

Efeito do ácido húmico nas frações solúveis e no crescimento em plantas de arroz⁽¹⁾.

Orlando Carlos Huertas Tavares⁽²⁾; Leandro Martins Ferreira⁽³⁾; Janiélio Gonçalves da Rocha⁽⁴⁾; Leandro Azevedo Santos⁽⁵⁾; Sonia Regina de Souza⁽⁶⁾; Manlio Silvestre Fernandes⁽⁷⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos de CAPES, CNPQ, FAPERJ.

⁽²⁾ Estudante de doutorado, CPGF-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465, km 7, Seropédica, RJ. e-mail: ochtavares@gmail.com; ⁽³⁾ Estudante de doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁴⁾ Estudante de doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense; ⁽⁵⁾ Professor Depto. de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁶⁾ Professora Depto. de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁷⁾ Professor Depto. de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO: Plantas que absorvam e assimilem N de forma mais eficiente poderia reduzir as perdas de fertilizantes nitrogenados e afetar menos o meio ambiente. O objetivo do estudo foi verificar se os ácidos húmicos favorecem a assimilação de nitrogênio e promovem o crescimento das plantas de arroz em condições de alto suprimento de NO_3^- e NH_4^+ . Os tratamentos consistiram da combinação da aplicação ou não de ácido húmico e duas fontes de nitrogênio, nitrato e amônio (2,0 mM). As plantas de arroz foram coletadas; as amostras pesadas e parte sofreram partição para obtenção das frações solúveis. A análise de componentes principais (CP) explicou 72,1 % da variabilidade total nas duas primeiras componentes, onde 50,1 % da variância foram explicados pela CP1 e 22,0 % da variância pela CP2. Mostrando que os AH afetaram a dinâmica dos metabolitos na planta, favorecendo o acúmulo de NO_3^- na raiz e parte aérea quando tratadas com AH e NO_3^- . E acúmulo de N-amino livre na parte aérea e raiz, e a redução do peso fresco da planta quando tratadas com NH_4^+ . As plantas apresentaram estresse metabólico quando submetidas à alta concentração de amônio crescendo menos. Entretanto, em alta disponibilidade de nitrato com AH, as plantas não apresentaram estresse e cresceram mais.

Termos de indexação: frações solúveis, nitrato, amônio.

INTRODUÇÃO

O arroz é o alimento básico de suma importância para mais da metade da população mundial, incluindo as regiões de alta densidade populacional e de rápido crescimento (Fageria et al, 2003).

Nesse contexto, nitrogênio (N) é o nutriente mais importante para as plantas e um importante fator limitante na produtividade da planta, dobrando a produção de alimentos da agricultura em todo o mundo ao longo das últimas quatro décadas e está associada a um aumento de 20 vezes no uso de

fertilizantes nitrogenados (Shrawat e Good, 2008). Como consequência, o uso desses fertilizantes na agricultura já mostrou uma série de impactos ambientais negativos (Vitousek et al, 1997). Portanto, a necessidade de reduzir a poluição do fertilizante N está em reforçar a importância de melhorar a eficiência do uso de nitrogênio, de plantas cultivadas (Shrawat e Good, 2008). Assim, plantas cultivadas que absorvam e assimilem N de forma mais eficiente reduziria as perdas de fertilizantes nitrogenados e influenciaria positivamente o meio ambiente.

A matéria orgânica humificada pode além de fornecer nutrientes às plantas, condicionar as propriedades químicas, físicas e microbiológicas do solo, e estabelecer uma inter-relação íntima e complexa com a planta (Canellas et al., 2005). As substâncias húmicas exercem um efeito direto sobre o crescimento e metabolismo das plantas, especialmente sobre o desenvolvimento radicular (Nardi et al., 2002). Ayuso et al. (1996) verificaram que concentrações em torno de 5 mg L^{-1} de SHs proporcionaram maiores teores de N na parte aérea de cevada. Cacco et al. (2000) verificaram que as frações húmicas de baixo peso molecular aumentaram a taxa de absorção de nitrato. Entretanto, foi evidenciado um resultado oposto para frações húmicas de alto peso molecular. Entre os efeitos da HS descritos em diferentes espécies de plantas estão suas habilidades tanto para ativar a atividade da PM H^+ -ATPase de raiz (Pinton et al, 1999; Nardi et al., 2002; Canellas et al., 2002) e aumentar as taxas de absorção de nitrato em raízes (Pinton et al, 1999; Nardi et al, 2002; Quaggiotti et al, 2004).

O objetivo do estudo foi avaliar se os ácidos húmicos promovem alterações na assimilação de nitrogênio e no crescimento em plantas de arroz quando submetidas a condições de alto suprimento de NO_3^- e NH_4^+ na solução nutritiva.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em câmara de crescimento no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Tratamentos e amostragens

Os tratamentos consistiram da combinação da aplicação ou não de ácido húmico e duas fontes de nitrogênio, nitrato e amônio (2,0 mM) abrangendo os sistemas de baixa afinidade de absorção de nitrato e amônio. As plantas cresceram até os 17 dias após a germinação (DAG) em potes com 600 ml em uma solução de Hoagland modificada (Hoagland & Arnon, 1950) com 2,0 mM de nitrato e 1,5 mM de amônio. Depois as plantas foram colocadas em uma solução nutritiva, sem o fornecimento de nitrato ou amônio por 96h. Após 48h de privação de N, foi aplicado o tratamento com ácido húmico por 48h e em seguida a solução do experimento com 2,0 mM de nitrato ou amônio.

As plantas foram expostas às 14h/10h (luz/escuro) de fotoperíodo com $280 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fluxo de fóton fotossintético, umidade do ar relativa de 70% e temperaturas de 28°C/24°C (dia/noite).

As plantas foram coletadas ao final do experimento. As amostras de um grama de material coletado de raiz e parte aérea (folhas e bainhas) das plantas de arroz foram homogeneizadas em etanol (80%), e após partição com clorofórmio (Fernandes, 1984), a fração solúvel obtida foi utilizada para a determinação de N-NO₃⁻ (Cataldo et al. 1975), N-NH₄⁺ (Mitchel, 1972; Felker, 1977), N-amino livre (Yemm e Cocking, 1955) e açúcar solúvel (Yemm e Willis, 1957).

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Foi realizado o teste de Lilliefors e Bartlett em todos os parâmetros estudados para testar a normalidade e homocedasticidade. Fizeram-se correlações de Pearson entre a massa fresca da raiz, parte aérea, e os metabolitos das plantas. A ordenação dos dados foi realizada pela análise de componentes principais utilizando o programa CANOCO (ter Braak, 1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de componentes principais baseada na biomassa e nas frações solúveis sob 2,0 mM de nitrato e amônio com e sem AH, explicou 72,1 % da variabilidade total nas duas primeiras componentes (**Figura 1**), sendo que 50,1 % da variância estão explicados pela CP1 estando

positivamente ligado, à massa fresca da raiz e PA, e ao NO₃⁻ da raiz e PA, os quais estão associados ao tratamento com 2,0 mM de nitrato. Em oposição, projetam-se negativamente na CP1 os teores de NH₄⁺ da raiz e PA, bem como N-amino livre e açúcar solúvel da raiz no tratamento com 2,0 mM de amônio. Essa primeira componente principal sintetiza o efeito preponderante das condições da planta sob os diferentes tratamentos. Quaggiotti et al. (2004) encontraram 50% mais NO₃⁻ nas folhas de plântulas tratadas com substâncias húmicas de baixo peso molecular (LMS) quando comparadas as plantas controle. E em outro estudo, o crescimento e o comprimento de plântulas de trigo não foram afetadas por nitrato e/ou AH (Cacco et al., 2000). A CP2 apresenta 22,0 % da variância. Sendo explicada, pelas contribuições positivas do N-amino livre da parte aérea, e as contribuições negativas do peso fresco da parte aérea. Em estudos de Fernandes (1983), plantas de arroz submetidas à baixa luz e alta temperatura apresentaram menor peso de massa fresca quando tratadas com NH₄⁺, causando maior estresse no crescimento da planta. Entretanto, quando sob NO₃⁻, a massa fresca foi maior, sendo uma condição favorável ao crescimento, principalmente com 20 ppm de NO₃⁻. Foi demonstrado ainda que plantas de arroz, sob condições de estresse leva ao acúmulo de N-NH₄⁺ nos tecidos e apresenta correlação positiva com N-amino livre (Fernandes, 1990). Devido ao fato de, a assimilação de NH₄⁺ ocorrer nas raízes e requerer grandes quantidades de carboidratos, as plantas sob nutrição amoniacal mostram redução na taxa de crescimento das raízes (Silva et al., 1987; Souza & Fernandes, 2006). Sob condições de excesso de N, NO₃⁻ pode ser absorvido e acumulado nos vacúolos (como pool de reserva) e mais tarde metabolizado pela planta em crescimento (Fernandes, 1990; Fernandes, 1991; Santos et al, 2005; Souza & Fernandes, 2006). Plantas de arroz podem acumular grandes quantidades de NO₃⁻, no pool de reserva enquanto mantêm o pool de N-amino livre sob controle e mantendo o metabolismo normal de N sob condições normais (Fernandes, 1983, 1995).

CONCLUSÕES

As plantas parecem apresentar estresse metabólico quando submetidas à alta concentração de amônio e ácido húmico, e conseqüentemente cresceram menos, tanto raiz como parte aérea. Porém, quando sob meio com alta disponibilidade



de nitrato, as plantas não apresentaram esses efeitos e cresceram mais.

REFERÊNCIAS

- CACCO, G.; ATTINA, E.; GELSOMINO A.; et al.; Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163: 313-320, 2000.
- CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F.L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, et al., Humic Acids isolated from earthworm compost enhance root elongation lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, 130: 1951-1957, 2002.
- CANELLAS, L. P.; ZANDONADI, D.B.; MEDICI, L.O.; et al. Bioatividade de substâncias húmicas – ação sobre o desenvolvimento e metabolismo das plantas. In: CANELLAS, L. P. & SANTOS, G.A. *Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas*. CCTA/UENF, 2005. p.224-243,
- COMETTI N. N; FURLANI PR; RUIZ H.A; FERNANDES FILHO E. I. Soluções Nutritivas: formulação e aplicações. In: MANLIO, S. F. (ed.). *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006, p. 89-114.
- CATALDO, D.; HARRON, M.; SCHARADER, L. E. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 6: 853–855, 1975.
- FELKER, P. 1977. Microdetermination of nitrogen in seed protein extracts with the salicyte-dichloroisocyanurate color reaction. *Analytical Chemistry* 49: 1980.
- FERNANDES, M. S. N carriers, light and temperature influences on the free amino acid pool composition of rice plants, *Turrialba* 33: 297–301, 1983.
- FERNANDES, M. S. Efeitos de fontes e níveis de nitrogênio sobre a absorção e assimilação de N em arroz, *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal* 2: 1-6, 1990.
- FERNANDES, M. S. effects of environmental stress on the relationship of free amino-N to fresh weight of rice plants, *J. Plant Nutr.* 14:1151–1164, 1991.
- FERNANDES, M. S., & R. O. P. ROSSIELLO.. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. *Critical Reviews in Plant Sciences* 14: 111–148, 1995.
- FERNANDES, M.S. & SOUZA, S. R. ABSORÇÃO DE NUTRIENTES. In: MANLIO SF. (ed.). *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006. p.215- 252.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.L. The water culture methods for growing plants without soil. Berkeley, California Agriculture Experiment Station, 1950. 32 p. (Bulletin 347).
- NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; et al., Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 1527-1536, 2002.
- PINTON, R.; CESCO, S.; IACOLETTIG, G. et al., Modulation of NO₃⁻ uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Soil* 215:155–161, 1999.
- QUAGGIOTTI, S.; RUPERT, B.; PIZZEGHELLO, D.; et al., Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.*, 55: 803-813, 2004.
- SANTOS, L.A.; BUCHER, C.A.; SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Metabolismo de nitrogênio em arroz sob níveis decrescentes de nitrato, *Agronomia*, 39: 28 – 33, 2005.
- SANTOS, L.A. BUCHER, C.A. SOUZA, S.R. FERNANDES, M.S. Effects of nitrogen stress on proton-pumping and nitrogen metabolism in rice, *J. Plant Nutr.* 32: 549–564, 2009.
- SANTOS, L. A.; SANTOS, W. A.; SPERANDIO, M. V. L.; et al., Nitrate uptake kinetics and metabolic parameters in two rice varieties grown in high and low nitrate. *Journal of plant Nutrition*, 34: 988-1002, 2011.
- SHRAWAT, A. K. & GOOD, A. G. Genetic Engineering Approaches to Improving Nitrogen Use Efficiency. *ISB News Report*, 1-4, 2008.
- SILVA, F. L.I.M. FERNANDES, M.S. & MAGALHÃES, J.R. Study of ionic balance affecting nutrient uptake by corn. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 22: 331, 1987.
- SOUZA, S. R. & FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: MANLIO SF. (ed.). *Nutrição Mineral de Plantas*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006. p.215- 252.
- YEMM, E.W., & E. C. COCKING. 1955. The determination of amino-acid with ninhydrin. *Analytical Biochemistry* 80: 209–213.
- TER BRAAK, C. J. F. CANOCO-an extension of DECORANA to analyze species-environment relationships. *Plant Ecology*, 75:159-160, 1988
- VITOUSEK, P.; ABER, J.; HOWARTH, R. et al., Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences ecological applications,7: 737–750, 1997.
- YEMM, E. W., & A. J WILLIS. 1954. The estimation of carbohydrate in plants extracts by anthrone. *Biochemistry* 57: 508–514.

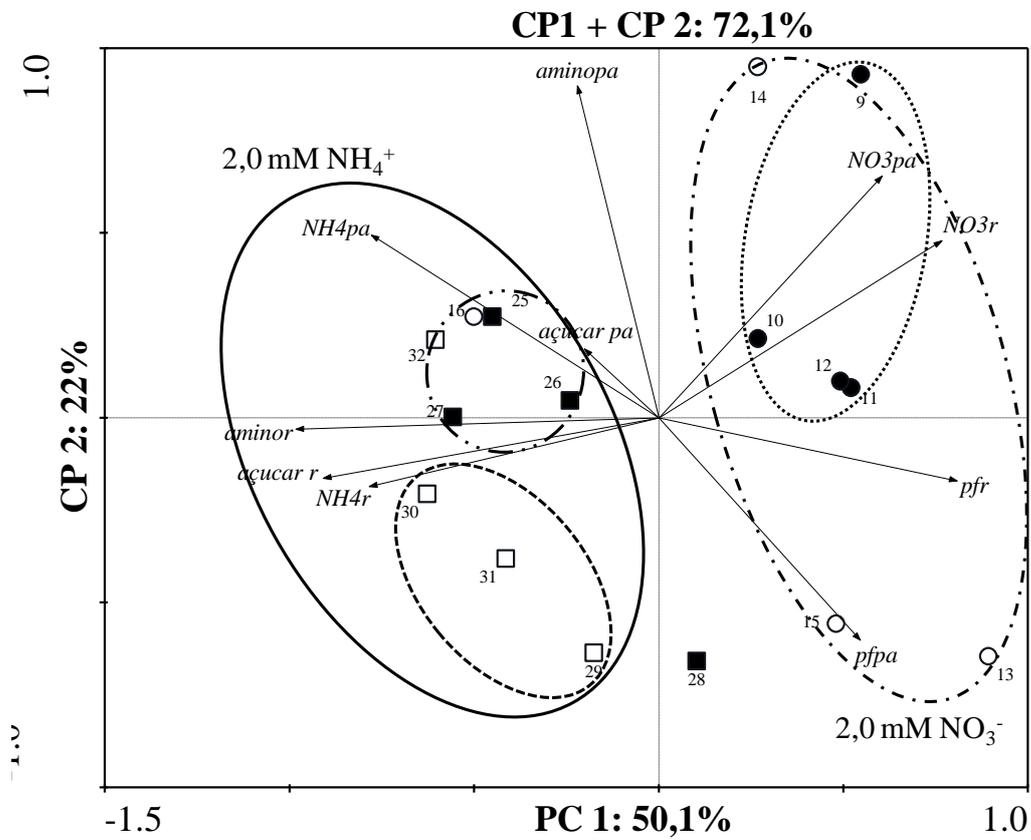


Figura 1 – Análise de Componentes principais para frações solúveis e peso fresco da variedade de arroz Piaui, sob 2,0 mM de nitrato com (●) e sem (○) ácido húmico (2,5 mg C L⁻¹), e amônio com (■) e sem (□) adição de ácido húmico numa solução nutritiva. Componente principal (CP), peso fresco (pf), raiz (r), parte aérea (pa), NH₄ (amônio), NO₃ (nitrato), amino livre (amino) e açúcares solúveis (açúcar), as numerações se referem as repetições.