



XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas
XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas
XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo
VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo
Guarapari – ES, Brasil, 13 a 17 de setembro de 2010.
Centro de Convenções do SESC

Bioatividade de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto em diferentes estágios de maturidade

Natália O. Aguiar¹, Luciano P. Canellas¹, Fabio L. Olivares¹, Luis Gonzaga JR. S. Silva.¹; Etelvino H. Novotny² e Arnoldo R. Façanha¹

1-Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes 28013-602, Rio de Janeiro, Brasil.

2- Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS), R. Jardim Botânico, 1024, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO

A matéria orgânica estabilizada pela ação das minhocas tem reconhecida capacidade de estimular o crescimento vegetal e pode ser utilizada na produção de bioestimulantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar alterações químicas e o efeito de ácidos húmicos (AH), isolados de vermicomposto em diferentes estágios de maturação, no crescimento de plântulas de milho. O vermicomposto foi caracterizado quimicamente (carbono orgânico, relação de C/N, CTC e teor de AH). O índice relativo de massa molecular (Mw) do AH foi obtido por HPSEC, e o conteúdo hidrofóbico por RP-HPLC e RMN C¹³. Plântulas de milho foram utilizadas nos testes de bioatividade. A relação C/N e o conteúdo de lignina diminuíram, enquanto que a CTC e o conteúdo de AH aumentaram com processo de vermicompostagem. Nos estágios iniciais do processo de maturação o AH apresentou menor efeito de promoção no crescimento das plântulas. O aumento da bioatividade do AH avaliado pela extrusão de H⁺ na solução e pela atividade da H⁺ ATPase da membrana plasmática foi acompanhado pelo aumento da maturidade do vermicomposto juntamente com o aumento dos domínios hidrofóbicos na sua estrutura, principalmente, até os 60 dias. Entretanto a forma de proteção de moléculas bioativas na estrutura do AH ainda não é bem entendida e necessita de mais estudos.

Palavras-chave: maturidade do composto, bioestimulação de plantas.

INTRODUÇÃO

A utilização de insumos biológicos na produção agrícola vem crescendo a cada dia, diminuindo a dependência por produtos industrializados, que apresentam baixa eficiência de uso e custos cada vez mais significativos. As substâncias húmicas (SH) atuam principalmente, como promotoras do crescimento radicular favorecendo a exploração de maior volume de solo, e por isso tem sido alvo de interesse crescente de agricultores e indústrias. Entretanto, apesar do seu potencial tecnológico, ainda são poucas as informações acumuladas sobre o mecanismo pelo qual as SH influenciam atividades biológicas em plantas.

Tem sido amplamente demonstrado que os ácidos húmicos (AH) podem afetar o crescimento das plantas e seu metabolismo, mas a pesquisa ainda não conseguiu elucidar a relação entre atividade biológica e estrutura química, apresentando resultados divergentes até o momento. A relação entre os diferentes níveis de bioatividade e a variação na estrutura química das SH persiste como um desafio para fins científicos e tecnológicos no sentido de melhoria dos insumos orgânicos à base de materiais húmicos.

Da mesma forma que as auxinas os ácidos húmicos induzem a síntese da H⁺-ATPase de membrana plasmática (MP) nas raízes (Canellas et al., 2002; Quaggioti et al., 2004). Essa enzima acopla a hidrólise de ATP ao transporte de H⁺ através da MP. Consequentemente, o apoplasto é acidificado e a parede celular se torna mais flexível permitindo a expansão celular e favorecendo o crescimento radicular. A indução da H⁺-ATPase de MP também promove a nutrição vegetal pelo aumento do gradiente eletroquímico que dirige o transporte iônico via energização dos transportadores secundários. O objetivo deste

trabalho foi avaliar alterações químicas e o efeito de AH, isolados de vermicomposto em diferentes estágios de maturação, no crescimento da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

O vermicomposto (VC) foi produzido a partir de esterco bovino num cilindro de concreto com capacidade de 150 L, a umidade foi mantida entre 65-70%. Depois de um mês, as minhocas foram introduzidas (*Eisenia foetida*) na proporção de 5 kg por m³ de resíduo orgânico. Dois cilindros de cada resíduo orgânico foram utilizados para a amostragem nos diferentes períodos: 0, 30, 60, 90 e 120 dias. O VC foi caracterizado quimicamente (carbono orgânico, relação de C/N, CTC e teor de AH). Os AH foram isolados com 0,5 M NaOH sob atmosfera inerte de N₂ e precipitados com 6 M HCl. A solução HF:HCl foi usada por 16 horas para diminuir o teor de cinzas dos AH. Sendo este posteriormente lavado com água, dialisado (membrana 1.000 Da) e liofilizado. O índice relativo de massa molecular (Mw) foi obtido por HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography) utilizando a coluna de exclusão por tamanho Polysep-GFC-P 3000 (Phenomenex) com 600 milímetros por 7,8 milímetros d.i. O conteúdo hidrofóbico foi obtido por RP-HPLC (Reverse Fase - High Performance Liquid Chromatography), utilizando a coluna de fase reversa (Supelco C-18) e por RMN C¹³ (Ressonância Magnética Nuclear do C¹³). Plântulas de milho com 0,5 cm de comprimento radicular foram tratadas por 48 h com solução de AH (20 mg C L⁻¹ da AH e 2 mM CaCl₂, a pH 7,0). Em seguida, as plântulas foram transferidas para 40 mL de 2 mM CaCl₂, a pH 7,0. Após 48 h, foi feita a medição do pH utilizando Thermo pHmetro Orion. Um ensaio preliminar foi feito a fim de verificar uma suposta relação entre extrusão de H⁺ e atividade MP H⁺ ATPase (medido de acordo com Canellas et al., 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO - A relação C/N e o conteúdo de lignina diminuíram, enquanto que a CTC e o conteúdo de AH aumentaram com o processo de vermicompostagem (Figura 1). O índice relativo de Mw não apresentou mudanças ao longo do processo (Figura 2C). O conteúdo hidrofóbico determinado por RMN (Figura 2) e por RP-HPLC (Figura 2D) apresentou pequenas mudanças com o processo de maturação.

No final do processo de maturação do vermicomposto foi observado um aumento seletivo

no conteúdo de C-aromático, C-O aromático e C-carboxílico, como consequência da diminuição do conteúdo de carboidratos (Figura 2). O índice relativo de massa molecular do AH não apresentou mudanças ao longo do processo de maturação, mas a hidrofobicidade avaliada por RP-HPLC mostrou um aumento significativo até os 60 dias, decrescendo a partir de 90 dias. Após 60 dias de maturação do vermicomposto o AH apresentou maiores efeitos de bioatividade, quando comparado ao controle. Tal efeito é manifestado pelo aumento da extrusão de H⁺ pelas raízes de plântulas de milho, que tem grande correlação com a atividade da H⁺ ATPase da membrana plasmática (Figura 4B).

CONCLUSÕES

Concluimos que nos estágios iniciais do processo de maturação do vermicomposto o AH apresenta menor efeito de promoção do crescimento das plântulas. O aumento da bioatividade do AH avaliado pela extrusão de H⁺ na solução e pela atividade da H⁺ ATPase da membrana plasmática foi acompanhado pelo aumento da maturidade do vermicomposto juntamente com o aumento dos domínios hidrofóbicos na sua estrutura, principalmente, até os 60 dias. Entretanto a forma de proteção de moléculas bioativas na estrutura do AH ainda não é bem entendida e necessita de mais estudos. Além disso, o processo de humificação, por si só não é suficiente para explicar a promoção do crescimento das plantas.

REFERÊNCIAS

- CANELLAS, L.P., FAÇANHA, A.O., OLIVARES, F.L., FAÇANHA, A.R., Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.* 130, 1951–658 1957. 2002.
- QUAGGIOTTI, S., RUPERTI, B., PIZZEGHELLO, D., FRANCIOSO, O., TUGNOLI, V., NARDI, S. (2004) Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 55:803–813.

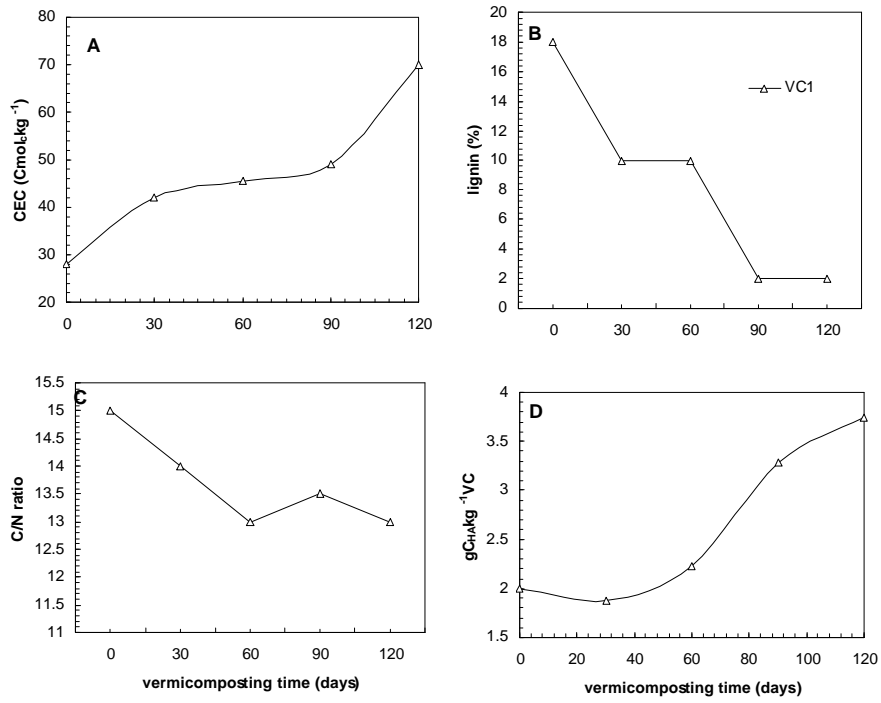


Figura 1: Parâmetros relacionados com o processo de maturação do vermicomposto.

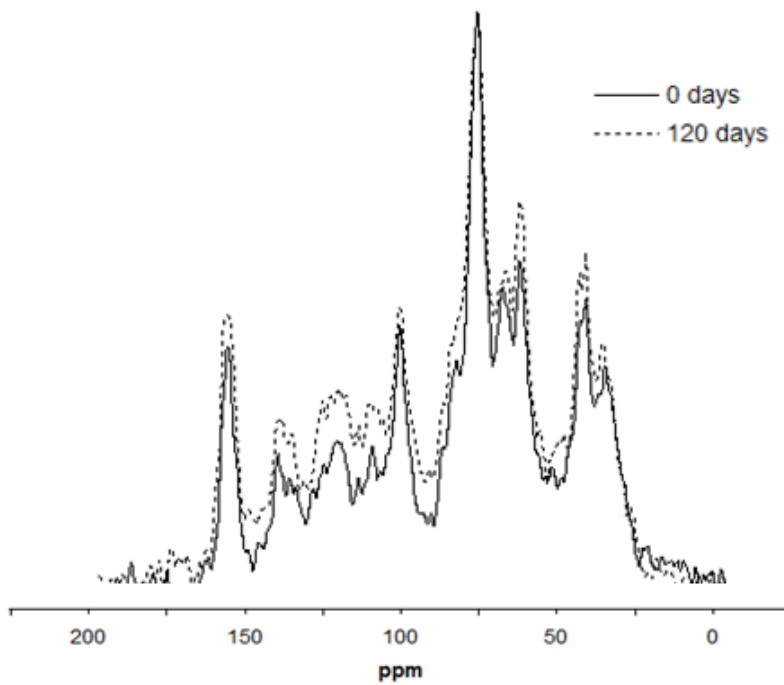


Figura 2: Espectro ¹³C-CPMAS-NMR de vermicomposto em diferentes estágios de maturidade (0 e 120 dias).

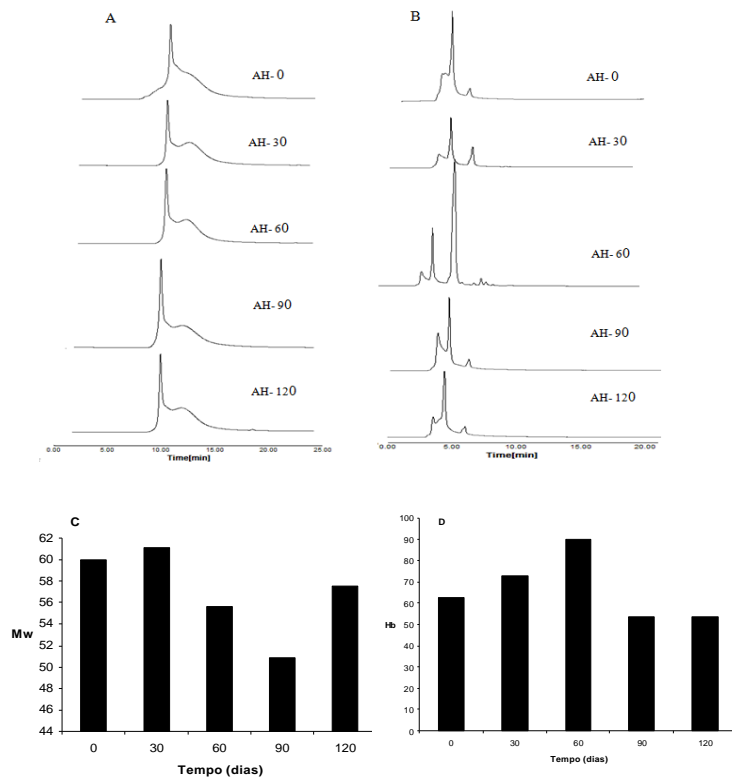


Figura 3: Cromatogramas HPSEC (A), Cromatogramas RP-HPLC (B) Índice relativo de Mw (C) e Índice relativo de hidrofobicidade (D) de AH extraído de vermicomposto em diferentes estágios de maturidade (0, 30, 60, 90 e 120 dias) .

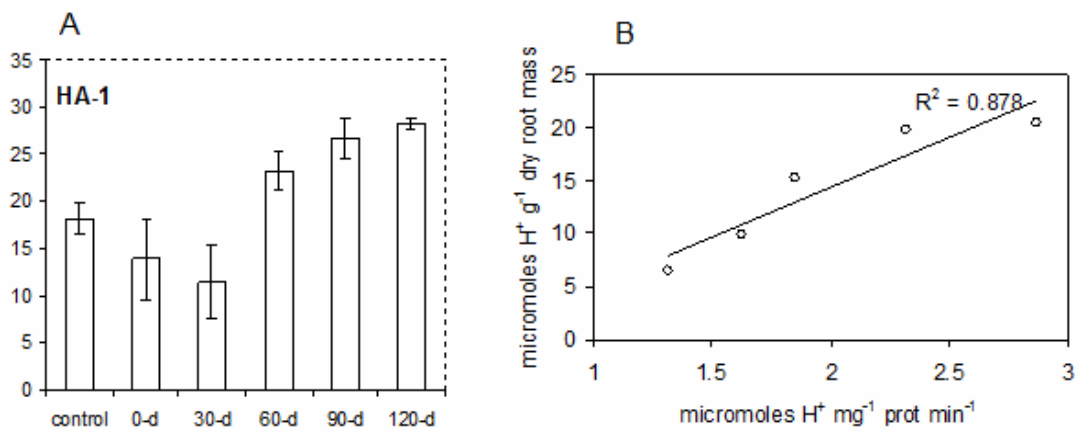


Figura 4: A: Extrusão de Prótons (mM H⁺ g⁻¹ raiz seca) por raízes de plantulas de milho em solução de 2 mM CaCl₂ tratadas por 48 h com AH isolado de vermicomposto em diferentes estágios de compostagem (0, 30, 60, 90 e 120 dias). B: Relação entre extrusão de H⁺ e atividade H⁺-ATPase MP.

