

ÁCIDO ACONÍTICO EM SEMENTES DE ESPÉCIES DE PLANTAS DANINHAS DE DIFERENTES LOCAIS¹

Aconitic Acid on Seeds of Weed Species from Different Locations

VOLL, E.², GAZZIERO, D.L.P.² e ADEGAS, F.S.²

RESUMO - Plantas em estado vegetativo, como trigo ou aveia usados nos sistemas de cultivo de soja, podem produzir e liberar substâncias alelopáticas pelas suas raízes, afetando espécies de plantas daninhas, somando-se aos efeitos produzidos pelas suas palhadas. Experimentos foram conduzidos em laboratório com o objetivo de determinar os efeitos do ácido aconítico sobre as espécies de plantas daninhas amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*), picão-preto (*Bidens pilosa*) e guanxuma (*Sida rhombifolia*), provenientes de diferentes locais do Estado do Paraná. Os ensaios constaram de tratamentos com e sem ácido aconítico 2,5 mM L⁻¹. Corda-de-viola recebeu um pré-tratamento de escarificação com ácido sulfúrico. As sementes foram esterilizadas externamente com solução de hipoclorito de sódio a 2% durante dois minutos e enxaguadas. Em capela asséptica, em gerbox contendo meio de cultura de ágar, foram dispostas na superfície 50 sementes/ recipiente. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação controlada. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. A origem das sementes teve influência nos resultados obtidos. A germinação das sementes foi afetada pelos efeitos do ácido aconítico na maioria dos locais. Ocorreu também a redução do crescimento das plântulas, sendo mais afetadas as raízes do que o caule, nas quatro espécies. O ácido aconítico apresenta efeitos alelopáticos sobre as sementes de diferentes espécies de plantas daninhas, variáveis com o local de origem, estimulando o crescimento de diferentes fungos endofíticos. Os efeitos do ácido aconítico podem traduzir-se na redução do período de sobrevivência dos bancos de sementes no solo.

Palavras-chave: alelopatia, fungos endofíticos, banco de sementes, dinâmica de populações.

ABSTRACT - Plants in vegetative state, such as wheat or oat used in soybean crops, may produce and release allelopathic substances through their roots, affecting weed species, complemented by the effects produced by straw. Experiments were carried out under laboratory conditions to determine the effects of aconitic acid on weed species such as wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*), morningglory (*Ipomoea grandifolia*), prickly sida (*Sida rhombifolia*) and beggarticks (*Bidens pilosa*) originated from different locations in the state of Paraná. Experiments consisted of treatments with and without AA 2,5 mM L⁻¹. Morningglory received a pre-treatment with sulfuric acid. The weed species seeds were sterilized externally using sodium hypochloride solution at 2% during two minutes and then rinsed. In an aseptic hood, in a gerbox containing agar medium, 50 seeds/container were placed on the surface. Experiments were arranged in a completely randomized design, with four replications, placed in a germination chamber. Seed origin influenced the results obtained. In general, seed germination was affected by aconitic acid in most locations. Growth reduction of seedlings was observed, with the roots being more affected than the stems, in all the species. Aconitic acid presents allelopathic effects on different weed species, depending on their place of origin, stimulating the growth of several endophytic fungi. Aconitic acid effects may result in reduction of the survival period of the seedbanks in soil.

Keywords: allelopathy, endophytic fungi, seedbank, population dynamics.

¹ Recebido para publicação em 8.2.2009 e na forma revisada em 12.3.2010.

² Eng^o-Agr^o, Dr., Pesquisador em Plantas Daninhas da Embrapa Soja, Caixa Postal 231, 86001-970 Londrina-PR, <voll@cnpso.embrapa.br>.



INTRODUÇÃO

Efeitos alelopáticos sobre espécies daninhas podem ser causados por plantas em estado vegetativo, ou pela decomposição de seus restos vegetais de palhadas. A permeabilidade do tegumento das sementes daninhas às substâncias exsudadas pelas suas raízes das plantas também permite que fungos endofíticos das sementes sejam estimulados a se desenvolver e a destruir aquelas ainda dormentes, reduzindo, assim, o banco de sementes.

Culturas como as de trigo (Thompson et al., 1997); pastagens de gramíneas (Friebe et al., 1995), milho e sorgo; cevada e trigo (Rustamani et al., 1992); e, principalmente, cana-de-açúcar (Hanine et al., 1990) produzem e exsudam ácido aconítico através de suas raízes.

O ácido aconítico (AA), uma substância identificada em gramíneas, como em capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*), é responsável por efeitos alelopáticos e estímulo ao crescimento de fungos endofíticos de sementes de trapoeraba (*Commelina benghalensis*), conforme relatado por Voll et al. (2004). O AA resulta do metabolismo do açúcar na planta, apresentando a mesma fórmula molecular, porém a estrutural é modificada (Goodwin & Mercer, 1983). Outros relatos sobre o AA indicam importantes funções fisiológicas (Rustamani et al., 1992; Thompson et al., 1997; Watanabe et al., 1997). O ácido t-acnótico é comumente encontrado em clarificações de caldo de cana-de-açúcar (Hanine et al., 1990) ou na vinhaça. É um ácido orgânico de baixo peso molecular (174,11 g) e pode ser encontrado na solução do solo, juntamente com outros ácidos (Hees et al., 2000).

Diferenciais de comportamento de espécies de plantas daninhas, como de amendoim-bravo, picão (*Bidens pilosa*) e trapoeraba (Voll et al., 1997, 2001), podem ser alterados nas suas capacidades de germinação e ter reduzida a sua sobrevivência no solo. Corda-de-viola (*Ipomoea aristolochiaefolia*), referida como espécie de baixa capacidade germinativa, apresenta um tegumento bastante impermeável (Mikusinski, 1987), assim como de outras espécies do gênero *Ipomoea*, o que propicia a manutenção da viabilidade das sementes por longo tempo (Stoller & Wax, 1973;

Chandler et al., 1977), podendo influenciar a absorção de substâncias alelopáticas. Sementes como as de balãozinho (*Cardiospermum halicacabum*) podem apresentar tegumento bastante impermeável, porém com a eliminação deste podem ocorrer germinação e emergência significativas (Johnston et al., 1979). Sementes que apresentam mucilagens, como as de amendoim-bravo, apresentam facilidade de germinação (Harper & Benton, 1966), sendo influenciadas pela quantidade de chuva nos diferentes locais. Diferentes condições de permeabilidade do tegumento de sementes à água podem interferir na absorção de substâncias alelopáticas. Outro fator a considerar é a produção de “sementes duras” (Stoller & Wax, 1973), influenciadas pelas condições ambientais (Probert et al., 1985), incluindo-se os fatores genéticos (Chancellor, 1982).

O objetivo desta pesquisa foi determinar efeitos inibidores (alelopáticos) em sementes e estimulatórios de fungos endofíticos, produzidos pela ação do ácido aconítico, sobre algumas espécies de plantas daninhas, coletadas em diferentes locais do Estado do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatro experimentos foram conduzidos em laboratório, envolvendo as sementes das espécies de plantas daninhas amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), picão-preto (*Bidens pilosa*), corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) e guanxuma (*Sida rhombifolia*), coletadas em diferentes locais do Estado do Paraná, no período de fevereiro a março de 2006 e 2007, e conservadas em câmara seca (10 °C e UR do ar a 40%), sendo testadas cerca de quatro meses mais tarde.

Ágar bacteriológico a 12 g L⁻¹, introduzido em água destilada, foi autoclavado por 15 minutos a 120 °C. Depois disso, o meio de ágar foi resfriado (40-45 °C) e adicionada a respectiva dose de 2,5 mM L⁻¹ de AA puro para análise, no estado ainda líquido, cujo peso molecular é de 174,11 g. Uma quantidade de 100 mL de cada tratamento foi introduzida em recipientes de plástico com tampa e deixada a resfriar para adquirir consistência sólida. Um tratamento testemunha, sem AA, foi preparado. Corda-de-viola recebeu um tratamento

adicional de escarificação das sementes com ácido sulfúrico concentrado, durante cinco minutos, e enxaguada. As sementes foram, então, esterilizadas externamente com solução de hipoclorito de sódio a 2% durante dois minutos e enxaguadas por igual período. A seguir, em capela asséptica e com auxílio de uma pinça, foram dispostas na superfície do meio 50 sementes/recipiente, usando quatro repetições. O experimento foi colocado em câmara de germinação, com ciclos de luz e de temperatura de 14/10 horas e 30 °C/20 °C, respectivamente.

O vigor das sementes foi avaliado após um período de 10-12 dias, por meio do percentual de germinação, quando esta cessou, e do crescimento, medindo-se o comprimento do caule e da raiz. Após um período de 5-7 dias, foi feita a identificação e a contagem dos diferentes tipos de fungos que contaminavam as sementes. Quanto ao amendoim-bravo, foram feitas análises químicas das sementes para alguns locais de coleta, a fim de identificar possíveis correlações de comportamento.

O delineamento usado foi o inteiramente casualizado, com arranjo fatorial e quatro repetições. Foi feita a análise da variância e o F-teste. A comparação entre as médias foi feita pelo teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeitos do ácido aconítico (AA) em sementes de amendoim-bravo

Os locais do Estado do Paraná foram ordenados de modo decrescente de germinação para o tratamento sem aplicação do AA. A taxa de germinação máxima e mínima de amendoim-bravo foi de 95,0 e 16,0%, respectivamente, indicando ocorrer alta capacidade de germinação e considerável amplitude no ano entre os locais (Tabela 1). O AA nem sempre manifestou seus efeitos inibitórios sobre a germinação das sementes provenientes dos diferentes locais, por meio de redução significativa. Níveis de redução da germinação, não significativos, podem ser constatados tanto nos percentuais altos de germinação das sementes sem AA quanto nos mais baixos. O AA reduziu a germinação em 13 locais, o comprimento do caule em 22 locais e a raiz do

amendoim-bravo em todos os 24 locais. As reduções médias decorrentes dos efeitos alelopáticos foram de 16,2% na germinação, 40,3% no comprimento do caule e 84,4% no comprimento de raízes.

O estímulo de AA sobre o desenvolvimento de fungos endofíticos das sementes de amendoim-bravo foi avaliado e feita uma tentativa de identificação deles (Tabela 2). Dois tipos de fungo foram predominantes: *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. Considerando-se as médias, apenas *Aspergillus* foi estimulado, o que foi possibilitado pela sua maior infestação, e, na ausência de AA, os locais não diferiram entre si. *Fusarium* apresentou variações com e sem AA nos diferentes locais e poucas vezes com diferenças significativas, em vista da menor infestação. O somatório de fungos assemelhou-se no comportamento ao de *Aspergillus*. A presença do fungo *Bipolaris* foi observada no local Céu Azul, e a de *Rhizopus*, em São Miguel, onde foi observado o estímulo significativo do AA. Prete et al. (1984) detectaram, em amostras de sementes de plantas daninhas de 15 espécies, a presença de esporos de fungos de diversos gêneros, como de *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Phoma*, *Rhizopus*, *Fusarium* e outros. Os microrganismos endofíticos de sementes, como fungos, são considerados patógenos latentes (Azevedo & Melo, 1998). Os endófitos podem produzir toxinas e destruir as sementes. Efeitos alelopáticos e estímulos no desenvolvimento de fungos endofíticos foram observados em sementes de trapoeraba (*C. benghalensis*) (Voll et al., 2004), em amendoim-bravo (*E. heterophylla*) e em corda-de-viola (*I. grandifolia*) (Voll et al., 2005). A predominância de espécies de fungos tende a variar com as espécies de plantas daninhas. A presença de AA em plantas de capim-marmelada (*B. plantaginea*) representou 95% das substâncias alelopáticas (Voll et al., 2004). Na média geral, o AA estimulou o surgimento de fungos de 11,1 para 36,6%, numa proporção de 1:3,3.

Uma análise química das sementes de amendoim-bravo, compreendendo a escolha de alguns locais e separação em classes de germinação, não mostrou relação com as características de germinação ou a presença de fungos (Tabela 3).



Tabela 1 - Efeitos do ácido aconítico (AA) na germinação e no comprimento do caule e da raiz de amendoim-bravo, aos 12 dias, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2006

Locais (24)	Germinação (%)		Caule (mm)		Raiz (mm)	
	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA
Toledo	95,0aA	94,0aA ^{1/}	62,9chA	28,3dfB	47,7bdA	5,2acB
Santa Terezinha I	89,5abA	64,0beB	64,3chA	35,1afB	33,5ehA	4,1acB
Formosa do Oeste	88,0abA	66,0beB	66,6bgA	33,8 bfB	49,0bcA	9,2acB
Ubiratã	86,5acA	42,0ehB	81,0abA	40,0adB	39,0cfA	3,0acB
Matelândia	85,5acA	46,0ehB	61,0diA	51,2aB	31,1eiA	4,7acB
Campo Mourão	83,5acA	84,5acA	57,4ejA	32,7cfB	35,1egA	3,3acB
Santa Terezinha II	83,0acA	67,0beB	60,1diA	35,4afB	41,1ceA	2,0bcB
Assis	82,5acA	88,5abA	78,7acA	33,1bfB	53,7bA	5,8acB
Medianeira	77,9dfA	53,5adB	31,9mA	42,7afA	29,9eiA	9,0cB
Bragantina	75,0adA	74,5adA	45,8imA	20,9fB	37,0dgA	7,3acB
Bandeirante do Oeste	74,5adA	57,5dfB	72,4bfA	37,0afB	55,6bA	5,2acB
Quinta do Sol	73,0adA	80,0adA	73,7beA	39,3adB	50,2bcA	1,5cB
Janiópolis I	70,5acA	81,5beA	91,9aA	34,8bfB	72,0aA	7,8acB
São Pedro	69,5beA	48,5egB	73,4bfA	47,7acB	37,1dgA	6,2acB
Campo Mourão	69,0beA	34,0fiB	78,2acA	42,0adB	36,9dgA	2,8bcB
Tupãssi	66,0beA	60,0ceA	48,3hlA	37,1afB	27,9fiA	4,5acB
Cafelândia	62,0cfA	42,5ehB	57,3fjA	38,4aeB	34,5egA	5,2acB
Mamborê	51,5dfA	30,0giB	65,bgA	33,3bfB	27,1giA	12,1acB
São Miguel	45,5egA	24,0giB	61,0mA	22,1efB	31,1hiA	3,2acB
Vera Cruz do Oeste	39,0fhA	23,0hiB	53,0gkA	34,6bfB	28,7fiA	13,5abB
Céu Azul	38,0fhA	48,0ehA	42,0jmA	49,3abA	21,4iA	6,0acB
Tupãssi	22,0ghA	25,5giA	75,4bdA	46,8acB	28,6fiA	14,7aB
Jataizinho	20,0hA	23,5giA	36,6lmA	28,5dfA	34,9egA	7,1acB
Peabiru	16,0hA	9,0iA	38,6kmA	27,0dfB	32,4eiA	6,4acB
Médias	64,1A	53,7B	60,3A	36,0B	37,8A	5,9B
CV (%)	16,1		12,9		20,3	

^{1/} Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Efeitos de ácido aconítico (AA) em sementes de picão-preto

As taxas de germinação e os comprimentos do caule e da raiz de picão-preto apresentaram diferenças significativas entre os diferentes locais de origem das sementes sem AA, as quais desapareceram com AA, que reduziu significativamente as médias dos parâmetros analisados (Tabela 4). Os efeitos inibitórios de AA foram significativos em relação à germinação na maioria das vezes. A variabilidade dos fatores analisados foi reduzida entre os locais com a aplicação do AA.

A germinação de picão entre os locais variou numa amplitude de 32,0 a 47,8%, na ausência de AA. O AA reduziu a germinação de picão em cerca de 26,8%, em média, e o

crescimento do caule e da raiz em 82,8 e 76,9%, respectivamente.

A ocorrência de fungos endofíticos nas sementes de picão indicou a predominância de três espécies, citando-se *Fusarium* > *Bipolaris* > e *Aspergillus* (Tabela 5). *Aspergillus* não apresentou diferenças entre os locais de origem das sementes ou maior presença do fungo em função da aplicação do AA. A infestação de *Bipolaris* também não apresentou diferenças entre os locais de origem das sementes, ocorrendo estímulo na maioria com a aplicação do AA, verificando-se aumento significativo na média geral. Para *Fusarium*, não houve diferenças entre os locais e nas suas médias, com ou sem a aplicação de AA, havendo aumento da infestação do fungo com a aplicação do AA em parte dos locais. No

Tabela 2 - Ocorrência e intensidade de fungos endofíticos em sementes de amendoim-bravo, com e sem ácido aconítico (AA), em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2006

Locais (24)	<i>Aspergillus</i> sp.		<i>Fusarium</i> sp.		spp. (%)	
	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA
Toledo	0,3aA	2,0gA ^{1/}	0,3dA	0,0dA	1,0bcA	4,0iA
Santa Terezinha I	0,5aB	9,0fgA	0,5dB	8,5abA	2,5bcB	35,0ehA
Formosa do Oeste	0,8aA	2,3gA	4,5bdB	9,0aA	10,5bcB	27,5fiA
Ubiratã	0,0aB	32,0aA	0,8dA	0,5dA	3,0bcB	65,5abA
Matelândia	2,0aB	24,8acA	2,0cdA	3,0bdA	8,0bcB	58,0aeA
Campo Mourão	2,8aA	4,5fgA	1,0dA	2,8bdA	7,5bcA	15,0giA
Santa Terezinha II	0,0aB	5,8fgA	0,0dA	1,0cdA	0,0cA	24,5fiA
Assis	0,8aA	1,8gA	2,5cdA	1,5cdA	7,5bcA	7,5iA
Medianeira	0,0aA	2,0gA	3,5bdA	4,0bdA	7,0bcA	17,0giA
Bragantina	1,8aA	6,3fgA	0,5dA	0,3dA	4,5bcA	15,5giA
Bandeirante do Oeste	8,3aB	19,8bdA	0,3dA	0,0dA	17,5bcB	41,0cfA
Quinta do Sol	6,3aA	9,5egA	0,3dA	0,0dA	13,0bcA	19,0fiA
Janiópolis	0,0aA	4,3fgA	1,0dA	1,8bdA	8,0bcA	13,5hiA
São Pedro	2,3aB	29,5aA	1,5cdA	0,8cdA	7,5bcB	60,5adA
Campo Mourão	1,8aB	29,3abA	0,5dA	1,5cdA	4,5bcB	62,0acA
Tupãssi	0,0aA	10,0egA	4,5bdA	3,0bdA	9,0bcB	27,0fiA
Cafelândia	0,5aB	23,5acA	4,3bdA	4,0bdA	9,5bcB	55,0aeA
Mamborê	1,5aB	19,0ceA	8,3bcA	7,5acA	20,0bcB	62,0acA
São Miguel	2,0aA	5,8fgA	4,0bdA	4,0bdA	24,5abB	68,0aA
Vera Cruz do Oeste	0,5aB	11,0dgA	4,8bdA	6,3adA	10,5bcB	34,5ehA
Céu Azul	2,8aB	19,bdA	6,0bdA	1,0cdB	19,0bcB	42,0bfA
Tupãssi	2,8aB	23,3acA	20,8aA	7,5acB	48,0aB	61,5dA
Jataizinho	0,0aB	13,5dfA	10,0bA	5,3bdB	20,0bcB	38,0dgA
Peabiru	0,0aB	8,0fgA	2,5cdA	4,3bdA	5,0bcB	24,5fiA
Médias	1,6B	13,2A	3,5A	3,2A	11,1B	36,6A
CV (%)	49,4		78,1		38,1	

^{1/} Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

somatório das espécies de fungos, ocorreu maior variabilidade da presença entre as origens das sementes, nem sempre aumentada com a aplicação do AA. Na média, houve aumento da infestação de 6,2 para 11,0%.

O picão-preto apresenta absorção rápida de água num período mínimo de tempo, em horas, resultando em emergência de até 87,5 (Adegas et al., 2003), o que pode facilitar a absorção de AA. Por sua vez, uma embebição prolongada de um dia pode resultar numa germinação prejudicada (Reddy & Singh, 1992).

Efeitos do ácido aconítico (AA) em sementes de corda-de-viola

As taxas de germinação de corda-de-viola, em locais sem AA, foram semelhantes em seis

dos sete locais (Tabela 6), variando entre 7,5 e 28,0%. Os comprimentos do caule e da raiz também apresentaram variações entre locais.

Na média dos tratamentos com AA, a germinação não foi afetada por ele; no entanto, foi aumentada pela escarificação das sementes (AS+AA), devido aos efeitos significativos da interação desse tratamento com os locais, em S. Antônio do Paraíso e Assaí. Por sua vez, os comprimentos do caule e da raiz foram significativamente reduzidos na presença do AA, não sendo alterados pelos efeitos do ácido sulfúrico aplicado anteriormente.

Corda-de-viola (*Ipomoea aristolochiaefolia* = *grandifolia*), referida como espécie de baixa capacidade germinativa, apresenta um tegumento bastante impermeável (Mikusinski, 1987),



Tabela 3 - Análise química de sementes de amendoim-bravo, coletadas em 14 locais do Estado do Paraná

Locais (Sem AA)	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Mn	Fe	Cu	B
	(g kg ⁻¹)						(mg kg ⁻¹)				
Germinação: 0-50%											
Peabiru	55,9	4,7	11,0	9,2	3,6	1,5	42,7	29,1	40,2	12,8	15,0
Tupãssi	61,0	6,0	10,6	11,9	3,5	1,4	52,1	50,4	99,9	14,7	15,1
Jataizinho	63,1	6,9	12,2	10,9	4,3	1,8	42,2	27,1	52,0	23,2	16,6
Céu Azul	46,9	5,7	12,9	9,7	4,1	1,7	50,7	45,1	62,0	17,1	17,6
Germinação: 51-80%											
São Pedro	65,6	7,4	11,4	10,6	4,2	1,6	62,4	39,4	48,4	15,9	2,5
Medianeira	43,0	7,3	10,6	9,1	4,1	1,7	71,3	44,2	41,6	12,4	2,3
Bragantina	66,8	8,6	16,0	12,7	5,7	2,1	109,7	60,3	86,8	16,5	7,1
Campo Mourão	44,8	8,5	12,5	11,0	4,8	1,5	52,0	26,3	82,0	14,3	2,0
Cafelândia	64,6	8,4	11,6	11,5	5,1	1,5	51,2	33,6	64,2	19,7	10,5
Germinação: 81-100%											
Ubiratã	42,5	5,5	8,6	14,9	3,7	1,5	41,1	57,4	51,8	15,6	7,4
Matelândia	64,5	6,8	12,0	9,8	4,1	1,5	49,0	57,8	50,8	13,9	2,4
Campo Mourão	61,1	7,7	11,7	11,0	4,3	1,5	58,7	65,9	54,1	12,8	9,4
Janiópolis	47,8	6,2	12,7	10,3	4,1	1,5	61,7	44,7	65,1	16,8	19,2
Toledo	63,3	7,3	10,7	12,0	5,0	1,6	51,2	86,0	64,9	16,1	7,7
Máximo	66,8	8,6	16,0	14,9	5,7	2,1	109,7	86,0	99,9	23,2	19,2
Mínimo	42,5	4,7	8,6	9,1	3,5	1,4	41,1	26,3	40,2	12,4	2,0

assim como de outras espécies do gênero *Ipomoea*, o que propicia a manutenção da viabilidade das sementes por longo tempo (Stoller & Wax, 1973; Chandler et al., 1977), podendo influenciar a absorção de substâncias alelopáticas. Sementes como as de balãozinho (*Cardiospermum halicacabum*) podem apresentar tegumento bastante impermeável, porém com a sua eliminação pode ocorrer significativa germinação e emergência (Johnston et al., 1979).

A presença de *Fusarium* nas sementes de corda-de-violão, no tratamento "Sem AA", foi semelhante em seis dos sete locais (Tabela 7), não combinando com os níveis de germinação. A infestação variou entre 1,5 e 29,0%, enquanto o somatório, com a inclusão de *Bipolaris* e de outras espécies (não citadas), variou entre 2,0 e 37,5%, destacando-se em um dos locais. A presença do fungo *Bipolaris* foi baixa, com diferenças não significativas entre locais.

Nas médias dos tratamentos com AA (Tabela 7), não houve efeito significativo da aplicação desse ácido no percentual de *Fusarium* presente nas sementes de corda-de-violão, bem como para o somatório das espécies de fungos.

No entanto, o aumento foi significativo quando o ácido sulfúrico foi aplicado previamente na escarificação da espécie, aumentando também no seu somatório das espécies de fungos.

Para efeito dos tratamentos nos diversos locais (Tabela 7), observa-se que não houve estímulos significativos da aplicação de AA sobre os fungos *Fusarium*, *Bipolaris* ou no somatório das demais espécies identificadas, ocorrendo apenas com a escarificação prévia das sementes para *Fusarium*, em Santa Mariana (73,5%) e Uraí (59,5%). Contudo, no somatório das diversas espécies de fungos, a escarificação das sementes com ácido sulfúrico resultou em aumento significativo das infestações, ocorrendo em maior número de locais, citando-se Santa Mariana (78,0%), Santo Antônio do Paraíso (51,5%), Jataí (73,0%) e Uraí (73,0%).

Dez espécies de fungos foram identificadas na superfície das sementes: *Fusarium*, *Bipolaris*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Macrophomina*, *Trichoderma*, *Alternaria* e *Cladospermum*, com predominância das duas primeiras. Muitas dessas espécies de fungos foram também identificadas por

Prete et al. (1984) em amostras de sementes de plantas daninhas coletadas na região de Piracicaba.

Efeitos de ácido aconítico (AA) em sementes de guanxuma

Diferenças significativas de germinação de guanxuma ocorreram entre sementes

coletadas em 11 locais, variando de 4,0 a 61,0%, na ausência do ácido aconítico (Tabela 8). Também ocorreram variações significativas entre os locais para os comprimentos do caule e da raiz. A aplicação de AA não mostrou efeitos alelopáticos significativos na germinação de sementes coletadas em nove dos 11 locais. A germinação foi reduzida em 12,4%, na média. No entanto, os comprimentos

Tabela 4 - Efeitos do ácido aconítico (AA) sobre a germinação e o crescimento do caule e da raiz de picão-preto, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2007

Locais (12)	Germinação (%)		Caule (cm)		Raiz (cm)	
	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA
Campo Mourão	38,8adA	19,3aB ^{1/}	2,09abA	0,51aB	1,83abA	0,56aB
IV Centenário	41,5adA	33,5aB	3,19ceA	0,51aB	3,24efA	0,71aB
São Pedro	32,0aA	25,0aA	2,62acA	0,61aB	2,19acA	0,58aB
São Miguel do Iguaçú	35,0acA	25,8aB	2,41acA	0,44aB	2,76ceA	0,63aB
Jesuítas	38,0adA	25,8aB	1,93aA	0,41aB	1,74a A	0,67aB
Formosa do Oeste	38,8adA	31,0aB	3,18ceA	0,36aB	3,24efA	0,48aB
Nova Santa Bárbara	33,8abA	31,5aA	2,68adA	0,65aB	2,15acA	0,57aB
Uraí	45,0bdA	34,3aB	3,50deA	0,61aB	3,85f A	0,64aB
São Judas Tadeu	46,0bdA	33,5aB	3,76eA	0,56aB	2,83ceA	0,58aB
São Sebastião Amor	44,8bdA	32,0aB	2,88bdA	0,53aB	2,96deA	0,52aB
Santa Cecília Pavão	47,8cA	37,5aB	3,75eA	0,53aB	2,38adA	0,51aB
Cornélio Procópio	47,3cdA	28,5aB	3,22ceA	0,54aB	2,46cdA	0,55aB
Médias	40,7A	29,8B	2,9A	0,5B	2,6A	0,6B
CV (%)	14,6		19,1		19,2	

^{1/} Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 5 - Efeitos do ácido aconítico (AA) sobre a ocorrência de fungos endofíticos em sementes de picão-preto, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2007

Locais (12)	<i>Aspergillus</i> (%)		<i>Bipolaris</i> (%)		<i>Fusarium</i> (%)		spp. (%)	
	Ácido aconítico							
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Campo Mourão	0,3	1,5	1,8aB ^{1/}	15,0aA	2,8aA	3,0aA	4,8acB	20,5cA
IV Centenário	0,5	0,8	2,5aA	5,5bA	4,5aA	3,5aA	7,8acA	10,0abA
São Pedro	2,0	0,5	5,8aA	4,5bA	2,3aA	2,8aA	11,3bcA	7,8abA
São Miguel Iguaçú	0,5	0,0	6,5aB	7,8abA	6,3aB	2,3aA	13,5cA	10,5acA
Jesuítas	0,5	0,8	2,0aB	6,8bA	7,3aB	4,0aA	10,0acA	11,5acA
Formosa do Oeste	1,0	0,3	1,5aB	7,3bA	4,0aA	2,8aA	7,0acA	10,8acA
Nova Santa Bárbara	0,8	0,3	0,3aA	4,5bA	2,8aA	2,8aA	4,3acA	7,5abA
Uraí	0,3	0,5	1,5aB	6,5bA	2,5aA	4,5aA	4,5acB	11,5acA
São Judas Tadeu	0,0	0,0	0,0aA	2,5bA	0,3aA	1,3aA	0,3aA	3,8aA
São Sebastião Amor	0,3	1,3	0,5aB	5,8bA	1,8aB	5,0aA	2,5abB	14,3bcA
Santa Cecília Pavão	0,5	0,0	0,8aA	3,5bA	2,0aA	4,0aA	3,5acA	9,3abA
Cornélio Procópio	0,5	0,0	0,0aB	8,8abA	3,3aB	0,8aA	4,3acB	14,8bcA
Médias	0,6	0,5	1,9B	6,5A	3,3A	3,1A	6,2B	11,0A
CV (%)	-		55,1		73,3		49,1	

^{1/} Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.



Tabela 6 - Efeitos dos ácidos sulfúrico (AS) e aconítico (AA) sobre a germinação e o crescimento do caule e da raiz de corda-de-violão, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2007

Variáveis	Tratamento	Germinação (%)	Caule (cm)	Raiz (cm)
Locais (7): - Sem AA				
Santa Mariana		7,5 b ^{1/}	2,9 bc	3,2 ab
S. Antônio do Paraíso		18,0 ab	4,6 ab	4,8 a
Assaí		28,0 a	5,6 a	4,6 a
Nova Fátima		15,5 ab	3,8 abc	3,2 ab
Jataí		12,5 ab	2,3 c	1,9 b
Uraí		14,5 ab	3,3 bc	3,9 a
Cornélio Procópio		15,5 ab	3,8 abc	2,1 b
Tratamentos com AA	Sem AA	15,9 b	3,7 a	3,4 a
	Com AA	17,3 b	1,0 b	0,2 b
	AS+AA	26,6 a	1,3 b	0,2 b
Tratamentos/Locais				
Santa Mariana	Sem AA	7,5 a	2,9 a	3,2 a
	Com AA	5,0 a	1,1 b	0,2 b
	AS+AA	16,0 a	2,1 ab	0,3 b
S. Antônio do Paraíso	Sem AA	18,0 b	4,6 a	4,8 a
	Com AA	18,5 b	1,0 b	0,3 b
	AS+AA	31,0 a	1,5 b	0,2 b
Assaí	Sem AA	28,0 b	5,6 a	4,6 a
	Com AA	21,5 b	1,1 b	0,3 b
	AS+AA	70,0 a	1,1 b	0,2 b
Nova Fátima	Sem AA	15,5 a	3,8 a	3,2 a
	Com AA	19,5 a	1,0 b	0,4 b
	AS+AA	23,0 a	1,5 b	0,2 b
Jataí	Sem AA	12,5 a	2,2 a	1,9 a
	Com AA	18,5 a	0,6 b	0,2 b
	AS+AA	12,0 a	0,8 b	0,2 b
Uraí	Sem AA	14,5 a	3,2 a	3,9 a
	Com AA	18,0 a	1,4 b	0,2 b
	AS+AA	21,0 a	1,3 b	0,2 b
Cornélio Procópio	Sem AA	15,5 a	3,8 a	2,1 a
	Com AA	20,0 a	0,7 b	0,2 b
	AS+AA	13,0 a	0,9 b	0,2 b
CV (%)		37,7	43,7	59,9

^{1/} Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 7 - Efeitos do ácido sulfúrico (AS) e aconítico (AA) sobre a ocorrência de fungos endofíticos em sementes de corda-de-violão, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2007

Variáveis	Tratamento	<i>Fusarium</i> (%)	<i>Bipolaris</i> (cm)	spp. (%)
Locais (7): - Sem AA				
Santa Mariana		1,5 a ^{1/}	0,0 a	2,0 a
S. Antônio do Paraíso		5,0 ab	1,0 a	9,5 a
Assaí		9,0 ab	0,5 a	9,5 a
Nova Fátima		13,0 ab	3,5 a	19,0 ab
Jataí		16,5 ab	6,0 a	22,5 ab
Uraí		21,0 ab	0,0 a	25,5 ab
Cornélio Procópio		29,0 b	8,5 a	37,5 b
Tratamentos com AA	Sem AA	13,6 a ^{1/}	2,8 a	17,9 a
	Com AA	11,9 a	5,2 a	18,6 a
	AS+AA	29,8 b	2,4 a	55,1 b
Tratamentos/Locais				
Santa Mariana	Sem AA	1,5 a ^{1/}	0,0 a	2,0 a
	Com AA	3,5 a	1,5 a	5,5 a
	AS+AA	73,5 b	0,0 a	78,0 b
S. Antônio do Paraíso	Sem AA	5,0 a	1,0 a	9,5 a
	Com AA	7,5 a	2,0 a	9,5 a
	AS+AA	5,0 a	7,5 a	51,5 b
Assaí	Sem AA	9,0 a	0,5 a	9,5 a
	Com AA	9,5 a	1,5 a	11,5 a
	AS+AA	15,5 a	1,0 a	20,5 a
Nova Fátima	Sem AA	13,0 a	3,5 a	19,0 a
	Com AA	16,5 a	5,0 a	24,0 a
	AS+AA	7,5 a	0,0 a	33,0 a
Jataí	Sem AA	16,5 a	6,0 a	22,5 a
	Com AA	10,5 a	8,0 a	20,5 a
	AS+AA	18,5 a	8,0 a	73,0 b
Uraí	Sem AA	21,0 a	0,0 a	25,5 a
	Com AA	19,0 a	2,5 a	22,5 a
	AS+AA	59,5 b	0,0 a	73,0 b
Cornélio Procópio	Sem AA	29,0 a	8,5 a	37,5 a
	Com AA	17,0 a	6,0 a	36,5 a
	AS+AA	29,0 a	0,0 a	56,5 a
CV (%)		68,0	156,4	46,2

^{1/} Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 8 - Efeitos do ácido aconítico (AA) sobre a germinação e o crescimento do caule e da raiz em guanxuma, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2007

Locais (11)	Germinação (%)		Caule (cm)		Raiz (cm)	
	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA
São Sebastião Amor	61,0aA ^{1/}	49,0aB	1,63acA	0,65aB	2,05abA	0,15aB
Jataizinho	43,5bA	36,0abA	1,30bdA	0,35aB	1,85abA	0,15aB
IV Centenário	36,5bdA	25,5bcB	1,68acA	0,48aB	0,75c A	0,25aA
Tupãssi	31,0bdA	24,0bcA	1,63acA	0,58aB	1,88abA	0,20aB
Jesuítas	29,5bdA	21,5bdA	2,08abA	0,53aB	2,00abA	0,45aB
São Pedro do Ivaí	29,5bdA	23,0bdA	2,10aA	0,48aB	1,63bcA	0,20aB
Cafelândia	26,5cdA	25,5bcA	2,33aA	0,43aB	2,48abA	0,28aB
Santa Terezinha Itaipu	25,5cdA	25,0bcA	1,73acA	0,40aB	2,63a A	0,15aB
Floresta	18,5deA	26,5bcA	2,18aA	0,45aB	1,75abA	0,10aB
Céu Azul	15,0deA	16,5cdA	1,28cdA	0,78aB	1,65acA	0,55aB
São Miguel do Iguçu	4,0eA	7,5dA	0,58dA	0,18aA	0,75cA	0,30aA
Médias	29,1A	25,5B	1,7A	0,5B	1,8A	0,3B
CV%		26,6		34,4		49,1

^{1/} Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 9 - Efeitos do ácido aconítico (AA) sobre o desenvolvimento de fungos endofíticos em sementes de guanxuma, em diferentes locais do Estado do Paraná, em 2007

Locais (11)	<i>Fusarium</i> (%)		<i>Aspergillus</i> (%)		spp. (%)	
	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA	Sem AA	Com AA
São Sebastião Amor	17,3bdB ^{1/}	36,5abA	0,0 ^{NS}	0,5	22,0ceB	44,0abA
Jataizinho	19,0bcB	30,0abA	1,0	5,0	29,0bdB	46,5aA
IV Centenário	3,5bdA	3,0eA	4,5	12,5	17,0deA	25,0ceA
Tupãssi	1,0dA	5,5deA	3,0	2,5	9,5eA	11,0eA
Jesuítas	11,5bdA	10,5ceA	1,0	2,5	21,5ceA	18,5deA
São Pedro do Ivaí	40,0aA	26,0acB	2,0	0,5	46,5aA	34,0adB
Cafelândia	20,5bA	21,5adA	5,5	11,0	36,0acA	41,0acA
Santa Terezinha Itaipu	13,0bdA	20,0beA	0,0	0,5	17,0deA	22,5deA
Floresta	4,0bdA	7,0deA	2,0	16,5	18,5deA	28,0bdA
Céu Azul	39,5aA	37,5aA	1,5	11,0	41,5abA	48,5aA
São Miguel Iguaçú	2,0cdB	10,5ceA	0,0	0,0	11,5eB	18,0deA
Médias	15,6A	18,9A	1,9A	5,7A	24,6B	30,6A
CV%	50,0		91,8		27,7	

^{1/} Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

médios do caule e da raiz foram reduzidos em 70,6 e 83,3%, respectivamente.

As espécies de fungos endofíticos predominantes nas sementes de guanxuma foram *Fusarium* e *Aspergillus*, entre outras, como *Bipolaris*, *Rhizopus* e *Penicillium*, incluídas no somatório das espécies (Tabela 9). A aplicação de AA aumentou a infestação de *Fusarium* em três locais e, igualmente, no somatório das espécies observadas, sendo significativo o aumento de infestação obtido para as médias. No somatório de fungos, o aumento médio da infestação provocada pelo AA foi de 24,6 a 30,6%.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A germinação das sementes coletadas das espécies de amendoim-bravo, picão-preto, corda-de-violão e guanxuma mostrou variações das espécies entre os locais amostrados. O ácido aconítico afetou a germinação das sementes, o crescimento do caule e, de modo mais significativo, o crescimento das raízes das espécies, excetuando-se a germinação de corda-de-violão. Amendoim-bravo apresentou alternância de efeitos inibitórios do AA, numa ampla escala de germinação. Aplicações de AA estimularam o crescimento de fungos endofíticos na maioria dos locais de coleta das sementes, variáveis com a planta daninha, com predominância de *Fusarium* e *Aspergillus*.

A escarificação das sementes de corda-de-violão resultou em aumentos da germinação, sendo ao mesmo tempo muito significativos os aumentos da infestação de fungos endofíticos em alguns locais. A presença de fungos nas sementes não germinadas é manifestada após a apresentação dos efeitos alelopáticos, dias mais tarde.

Entre os fatores relacionados ao grau de germinação das diferentes espécies de plantas daninhas estão as variações na produção de “sementes duras”, influenciadas pelo ano de produção das sementes (Stoller & Wax, 1973), incluindo as condições de temperatura e luz a que a planta-mãe foi submetida no período de formação (Probert et al., 1985). A germinação das espécies está associada a fatores genéticos e ambientais, que determinam o seu grau de dormência (Chancellor, 1982).

Os efeitos do AA sobre as espécies de plantas daninhas deverá reduzir o banco de sementes no solo e a sua germinação, resultando em menor emergência e competição com uma cultura econômica. Além disso, com a redução de altura, ocorrerão restrições à captação de luz. Com a redução do comprimento da raiz – o efeito mais importante – haverá restrições à competição com a cultura por água e nutrientes. Em períodos de seca, o estabelecimento de espécies daninhas e sua competição com a cultura seriam desfavorecidos. Finalmente, os efeitos do ácido aconítico podem traduzir-se na redução do período de sobrevivência dos bancos de sementes.



AGRADECIMENTOS

Aos que contribuíram com esta publicação e, de modo especial, ao apoio financeiro dado pelo CNPq.

LITERATURA CITADA

ADEGAS, F. S.; VOLL, E.; PRETE, C. E. C. Embebição e germinação de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa*). **Planta Daninha**, v. 21, n. 1, p. 21-25, 2003.

AZEVEDO, J. L.; MELO, I. S. (Eds.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente-CNPMA, 1998. 488 p.

CHANCELLOR, R. J. Weed seed investigations. In: THOMPSON, J. R. **Advances in research and technology of seeds**. Wageningen: International Seed Testing Association, 1982. p. 9-29. Part 7.

CHANDLER, J. M.; MUNSON, R. L.; VAUGHAN, C. E. Purple moonflower emergence, growth, reproduction. **Weed Sci.**, v. 25, p. 163-7, 1977.

FRIEBE, A. et al. Phytotoxins from shoot extracts and root exudates of *Agropyron repens* seedlings. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1157-1159, 1995.

GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. **Introduction to plant biochemistry**. New York: Pergamon Press, 1983. 677 p.

HARPER, J. L.; BENTON, R. A. The germination of seeds on the surface of a water supplying substrate. **J. Ecol.**, v. 54, n. 1, p. 151-166, 1966.

HANINE, H.; MOURGUES, J.; MOLINIER, J. Aconitic acid removal during cane juice clarification. **Inter. Sugar J.**, v. 92, n. 1103, p. 219-220, 1990.

HEES, PAW-VAN 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.

JOHNSTON, T. J.; MURRAY, D. S.; WILLIAMS, J. C. Germination and emergence of baloonvine (*Cardiospermum halicacabum*) compared with soybean seeds. **Weed Sci.**, v. 27, p. 73-76, 1979.

MIKUSINSKI, O. M. Teste de embebição e germinação em sementes de *Ipomoea aristolochiaefolia*. **R. Bras. Sementes**, v. 9, n. 3, p. 103-108, 1987.

PRETE, C. E. C.; NUNES JR., J.; MENTEN, J. O. M. Fungos associados a sementes de plantas daninhas. **Summa Phytopathol.**, v. 10, n. 2, p. 260-267, 1984.

PROBERT, R. J.; SMITH, R. D.; BIRCH, P. Germination responses to light and alternating temperatures in European populations of *Dactylis glomerata* L. I. Variability in relation to origin. **New Phytol.**, v. 99, p. 305-316, 1985.

REDDY, K. N.; SINGH, M. Germination and emergence of hairy beggarticks (*Bidens pilosa*). **Weed Sci.**, v. 40, n. 2, p. 195-199, 1992.

RUSTAMANI, M. A. et al. Further observations on the relationship between aconitic acid contents and aphid densities on some cereal plants. **B. Res. Inst. Biores.**, v. 1, n. 1, p. 9-20, 1992.

STOLLER, G. W.; WAX, L. M. Periodicity of germination and emergence of some annual weeds. **Weed Sci.**, v. 21, n. 6, p. 574-580, 1973.

THOMPSON, F.; SCHAEFER, S. C.; MADISON, J. T. Role of aconitate isomerase in trans-aconitate accumulation in plants. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, n. 9, p. 3684-3688, 1997.

VOLL, E.; KARAM, D.; GAZZIERO, D. L. P. Dinâmica de populações de trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.) sob manejos de solo e de herbicidas. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 32, n. 6, p. 571-578, 1997.

VOLL, E. et al. Dinâmica do banco de sementes de plantas daninhas sob diferentes sistemas de manejo do solo. **Planta Daninha**, v. 19, n. 2, p. 171-178, 2001.

VOLL, E. et al. Chemical interactions of *Brachiaria plantaginea* with *Commelina benghalensis* and *Acanthospermum hispidum* in soybean cropping systems. **J. Chem. Ecol.**, v. 30, n. 7, p. 1467-1475, 2004.

VOLL, E.; VOLL, C. E.; VICTÓRIA FILHO, R. Allelopathic effects of aconitic acid on wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*) and morningglory (*Ipomoea grandifolia*). **J. Environ. Sci. Health**, v. 40, n. 1, p. 69-75, 2005.

WATANABE, K. et al. Detection and molecular analysis of plant- and insect-associated bacteria harboring aconitate isomerase involved in biosynthesis of trans-aconitic acid as antifeedant in brown planthoppers. **Cur. Microbiol.**, v. 35, n. 1, p. 97-102, 1997.