

Produtividade da cultura do milho e atividade de enzimas do metabolismo dos carboidratos com fertilizantes foliares contendo água de xisto

GARDIN, João Peterson Pereira^{*}; DOUMER, Marta Eliane ^{*}; MESSIAS, Rafael da Silva ^{***}
SOUZA, Edson Luiz de ^{****}; FERNANDES; Adriano ^{*****}; ROZA-GOMES, Margarida Flores ^{*****}

Resumo

A agricultura brasileira tem buscado novos insumos e matérias-primas para garantir a sustentabilidade e soberania do país. Assim, também existe o interesse na busca por fertilizantes adequados aos diversos sistemas de produção. A água de xisto (AX) constitui-se num dos subprodutos do processamento industrial do xisto, rocha sedimentar de idade permiana, com características de atender tal demanda. Assim, com o objetivo de avaliar a eficiência de utilização de tal produto na produtividade de grãos de milho e na atividade enzimática, foi realizado um experimento com aplicações de fertilizantes foliares a base de AX em combinação com diversos nutrientes. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram: 1) Testemunha (sem fertilização foliar); 2) AX + micronutrientes; 3) Fertilizante foliar comercial e 4) AX. Os teores de amido nos grãos de milho mostraram ser influenciados pelas fertilizações foliares realizadas. Do ponto de vista fisiológico, a maior produtividade de grãos parece estar associada à síntese e acúmulo de amido e a atividade da sacarose sintase (SuSy).

Palavras-chave: Insumos Alternativos. Metabolismo dos Carboidratos. Produtividade. Força de Dreno.

Productivity of maize and enzymes activity carbohydrate metabolism with foliar fertilizers containing water shale

Abstract

Brazilian agriculture has sought new supplies and materials to ensure the sustainability and sovereignty of the country. Thus, there is also interest in the search for appropriate fertilizers to different production systems. The water shale (AX) constitutes one of the products of industrial processing of shale, sedimentary rock of Permian age, with features to meet this demand. Thus, in order to evaluate the efficiency of use of such product on the grain yield of corn and enzyme activ-

^{*} Agrônomo, doutor em Fisiologia Vegetal, professor de Bioquímica e Fisiologia Vegetal na Unoesc, Videira - SC – joao.gardin@unoesc.edu.br

^{**} Bióloga, mestre em Ciências do Solo UFSM - E-mail: mdoumer@gmail.com

^{***} Biólogo, doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, pesquisador visitante Embrapa Clima Temperado - rafael.embrapa@yahoo.com.br

^{****} Agrônomo, doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, professor Unoesc, Campus Videira, Videira - SC – edson.souza@unoesc.edu.br

^{*****} Eng. Agrônomo, bolsista do Projeto Xisto Agrícola, São Mateus do Sul - SC - fernandesafagro@hotmail.com

^{*****} Bióloga, doutora em Agronomia, professora e pesquisadora da Universidade do Oeste de Santa Catarina - Unoesc Campus de São Miguel do Oeste. São Miguel do Oeste – SC - margarida.gomes@unoesc.edu.br

ity, an experiment was conducted with application of foliar fertilizers based on AX and combined with various nutrients. The experimental design was randomized blocks with four replications. The treatments were: 1) control (without fertilization leaf), 2) AX + micronutrients, 3) and commercial foliar fertilizer 4) AX. The starch content in corn kernels were shown to be influenced by foliar fertilization performed. From a physiological standpoint, the highest grain yield seems to be associated with the synthesis and accumulation of starch and the activity of sucrose synthase (SuSy).

Keywords: Alternative Inputs. Secondary Metabolism. Induction of Resistance. Phytoalexin., Shikimic Acid. Enzymes.

1 INTRODUÇÃO

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 (MALAVOLTA, 2006). 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 à fertilização foliar (MALAVOLTA, 2006). É de conhecimento da comunidade científica que 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.

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

Novos insumos são necessários para a elaboração de fertilizantes foliares e a água de xisto (AX) tem se mostrado importante nesse contexto. A AX constitui-se um dos subprodutos do processamento industrial do xisto. Diariamente, são produzidos cerca de 300m³, 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 pirotbetuminoso, pressupõe um potencial uso deste subproduto líquido como matéria-prima para a produção de fertilizantes foliares.

Em um estudo objetivando avaliar o efeito de doses de AX isolada e combinada com enxofre, sobre o rendimento de grãos de soja na região de São Mateus do Sul - PR, na safra agrícola 2005/2006, observou-se incremento de produtividade até a dose de 6,0L ha⁻¹. Tal efeito foi potencializado pela interação com a presença de enxofre elementar (MESSIAS *et al.*, 2008).

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 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 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 (folhas e ramos), em relação a drenos de interesse econômico (grãos) e as enzimas que degradam sacarose podem ter 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 agrônômica de formulações contendo água de xisto com algumas variáveis fisiológicas envolvidas com a produtividade das culturas, como subsídio à compreensão dos mecanismos que proporcionam aumentos na produtividade de grãos 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 (Embrapa, 1999), com as seguintes características: pH-H_{2O}: 5,1; Índice SMP: 5,8, matéria orgânica: 24 g kg⁻¹; Argila: 190 g g⁻¹; Al: 2,5 cmol_c dm⁻³; Ca: 3,1 cmol_c dm⁻³; Mg: 1,3 cmol_c 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 por bases: 45%, saturação por alumínio: 8%, CTC efetiva: 4,9 cmol_c dm⁻³ e CTC_{pH7}: 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 a 0,80m. A adubação de base correspondeu à aplicação equivalente de 300kg ha⁻¹ da fórmula 10-20-20 de N-P₂O₅-K₂O, por ocasião da semeadura. Quarenta dias após a emergência, efetuou-se a aplicação de nitrogênio em cobertura na dose de 120kg ha⁻¹, na forma de ureia. As aplicações de AX foram realizadas com a utilização de pulverizador de pressão constante (CO₂), regulado para vazão de 100L ha⁻¹. As duas primeiras aplicações ocorreram durante período de crescimento vegetativo (V4 e V5), sendo a terceira pulverização realizada na fase reprodutiva de embonecamento (R1).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições, e os tratamentos utilizados foram: 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 e outros (1999) e da invertase insolúvel (IAP = Invertase Ácida da Parede Celular) segundo Cazetta e colaboradores (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 ressuspensionado 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 2mL 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 20.000g 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).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é apresentada a produtividade de grãos em função dos tratamentos com fertilizantes foliares. Observa-se que a produtividade de grãos do tratamento FFC (produto comercial) diferiu da testemunha (TEST), mas não diferiu dos tratamentos que usaram AX na sua composição. Os demais tratamentos (TEST, MAX e AX) não diferiram entre si. Os fertilizantes com AX foram elaborados sem técnicas industriais usadas para fertilizantes, ou seja, com uso de argilas dispersivas ou penetrantes foliares, somente foram misturados os nutrientes. Assim, pode-se perceber a influência da AX quando adicionada de micronutrientes no aumento da produtividade do milho.

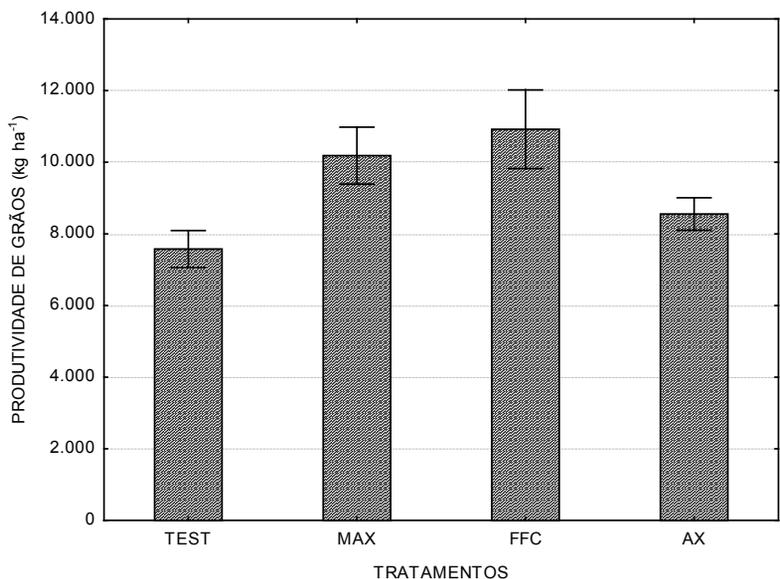


Figura 1. Produtividade de grãos de milho híbrido Pioneer 30F35 dos tratamentos com as características fisiológicas avaliadas. Pelotas – RS, 2010.

Fonte: Os Autores.

Na figura 2, são mostrados os resultados das análises de amido em grãos de milho. Pode-se observar que os tratamentos MAX e FFC acumularam mais amido nos grãos, mesma tendência que a produtividade de grãos. No estádio em que foi avaliado, o grão de milho apresenta-se com uma aparência amarela e no seu interior um fluido de cor leitosa, o qual, segundo Magalhães e colaboradores (2002), representa o início da transfor-

mação dos açúcares em amido, contribuindo para o incremento de seu peso seco. Os mesmos autores relatam que, tal incremento ocorre devido à translocação dos fotoassimilados presentes nas folhas e no colmo para a espiga e grãos em formação e que a eficiência dessa translocação, além de ser importante para a produção, é extremamente dependente de água. 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 que para a variável produtividade de grãos.

A atividade da SuSy, apresentada na figura 3, mostra a mesma tendência do rendimento de grãos, embora a diferença entre os tratamentos não tenha sido significativa. 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 à remobilização do material assimilado antes da antese e temporariamente armazenado, 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). Possivelmente, o maior acúmulo de amido foi devido à maior atividade da sacarose sintase, observada nos tratamentos que obtiveram a maior produtividade (MAX ; FFC, figura 1, 2 e 3).

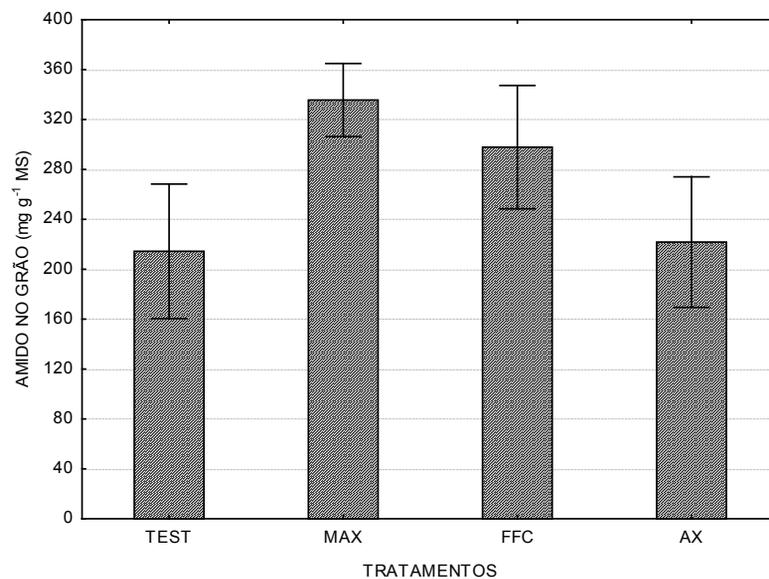


Figura 2. Conteúdo de amido nos grãos de milho híbrido Pioneer 30F35, coletados na fase do enchimento de grãos (R4 – grão pastoso). Pelotas – RS, 2010. Fonte: Os Autores.

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 (TAIZ; ZEIGER, 2004).

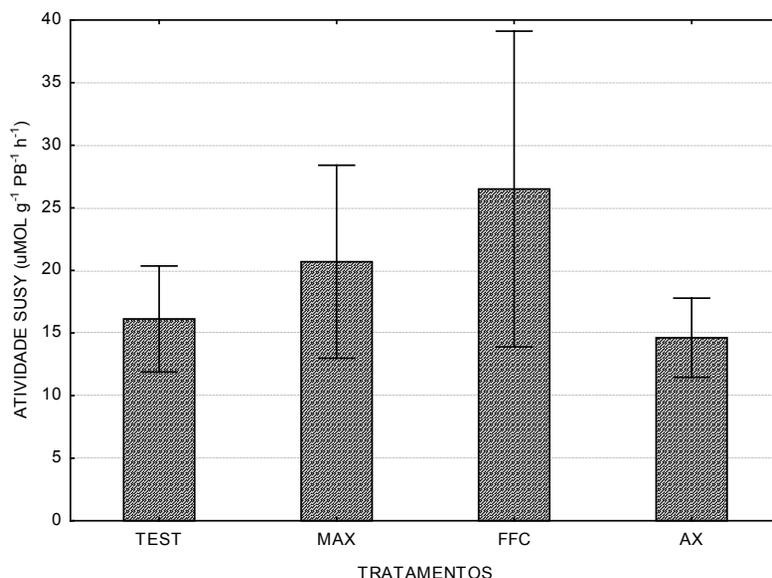


Figura 3. Atividade da sintase da sacarose (SuSy) no grão de milho híbrido Pioneer 30F35 coletado na fase do enchimento de grãos (R4 – grão pastoso). Pelotas – RS, 2010. $\mu\text{Mol g}^{-1} \text{PB}^{-1} \text{h}^{-1}$ = micromol por grama de proteína bruta por hora. Fonte: Os Autores.

Em geral, admite-se que a atividade da SuSy é relacionada predominantemente à síntese de parede celular e de amido (WINTER; HUBER, 2000), mas também pode estar associada à síntese de sacarose. Nesse trabalho foi realizada a atividade da SuSy no sentido de degradação da sacarose para síntese de amido, o que pode ser relacionado ao maior conteúdo de amido encontrado no grão dos tratamentos mais produtivos. 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. 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 figura 4, observa-se o menor teor de aminoácidos livres nos tratamentos MAX e FFC, os quais apresentaram maior produtividade de grãos, indicando um maior equilíbrio nutricional nestes tratamentos. É sabido que plantas bem nutridas ou equilibradas nutricionalmente são menos propensas ao ataque por insetos e doenças, basicamente devido à menor disponibilidade de substâncias que lhes servem de alimento, que são os aminoácidos livres. Numa planta equilibrada, os aminoácidos localizam-se nas estruturas proteicas, constituindo as reservas das sementes e o acúmulo acentuado de aminoácidos, ocorre pela paralisação do crescimento e da síntese de proteínas, associado à hidrólise destas (HANSON; HITZ, 1982).

Mais estudos nessa linha são necessários para esclarecer a influência dos fertilizantes foliares na produtividade das culturas e associar cada vez melhor ao metabolismo celular, para que as interferências externas pelos produtores possam ser cada vez mais precisas e eficientes.

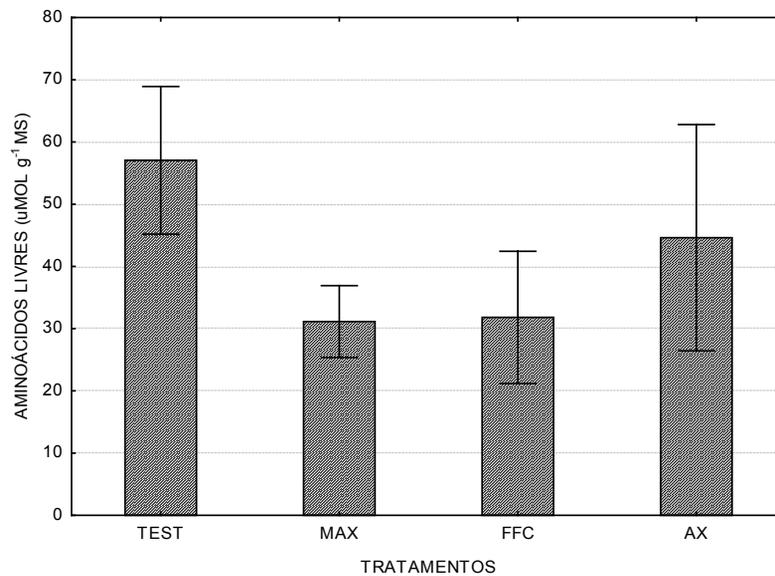


Figura 4. Conteúdo de aminoácidos livres no grão de milho coletado na fase do enchimento de grãos (R4 – grão pastoso). Pelotas – RS, 2010.

Fonte: Os Autores.

4 CONCLUSÕES

A água de xisto combinada com nutrientes inorgânicos em formulações de fertilizantes foliares promove aumento na produtividade 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.

Agradecimentos

Ao Projeto Xisto Agrícola, parceria Embrapa Clima Temperado, Petrobrás, Iapar e Epagri.

REFERÊNCIAS

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.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/SOLOS, 1999. 412p.

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.

HANSON, A.D.; HITZ, W.D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. **Annual Review of Plant Physiology**, Bethesda, v.33, p.163-203, 1982.

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.

MAGALHÃES, P.C. Fisiologia do Milho. Circular técnica 22. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG, 23p. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2002/circular/Circ_22.pdf. Acesso em: 20 fev. 2012.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638p.
MESSIAS, R. S. et al., Avaliação do uso agrícola de insumos a base de xisto: potencial agronômico e qualidade dos alimentos. **Relatório Técnico**, Embrapa Clima Temperado, 2009, 49p.

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.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed Editora S. A., 2004. 719p.

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.

Recebido em 2 de abril de 2012

Aceito em 31 de maio de 2012