

Produtividade e Estimativa da Eficiência de Carboxilação *in vivo* da Enzima Rubisco em Girassol Ornamental Cultivado em Lodo de Esgoto

Leandro Camilli¹, Lina Ikejiri², Jeferson Klein³, João Domingos Rodrigues⁴
e Carmen Sílvia Fernandes Boaro⁵

Introdução

O lodo de esgoto, resíduo obtido no final do processo de tratamento do esgoto, envolve constante preocupação diante dos problemas ambientais causados pelo seu acúmulo desordenado, na atualidade. A exigência sócio-ambiental de se destinar adequadamente este material, aliada à sua composição, rica em matéria orgânica e elementos nutritivos, essenciais para o crescimento e desenvolvimento vegetal, tem estimulado o uso do lodo de esgoto na agricultura, como fonte de nutrientes para as plantas, substituindo os fertilizantes minerais [1].

O uso desse biossólido, como fertilizante no cultivo de plantas ornamentais, tem se apresentado como alternativa para sua reciclagem, uma vez que o mercado de flores vem alcançando grande destaque e importância para a economia nacional [2]. Nesse mercado, o girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.) tem sido apreciado no setor paisagístico, sendo muito utilizado como elemento de decoração em vasos e jardins [3].

Assim, tem-se tornado cada vez mais freqüente a execução de trabalhos científicos que avaliam os aspectos positivos da aplicação do lodo de esgoto no desenvolvimento e na produtividade de diversas culturas, inclusive na produção de flores [4,5]. Tais estudos têm como base a decomposição do biossólido no solo, permitindo melhor aproveitamento dos nutrientes pelas plantas, em decorrência de sua lenta liberação, a partir da mineralização da matéria orgânica [6].

No entanto, poucos estudos avaliam quais aspectos metabólicos do vegetal são influenciados pela presença desse resíduo. Nesse sentido, os processos de trocas gasosas das plantas cultivadas na presença do lodo de esgoto são de fundamental importância para o conhecimento dos efeitos de sua aplicação, idéia que vem sendo defendida por pesquisadores [7].

A ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco), enzima chave na fotossíntese, é a proteína mais abundante no planeta e representa até 40% do total das proteínas solúveis na maioria das folhas [8]. Sua eficiência de carboxilação *in vivo* pode ser determinada pela análise da curva de respostas de assimilação de CO₂ (A) em função da variação de sua concentração interna

na folha (Ci). À medida que a assimilação de CO₂ se aproxima de valores nulos, este gás torna-se o principal fator limitante do processo. A inclinação inicial da curva A/Ci representa a estimativa da eficiência de carboxilação da enzima rubisco [9]. Fatores do ambiente ou ligados à própria planta, que afetam a fotossíntese, e, portanto, a produtividade biológica, podem ter ação na rubisco.

Com base no acima exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de doses crescentes de lodo de esgoto na produção de massa seca e na eficiência de carboxilação *in vivo* da enzima rubisco em plantas de girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.).

Material e métodos

O estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Unesp, Campus de Botucatu – SP, localizada a 48°24'35'' W e 22°49'10'' S e altitude média de 800 metros, referente ao nível do mar.

Para o preparo do substrato de cultivo utilizou-se lodo de esgoto em base seca, proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto da Fazenda Experimental Lageado, da Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp, Campus de Botucatu – SP, e substrato comercial Plantmax[®]. As mudas de girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.) cultivar Sunbright foram obtidas a partir de sementes, que foram colocadas para germinar em bandejas com substrato comercial Plantmax[®]. Após 15 dias, as mudas foram transplantadas para o substrato de cultivo definitivo, que constituíram os tratamentos, em vasos com capacidade igual a 1,5 L.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, cinco épocas de colheita, realizadas a cada 14 dias após o transplante, e quatro repetições. Os tratamentos continham substrato comercial Plantmax[®] (T1, tratamento testemunha), substrato comercial + 2,3 g L⁻¹ de lodo, equivalente a 5 t ha⁻¹ (T2), substrato comercial + 4,6 g L⁻¹ de lodo, equivalente a 10 t ha⁻¹ (T3), substrato comercial + 7 g L⁻¹ de lodo, equivalente a 15 t ha⁻¹ (T4) e substrato comercial

1. Aluno de graduação do curso de Ciências Biológicas, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Departamento de Botânica, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Caixa Postal 510, CEP 18618-000. E-mail: le_camilli@yahoo.com.br.

2. Aluna de graduação do curso de Ciências Biológicas, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Departamento de Botânica, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Caixa Postal 510, CEP 18618-000.

3. Aluno de pós-graduação do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Departamento de Botânica, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Caixa Postal 510, CEP 18618-000.

4. Professor Titular do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Departamento de Botânica, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Caixa Postal 510, CEP 18618-000.

5. Professora Adjunta do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Departamento de Botânica, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Caixa Postal 510, CEP 18618-000.

Apoio financeiro: CNPq/PIBIC.

+ 9,3 g L⁻¹ de lodo, equivalente a 20 t ha⁻¹ (T5).

Em cada colheita, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa com circulação de ar forçada em temperatura entre 60 e 70° C, durante 72 horas, até obtenção de massa constante. A seguir, sua massa seca total foi determinada em balança analítica Owa Labor[®], com precisão igual a 1 mg.

Aos 36 dias após o transplante (DAT), as trocas gasosas foram avaliadas no terço superior da planta, em folhas com o limbo completamente expandido e fotossinteticamente ativas, por meio de sistema aberto portátil de fotossíntese (LI-6400, Li-Cor Inc., NE, USA). Determinou-se a curva de assimilação de CO₂ (A) em função da variação de sua concentração interna na folha (Ci) e estimou-se a eficiência de carboxilação da enzima rubisco, para uma folha de cada tratamento em três repetições. O intervalo constituído pelos valores de Ci que resultaram em aumentos lineares da taxa de assimilação de CO₂ foi utilizado para o ajuste linear, sendo o coeficiente angular da reta considerado como a estimativa da eficiência de carboxilação da enzima rubisco [9].

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

As plantas cultivadas na presença do equivalente a 15 t ha⁻¹ (7,0 g L⁻¹ de lodo) apresentaram, em média, maior massa seca total (Tab. 1).

Os resultados também revelaram que, aos 36 DAT, as diferentes concentrações de lodo de esgoto não alteraram a eficiência de carboxilação da enzima rubisco (Tab. 2).

Vários estudos referem efeito benéfico da utilização de lodo de esgoto para espécies vegetais [5,10,11,12]. Entre estes estudos, Lopes *et al.* [5], que avaliaram o cultivo de crisântemo de vaso, variedade Rage, em diferentes níveis de lodo de esgoto industrial de galvanoplastia-zincagem, verificaram que a adição de lodo na dose de 0,38 g L⁻¹ promoveu pequeno incremento de altura, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz, indicando que o resíduo pode fornecer nutrientes à cultura.

No entanto, poucos estudos avaliaram aspectos metabólicos das espécies vegetais submetidas ao resíduo. Taiz & Zeiger [8] registraram que o estado nutricional da planta pode alterar sua capacidade fotossintética, uma vez que em especial o nitrogênio (N), que apresenta função estrutural na planta, encontra-se intimamente ligado à eficiência de carboxilação da enzima rubisco [8,13].

Os estudos acima citados são de grande importância para a discussão dos resultados obtidos, pois, conforme já referido, a rica composição em matéria orgânica do biossólido, principalmente em nitrogênio, pode tornar-se preocupante quando o destino desse resíduo é agrícola, uma vez que pode influenciar o estado nutricional da planta.

No presente estudo, os níveis de lodo de esgoto avaliados, aos 36 DAT, não interferiram com a eficiência da rubisco *in vivo* das plantas de girassol ornamental (Tab. 2), que também não apresentaram diminuição da

sua capacidade produtiva, avaliada pela massa seca total das plantas determinada durante seu desenvolvimento (Tab. 1).

Esses resultados são concordantes, em parte, com as observações de Farquhar & Sharkey [9] de que a estimativa da eficiência da enzima rubisco pode correlacionar-se com a capacidade produtiva da planta. No entanto, quando o equivalente a 15 t ha⁻¹ de lodo de esgoto foi utilizado, as plantas que apresentaram aumento da massa seca total não mostraram variação da eficiência da rubisco. A explicação de tal comportamento talvez encontre apoio em modificações da limitação estomática à difusão de CO₂ em tais plantas. Cornic [14] e Pimentel [15], ao estudarem o comportamento dos estômatos e das regiões mesofílicas, na variação do potencial hídrico em plantas, relacionaram a limitação da fotossíntese à menor difusão de CO₂ para o interior da folha, causada pelo aumento da restrição estomática. Registraram ainda que, apenas mudanças mais bruscas desse potencial seriam associadas com comprometimento da região mesofílica.

Assim, a manutenção da eficiência da rubisco sugere que o cultivo de girassol ornamental na presença de diferentes doses de lodo de esgoto possivelmente não acarrete prejuízos à capacidade produtiva da planta, confirmando vários registros da literatura [10,11,12].

Agradecimentos

Os autores agradecem o CNPq/Reitoria - Unesp pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] BETTIOL, W. & CAMARGO, O.A. 2000. *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna, Embrapa. 312p.
- [2] IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Caracterização do setor produtivo de flores e plantas ornamentais no Brasil. 1995-1996*. Rio de Janeiro, 2004. (Estudos e Pesquisas – Informação Econômica, nº2).
- [3] ANEFALOS, L. & GUILHOTO, J. 2003. Estrutura do mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais. *Agric. São Paulo*, 50 (2): 41-63.
- [4] CONTE e CASTRO, A.M. 2004. *Desenvolvimento de crisântemo de corte com uso de resíduos orgânicos, como fornecedores de nutrientes e condicionadores físicos do solo*. Relatório final apresentado no curso de pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Botânica, nível de pós-doutorado, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu.
- [5] LOPES, L.F.; COSTA, A.C.S.; D'OLIVEIRA, P.S & GIL, L.G. 2004. Utilização agrícola de lodo industrial como fonte de zinco na cultura do crisântemo. *Hortic. bras.*, 22 (3): 620-623.
- [6] OLIVEIRA, F.C.; MARQUES, M.O.; BELLINGIERI, P.A & PERECIN, D. 1995. Lodo de esgoto como fonte de macronutrientes para a cultura do sorgo granífero. *Sci. Agric.*, 52 (2): 360-366.
- [7] MATA-GONZÁLEZ, R.; SOSSEBEE, R.E. & CHANGGUI, W. 2002. Physiological impacts of biosolids application in desert grasses. *Envir. Exp. Bot.*, 48 (2): 139-148.
- [8] TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2004. *Fisiologia vegetal*. 3 ed. Porto Alegre, Artmed. 719p.
- [9] FARQUHAR, G.D. & SHARKEY, T.D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 33: 317-345.
- [10] PEDROZA, J.P.; HAANDEL, A.C.V.; BELTRÃO, N.E.M. & DIONÍSIO, J.A. 2003. Produção e componentes do algodoeiro herbáceo em função da aplicação de biossólido. *Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.*, 7 (3): 483-488.

- [11] BUGBEE, J.G. 2002. Growth of ornamental plants in container media amended with biosolids compost. *Comp. Sci. Util.*, 10 (2): 92-98.
- [12] OZORES, M.H. & PEACH, D.R.A. 2002. Biosolids in vegetable production systems. *HortTechnology*, 12 (3): 336-440.
- [13] MARSCHNER, H. 1995. *Functions of mineral nutrients: macronutrients*. In: ____. Mineral nutrition of higher plants. London, Academic Press. p. 229-312.
- [14] CORNIC, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture not by affecting ATP synthesis. *Trends Plant Sci.*, 5: 187-188.
- [15] PIMENTEL, C. 2004. *A relação da planta com a água*. Seropédica, Edur. 191p.

Tabela 1. Massa seca total, em gramas, de plantas de girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.), em cinco épocas de colheitas realizadas aos 14, 28, 42, 56 e 70 dias após o transplante das plantas jovens para os tratamentos contendo diferentes doses de lodo de esgoto. Médias de quatro repetições.

| Doses de lodo, equivalente a t ha ⁻¹ | Colheitas (dias após o transplante) | | | | | Médias de doses de lodo |
|---|-------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|
| | 1 ^a (14) | 2 ^a (28) | 3 ^a (42) | 4 ^a (56) | 5 ^a (70) | |
| 0 | 0,990 | 5,237 | 13,654 | 19,590 | 23,983 | 12,595 B |
| 5 | 1,337 | 5,757 | 13,793 | 19,394 | 25,753 | 13,207 AB |
| 10 | 1,216 | 5,998 | 12,914 | 21,009 | 28,276 | 13,883 AB |
| 15 | 1,849 | 7,064 | 13,500 | 21,334 | 27,481 | 14,245 A |
| 20 | 1,380 | 6,433 | 15,576 | 20,220 | 26,033 | 13,928 AB |
| Médias de colheitas | 1,355 a | 6,098 b | 13,887 c | 20,214 d | 26,305 e | 13,572 |

Letras minúsculas na linha comparam médias de colheitas, maiúsculas na coluna comparam médias de tratamentos. Médias seguidas de mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Coeficiente angular das retas de estimativa da eficiência de carboxilação da enzima rubisco *in vivo* em folhas de girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.), aos 36 dias após o transplante das plantas jovens para os tratamentos contendo diferentes doses de lodo de esgoto. Médias de três repetições.

| Coeficiente angular | Doses de lodo de esgoto, equivalente a t ha ⁻¹ | | | | |
|---------------------|---|--------|--------|--------|--------|
| | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 |
| | 0,27 a | 0,26 a | 0,25 a | 0,22 a | 0,20 a |

Médias seguidas de mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade.