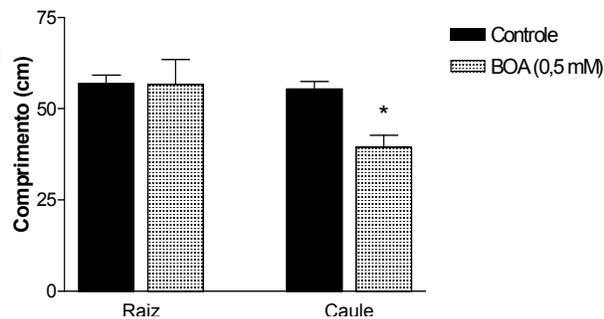


Figura 6

Figuras 1, 2, 3, 4, 5 e 6: Representam respectivamente a taxa fotossintética (A); Condutância estomática (Gs); Concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (C<sub>i</sub>); Transpiração (E); Teor de clorofila (TC) e Comprimento, nos diferentes dias de cultivo em plantas de soja (*Glycine Max* L. Merrill) controle e tratadas com 2-Benzoxazolinona (BOA). N = 4; médias com \* diferem do controle pelo teste Scott-Knott p < 0,05.

Tabela 01.: Fluorescência no claro (Yield) e no escuro (Fv/Fm) nos diferentes dias de cultivo em plantas de soja (*Glycine Max* L. Merrill) controle e tratadas com 2-Benzoxazolinona (BOA).

| Fluorescência no claro |               |                | Fluorescência no escuro |               |                |
|------------------------|---------------|----------------|-------------------------|---------------|----------------|
| Dias                   | Controle      | BOA (0,5 mM)   | Dias                    | Controle      | BOA (0,5 mM)   |
| 14°                    | 0,360 ± 0,010 | 0,290 ± 0,024* | 14°                     | 0,801 ± 0,004 | 0,674 ± 0,042* |
| 16°                    | 0,367 ± 0,016 | 0,383 ± 0,007  | 16°                     | 0,800 ± 0,004 | 0,796 ± 0,005  |
| 18°                    | 0,553 ± 0,018 | 0,479 ± 0,016* | 18°                     | 0,804 ± 0,004 | 0,803 ± 0,003  |
| 20°                    | 0,344 ± 0,018 | 0,377 ± 0,017  | 20°                     | 0,796 ± 0,005 | 0,809 ± 0,003  |

## CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, pode-se concluir que o 2-Benzoxazolinone foi o responsável pelos efeitos alelopáticos negativos exercidos na soja, pois promoveu diminuição nos parâmetros de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração, concentração de CO<sub>2</sub> intercelular, fluorescência no claro e no escuro, bem como no volume consumido, na área foliar do 1º trifólio e no crescimento de caule, entre os primeiros dias de exposição ao aleloquímico. No entanto, alguns parâmetros obtiveram a recuperação após o término de reposição com a BOA, o que permite concluir que este aleloquímico não apresenta efeito residual na soja.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. S. **A alelopatia e as plantas**. Circular n. 53. IAPAR, 1988, 60 p.

BAERSON, S.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M.; PEDROL, N.; SCHULZ, M.; KAGAN, I. A.; AGARWAL, A. K.; REIGOSA, M. J.; DUKE, S. O. **Detoxification and transcriptome response in Arabidopsis seedlings exposed to the allelochemical benzoxazolin-2(3H)-one**. J. Biol. Chem. 280:21867–21881, 2005.

BAIS, H. P.; PARK, S. W.; WEIR, T. L.; CALLAWAY, R. M.; VIVANCO, J. M. **How plants communicate using the underground information superhighway.** Trends in Plant Science, v. 9, n. 1, p. 26-32, 2004.

DHIMA, K. V. VASILAKOGLU, I. B.; ELEFTHEROHORINOS, I. G.; LITHOURGIDIS, A. S. **Allelopathic potential of winter cereal cover crop mulches on grass weed suppression and sugarbeet development.** Crop Sci, v. 46, p. 1682-1691, 2006.

RICE, E. L. **Allelopathy**, 1st Edition, New York: Academic Press, 1974.

SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M.; REIGOSA, M. J. **Reduced Photosynthetic Activity is Directly Correlated with 2-(3H)-benzoxazolinone Accumulation in Lettuce Leaves.** J Chem Ecol, v. 36, p. 205–209, 2010.

SÁNCHEZ-MOREIRAS, A. M.; REIGOSA, M. J. **Whole plant response of lettuce after root exposure to boa (2(3h)-benzoxazolinone).** Journal of Chemical Ecology, Vol. 31, No. 11, November 2005.

SICKER, D.; FREY, M.; SCHULZ, M.; GIERL, A. **Role of natural benzoxazinones in the survival strategy of plants.** International Review of Cytology, n. 198, p. 319–346, 2000.