

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE FERTILIZANTES FOLIARES A BASE DE ÁGUA DE XISTO NA PRODUTIVIDADE E NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA NA CULTURA DO MILHO

João Peterson Pereira Gardin¹, Marta Eliane Doumer², Rafael da Silva Messias³,
Luis Henrique Gularte Ferreira³, Carlos Augusto Posser Silveira⁴, Cleio Nailto Pillon⁴

¹ Dr. Fisiologia Vegetal, Pesquisador Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. joagardin@epagri.sc.gov.br

² Bacharel em Química Ambiental - UCPel, bolsista Embrapa Clima Temperado

³ Pesquisador Convocado da Embrapa Clima Temperado

⁴ Dr., Pesquisador da Embrapa Clima Temperado guto@cpact.embrapa.br

1. Introdução

Uma das formas de suprir a demanda das culturas por micronutrientes, principalmente nas condições de agricultura intensiva baseada unicamente na aplicação de macronutrientes, é através da fertilização foliar preventiva e/ou corretiva.

A água de xisto (AX) constitui-se um dos subprodutos do processamento industrial do xisto. Diariamente, são produzidos cerca de 300 m³, os quais permanecem em sistema fechado na Unidade de Retortagem do Processo Petrosix®, desenvolvido pela Petrobras-SIX, São Mateus do Sul-PR. A diversidade e concentração de compostos orgânicos e inorgânicos em sua matriz, oriundos da vaporização de compostos orgânicos e da água estrutural presentes no folhelho pirobetuminoso, pressupõem um potencial uso deste subproduto líquido como matéria-prima para a produção de fertilizantes foliares.

Adicionalmente, estudos realizados pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS) têm indicado potencial para indução de resistência a doenças, através da ativação de grupos específicos de enzimas responsáveis pela produção de lignina e fitoalexinas.

Em um estudo objetivando avaliar o efeito de doses de AX isolada e combinada com enxofre sobre o rendimento de grãos de soja cultivado sobre um Argissolo Vermelho da região de São Mateus do Sul-PR, na safra agrícola 2005/2006, observou-se incremento de produtividade até a dose de 6,0 L ha⁻¹. Tal efeito foi potencializado pela interação com a presença de enxofre elementar.

A resposta das culturas à aplicação de nutrientes via foliar depende da disponibilidade de nutrientes no solo, regulada pelo tipo e quantidade de fertilizantes aplicados e pelas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, as quais influem sobre os processos de transporte e absorção de nutrientes e pelas taxas de requerimento de nutrientes pelas plantas. Assim, solos de baixa fertilidade natural e/ou degradados pelo manejo e culturas de elevada demanda de nutrientes em determinadas fases de seu ciclo, especialmente na fase reprodutiva e alta expectativa de rendimento, constituem-se condições básicas para a obtenção de resposta a fertilização foliar.

Aumentar a produtividade nem sempre é possível, porém pode ocorrer o aumento das proteínas presentes nos grãos assim como de outros nutrientes benéficos a saúde, tornando-se um importante resultado para a melhoria da alimentação, uma vez que os cereais são grandes fontes protéicas e a melhor forma para se obter estes aumentos é o fornecimento de adubação em época adequada.

No processo de partição de carbono em plantas, o descarregamento do floema e a hidrólise de sacarose são considerados fatores limitantes para o acúmulo de fotoassimilados nos tecidos drenos, o que confere às enzimas envolvidas no metabolismo de clivagem da sacarose um papel decisivo na compreensão dos mecanismos de sua regulação (Sonnewald & Frommer, 1995). As enzimas invertases (invertase neutra do citossol – INC, invertase ácida do vacúolo – IAV, invertase ácida da parede celular IAP) e sacarose sintase (SuSy) são citadas, por vários autores, como responsáveis pelo controle de fluxo e hidrólise de sacarose em tecidos-drenos (Etxeberria & Gonzalez, 2003).

Um dos objetivos primordiais da fisiologia da produção e do melhoramento genético é, naturalmente, maximizar o rendimento dos drenos. Aumentos nos rendimentos das culturas advêm principalmente de mudanças na partição de assimilados, a partir da redução do crescimento de órgãos não explorados na colheita, em relação a drenos de interesse econômico e as enzimas que degradam sacarose têm contribuição neste processo.

Tendo em vista a necessidade de se desenvolver fertilizantes foliares mais eficientes torna-se importante a compreensão dos mecanismos que proporcionam maiores produtividades com a aplicação destes. É possível que as enzimas envolvidas na atividade sacarolítica apresentem atividades diferenciadas durante a formação dos grãos e que sofram influência dos fertilizantes aplicados, assim como os materiais de reserva, tais como amido, proteínas e lipídios.

Diante deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo relacionar a eficiência agromônica de formulações contendo água de xisto com algumas variáveis fisiológicas envolvidas com a produtividade das culturas, como subsídio a compreensão dos mecanismos que proporcionam aumentos de rendimento e qualidade dos produtos agrícolas produzidos.

2. Material e métodos

O ensaio foi realizado durante os meses de novembro de 2007 a março de 2008 no município de Pelotas-RS, sendo composto por sete tratamentos com delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. O solo da área experimental foi classificado como Argissolo com as seguintes características: pH 5,1; pH SMP 5,8, matéria orgânica 2,4 g Kg⁻¹; Argila 190 g Kg⁻¹; Al 2,5 cmol dm⁻³; Ca 3,1 cmol dm⁻³; Mg 1,3 cmol dm⁻³; P 5,3 mg dm⁻³; K 52,0 mg dm⁻³; S 10,8 mg dm⁻³; Zn 9,0 mg dm⁻³; Cu 1,8 mg dm⁻³; B 0,3 mg dm⁻³; saturação de bases 45 %, saturação em alumínio 8 %, CTC efetiva 4,9 cmol_c dm⁻³ e CTC em pH 7,0 10,0 cmol_c dm⁻³.

A cultivar de milho híbrido Pioneer 30F35 foi semeada em parcelas de 4 linhas com 7,0m de comprimento espaçadas de 0,80m. A adubação de base correspondeu a aplicação equivalente de 300 kg ha⁻¹ da fórmula 10-20-20, por ocasião da semeadura. Quarenta dias após a emergência, efetuou-se a aplicação de nitrogênio em cobertura na dose de 120 kg ha⁻¹ de N, na forma de uréia. As aplicações de AX foram realizadas com a utilização de pulverizador de pressão constante (CO₂), regulado para vazão de 100 L ha⁻¹. As duas primeiras aplicações ocorreram durante período de crescimento vegetativo, sendo a terceira pulverização realizada na fase reprodutiva de floração/enchimento dos grãos.

Para relacionar algumas variáveis fisiológicas e a produtividade da cultura do milho pulverizada com água de xisto (AX) como fertilizante foliar em combinação com nutrientes, foram avaliados os seguintes tratamentos do experimento citado acima: 1) Testemunha absoluta (TEST); 2) Água de xisto+micronutrientes (MAX, composta de Zn 8 %; Cu 1,5 %; Mn 1,5 %; Mo 0,5 %; B 0,5 %; S 6 %); 3) Fertilizante foliar comercial (FFC, composto de Zn 2 %; Cu 0,3 %; Mn 1 %; Mo 0,05 %; B 0,2 %; Mg 1 %; N 3 %; P 15 %; K 8 %) e 4) AX pura, na dose de 7,5 L ha⁻¹.

A extração e incubação das invertases solúveis (INC = invertase neutra do citosol, IAV = invertase ácida do vacúolo) foram realizadas conforme descrito por Zeng et al., (1999) e da invertase insolúvel (IAP = invertase ácida da parede celular) segundo Cazetta et al., (1999), com algumas modificações. A quantificação da atividade das enzimas foi realizada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959).

A sintase da sacarose (SUSY) foi avaliada no sentido da degradação da sacarose, considerando que a enzima exerce também a síntese. A extração foi realizada com meio extrator constituído de HEPES 50mM pH 7,0, MgCl₂ 5mM, DTT (ditiotreitól) 2mM, EDTA dissódico 1mM, Ácido ascórbico 100 mM e PVPP 10 % p/v. O meio de incubação foi constituído de tampão MES 100mM pH 6,0, UDP 5mM e Sacarose 300mM. A incubação foi realizada por 40 minutos a uma temperatura de 37°C. A atividade da SUSY foi quantificada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959).

Os AST foram coloridos com antrona e os açúcares redutores (AR) foram coloridos com DNS e as leituras realizadas em espectrofotômetro. Para extração do amido, o pellet foi ressus-

pendido com 6mL do tampão acetato de potássio 200 mM, pH 5,5 e colocado em banho-maria (100 °C) por 5 minutos. Em seguida foram adicionados 2 mL do preparado da enzima amiloglucosidase, contendo 12,6 unidades, incubando em banho-maria a 40 °C por 2 horas. Posteriormente, o material foi centrifugado a 20.000 g por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 10 mL ou volume maior, caso estivesse muito concentrado (grãos) e quantificado pelo método da antrona (DICHE, 1962). Os aminoácidos livres foram quantificados pelo método de Moore e Stein (1948).

3. Resultados e discussão

Os rendimentos de grãos dos tratamentos que tiveram as características fisiológicas avaliadas estão apresentados na Fig. 1. As barras representam o erro padrão da média (desvio padrão da média/raiz(n)). Foi realizada análise da variação e teste de Duncan para comparar as médias dos tratamentos. Observa-se que o rendimento de grãos do tratamento FFC (produto comercial) diferiu da testemunha (TEST), mas não diferiu dos outros dois. Os demais tratamentos (TEST, MAX e AX), não diferiram entre si.

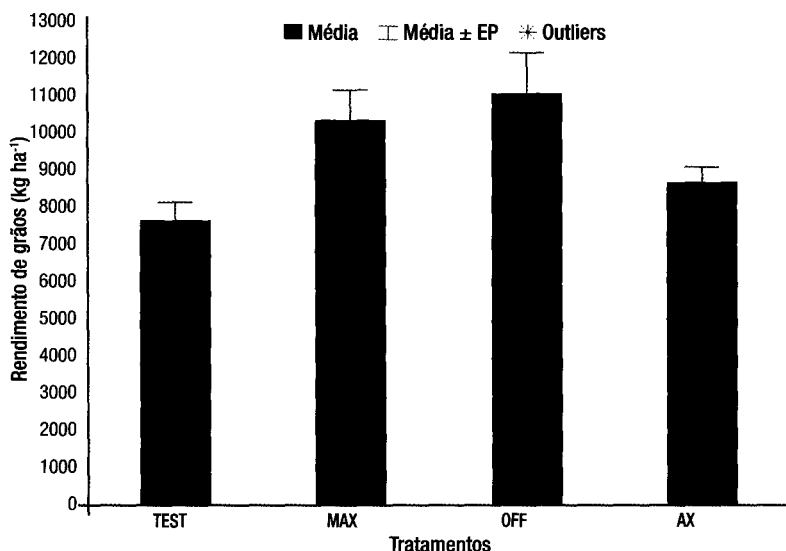


Fig. 1. Rendimento de grãos de milho dos quatro tratamentos que tiveram as características fisiológicas avaliadas.

Na Fig. 2, pode-se observar que os tratamentos MAX e FFC apresentaram tendência de acumular mais amido nos grãos, indicando estágio de maturação mais avançado. Um maior conteúdo de amido nos grãos é importante, pois este polímero constitui a principal reserva da semente e também é fonte de energia indispensável à alimentação animal ou humana. Observa-se que houve a mesma tendência para a variável rendimento de grãos.

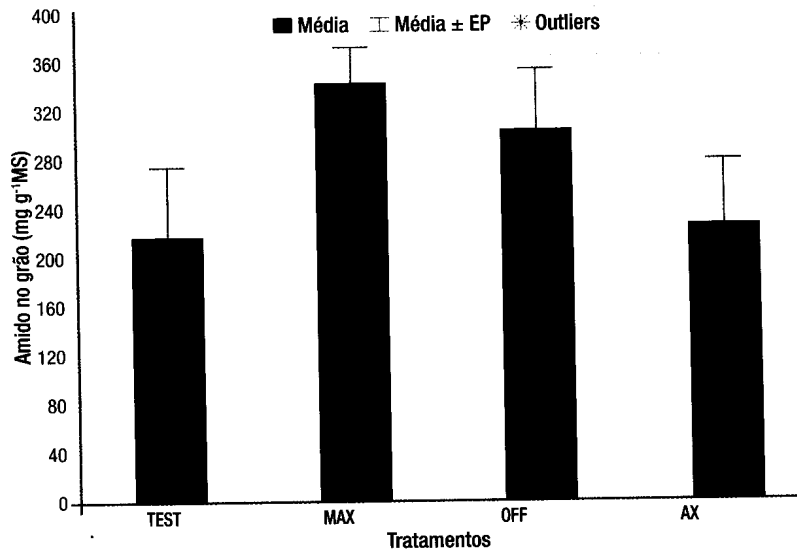


Fig. 2. Conteúdo de amido nos grãos de milho coletados na fase do enchimento de grãos.

A atividade da Susy, apresentada na Fig. 3, mostra a mesma tendência do rendimento de grãos, embora a diferença entre os tratamentos não tenha sido significativa.

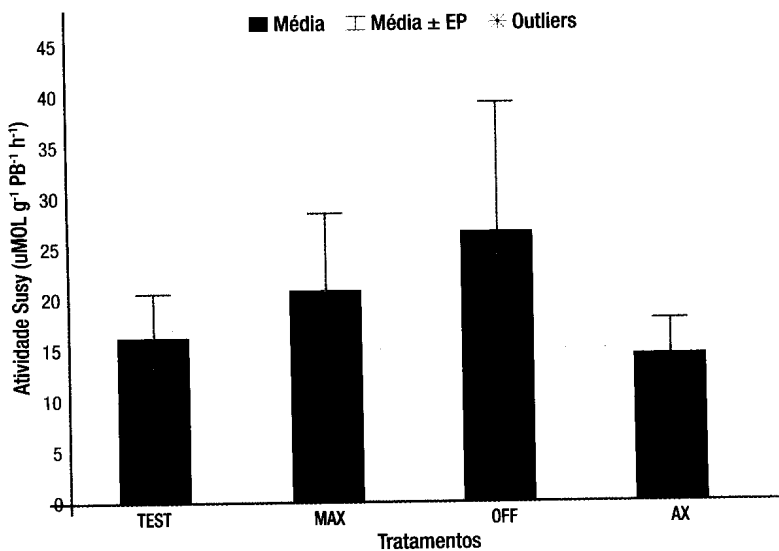


Fig. 3. Atividade da susy no grão de milho coletado na fase do enchimento de grãos.

Quantitativamente, o crescimento dos grãos pode ser avaliado em termos de capacidade da planta em suprir substrato para o crescimento (fonte) e do potencial dos grãos (dreno) em acumular substrato disponível. São identificadas duas fontes principais de substrato para o crescimento dos grãos: uma originada a partir da produção fotossintética após a antese e outra relacionada com a remobilização do material assimilado antes da antese e temporariamente arma-

zenado, principalmente nos colmos. O maior acúmulo de açúcares nos grãos afeta diretamente a biossíntese de amido, reduzindo drasticamente sua concentração e ao mesmo tempo a síntese de amido sugere estar relacionada com o maior acúmulo de matéria fresca e conseqüentemente com a produção (OLIVEIRA JÚNIOR, et al., 2007).

Um maior conteúdo de açúcares redutores (AR) em grãos pode ter interpretações diferenciadas entre pesquisadores, no entanto, é de consenso que os açúcares redutores (glicose e frutose) são utilizados para sintetizar amido e para manter o fluxo de energia na célula. Um alto conteúdo de AR no grão pode ser interpretado como alta atividade metabólica e refletirá em maior acúmulo de reservas, por um lado, enquanto que, por outro, pode ser interpretado como uma baixa capacidade das células em sintetizar amido a partir destes açúcares, fazendo com que os mesmos se acumulem nos grãos.

Em geral, admite-se que a atividade da SuSy é relacionada predominantemente com a síntese de parede celular e de amido (Winter & Huber, 2000), mas também pode estar associada com a síntese de sacarose. Apesar de a reação catalisada pela SuSy ser reversível, existem evidências de que a ação predominante desta enzima é no sentido da clivagem da sacarose, produzindo UDP-glicose e frutose. De acordo com Kruger (1993), pelo menos três argumentos sustentam essas evidências. O primeiro argumento tem relação com a distribuição da SuSy em diferentes tecidos. A atividade da SuSy é geralmente baixa em células fotossintéticas e gliconeogênicas, e é muitas vezes alta em tecidos com intensa atividade de crescimento, os quais dependem da sacarose como o seu substrato respiratório. Em segundo lugar, em alguns tecidos, a atividade das invertases é muito menor que a da SuSy, mostrando-se insuficiente para catalisar o metabolismo da sacarose. Um bom exemplo disso é o tubérculo da batata, no qual as invertases ácida e alcalina têm atividades tão baixas que a SuSy parece assumir quase integralmente a clivagem da sacarose. Por fim, estudos realizados com mutantes de milho revelam que uma redução dos níveis de SuSy em endosperma em desenvolvimento restringe a capacidade desse tecido de metabolizar sacarose (Boyer, 1985).

Na Fig. 4, observa-se a tendência de diminuição dos aminoácidos livres nos tratamentos MAX e FFC, os quais apresentaram maiores rendimentos de grãos, indicando um maior equilíbrio nutricional nestes tratamentos.

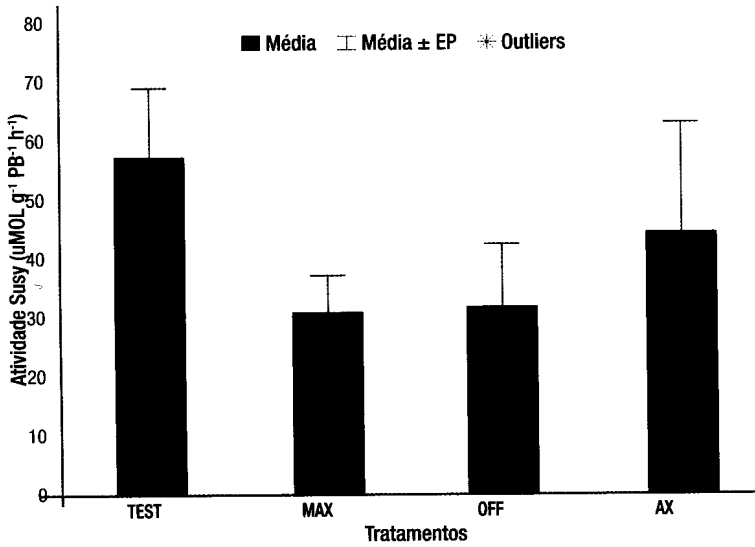


Fig. 4. Conteúdo de aminoácidos livres no grão de milho coletado na fase do enchimento de grãos.

Plantas bem nutridas ou equilibradas nutricionalmente são menos propensas ao ataque por insetos e doenças, basicamente devido a menor disponibilidade de substâncias que lhes servem de alimento, que são os aminoácidos livres. Numa planta equilibrada, os aminoácidos localizam-se nas estruturas protéicas, as quais são grandes demais para serem absorvidas no intestino dos insetos, que não possuem enzimas capazes de decompô-las. Quando, por algum motivo, na seiva da planta se acumulam aminoácidos livres, insetos e microorganismos, causadores de doenças, são atraídos, podendo transformar-se em problema sério. Além disso, plantas que apresentam desequilíbrio nutricional não se desenvolvem adequadamente, tendo assim dificuldades para formar proteínas, ficando sujeitas aos ataques dos parasitas.

4. Conclusões

A água de xisto combinada com nutrientes inorgânicos em formulações de fertilizantes foliares promoveu aumento no rendimento de grãos de milho.

O maior rendimento de grãos parece estar mais associado à síntese e acúmulo de amido e a atividade da sacarose sintase (SuSy) e menor quantidade de aminoácidos livres.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOYER, C. D. Synthesis and breakdown of starch. In: NEYRA, C. A. *Biochemical basis of plant breeding*. v. 1. Boca Raton, CRC Press, 1985 p. 133-153.
- CAZETTA, J. O.; SEEBAUER, J. R.; BELOW, F. E. Sucrose and nitrogen supplies regulate growth of maize kernels. *Annals of Botany, London*, v. 84, n. 6, p. 747-754, Dec. 1999.
- DICHE, Z. Genera color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. *Carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, p. 477-520, 1962.
- ETXEBERRIA, E.; GONZALEZ, P. Evidence for a tonoplast-associated form of sucrose synthase and its potential involvement in sucrose mobilization from the vacuole. *Journal of Experimental Botany*, v. 54, n. 386, p. 1407-1414, 2003.
- KRUGER, N. J. Carbohydrate synthesis and degradation. In: DENNIS, D. T.; TURPIN, D. H. *Plant physiology, biochemistry and molecular biology*. 2 ed. London, Longman Scientific & Technological, p. 59-76, 1993.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Biochemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- MOORE, S. & STEIN, N.N. Photometric method of use in the chromatography of amino acids. *Journal of Biological Chemistry*, 176:367-388, 1948.
- OLIVEIRA JUNIOR et al., Diferenças fisiológicas entre genótipos de milho doce (su-1) e milho comum durante o desenvolvimento, *Scientia Agraria, Curitiba*, v.8, n.4, p.351-356, 2007.
- WINTER, H.; HUBER, S. C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, v. 35, n. 4, p. 253-289, 2000.
- ZENG, Y.; WU, Y.; AVIGNE, W.T.; KOCH, K.E. Rapid repression of maize invertases by low oxygen. Invertase/sucrose synthase balance, sugar signaling potential, and seedling survival. *Plant Physiology, Rockville*, v.121, n.2, p.599-608, Oct. 1999.