

PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO RADICULAR DE PLÂNTULAS DE TOMATEIRO POR SUBSTÂNCIAS HÚMICAS ISOLADAS DE TURFEIRAS⁽¹⁾

Alexandre Christofaro Silva⁽²⁾, Luciano Pasqualoto Canellas⁽³⁾, Fábio Lopes Olivares⁽³⁾, Leonardo Barros Dobbss⁽⁴⁾, Natalia Oliveira Aguiar⁽⁴⁾, Daniele Ângela Rossinol Frade⁽⁵⁾, Carlos Eduardo Rezende⁽⁶⁾ & Lázaro Eustáquio Pereira Peres⁽⁷⁾

RESUMO

As turfeiras constituem uma reserva importante de C humificado nos ecossistemas terrestres. O interesse pelo uso de substâncias húmicas como agentes promotores do crescimento vegetal vem crescendo continuamente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a bioatividade das substâncias húmicas alcalino solúveis (SH), ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) isolados de turfeiras com matéria orgânica em diferentes estádios de decomposição da matéria orgânica (sáprica, hêmica ou fibrica) localizadas na Serra do Espinhaço Meridional, MG. Foram obtidas curvas de dose-resposta para o número de raízes emergidas do eixo principal em plântulas de tomateiro. Os resultados mostraram que os AH foram mais bioativos (maior indução de raízes laterais com menor dose) enquanto a maioria dos AF não promoveu o crescimento radicular. Tanto SH como AH estimularam o aparecimento de pelos radiculares. Em baixas concentrações, SH e AH induziram o aparecimento de pelos próximos à coifa, típico de plantas com desbalanço hormonal. O uso do tomateiro transgênico com gene repórter DR5::GUS permitiu a observação da indução de rotas de sinalização ligadas à ação das auxinas na promoção do crescimento radicular pelos AH.

Termos de indexação: efeitos fisiológicos, bioatividade.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 28 de outubro de 2010 e aprovado em 7 de julho de 2011.

⁽²⁾ Professor da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM. Caixa Postal 38, Rod. MGT 367, Km 583, CEP 39100-000 Diamantina (MG). E-mail: alexandre.christo@ufvjm.edu.br

⁽³⁾ Professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para a Agricultura-Nudiba. Av. Alberto Lamego, 2000. CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. Tel. (22) 27397198 E-mails: canellas@uenf.br;fabioliv@uenf.br

⁽⁴⁾ Pós-Graduando em Produção Vegetal, UENF. E-mails: ldobbss@uenf.br; nattyaguiar@gmail.com

⁽⁵⁾ Graduanda em Biologia, UENF. Bolsista de Iniciação Científica do CNPq. E-mail: daniellefrade@hotmail.com

⁽⁶⁾ Professor do Laboratório de Ciências Ambientais, UENF. E-mail: crezende@uenf.br

⁽⁷⁾ Professor do Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Pádua Dias 11, CP. 09, CEP 13418-900 11 Piracicaba. E-mail: lazaropp@esalq.usp.br

SUMMARY: ROOT GROWTH OF TOMATO SEEDLINGS INTENSIFIED BY HUMIC SUBSTANCES FROM PEAT BOGS

Peats are an important reserve of humified carbon in terrestrial ecosystems. The interest in the use of humic substances as plant growth promoters is continuously increasing. The objective of this study was to evaluate the bioactivity of alkaline soluble humic substances (HS), humic (HA) and fulvic acids (FA) isolated from peats with different decomposition stages of organic matter (sapric, fibric and hemic) in the Serra do Espinhaço Meridional, state of Minas Gerais. Dose-response curves were established for the number of lateral roots growing from the main plant axis of tomato seedlings. The bioactivity of HA was greatest (highest response in lateral roots at lowest concentration) while FA did not intensify root growth. Both HS and HA stimulated root hair formation. At low concentrations, HS and HA induced root hair formation near the root cap, a typical hormonal imbalance effect in plants. Transgenic tomato with reporter gene DR5::GUS allowed the observation that the auxin-related signalling pathway was involved in root growth promotion by HA.

Index terms: physiological effects, bioactivity.

INTRODUÇÃO

A promoção do crescimento radicular pelas substâncias húmicas tem sido relacionada com a sua concentração e origem e, ainda, com a espécie da planta utilizada (Nardi et al., 2009). Os mecanismos fisiológicos responsáveis pela estimulação no crescimento vegetal incluem a formação de complexos mais solúveis com micronutrientes (Pinton et al., 1999; Chen et al., 2004) e a interação com constituintes enzimáticos da membrana plasmática de forma análoga à ação dos hormônios vegetais (Canellas et al., 2002).

O interesse e a aplicação de produtos a base de substâncias húmicas em lavouras comerciais vêm crescendo em função das respostas obtidas especialmente em cultivos de alto interesse econômico (Cunha et al., 2009; Baldotto et al., 2009). A principal fonte de extração de substâncias húmicas para formulação de fertilizantes orgânicos e organominerais são materiais de origem geológica ricos em C humificado tais como turfas e rochas (Zaller, 2007).

A Serra do Espinhaço Meridional (MG) concentra turfeiras que prestam importantes serviços ambientais como sequestro de C e armazenamento e regulação de descargas hídricas (Silva et al., 2005). Os solos desses ecossistemas turfosos foram classificados como Organossolo Háplico Fíbrico típico (estádio inicial decomposição da matéria orgânica), Organossolo Háplico Hêmico típico (estádio intermediário) e Organossolo Háplico Sáprico térrico (estádio avançado) (Silva et al., 2009). As substâncias húmicas isoladas dessas turfeiras já foram caracterizadas quimicamente. A humina predomina amplamente

(teores maiores que 90 % em todas as amostras) e os teores de ácidos húmicos são mais elevados em relação aos ácidos fúlvicos. Os teores de C orgânico e de N médios são de 55,6 % e de 2,4 %, sendo a relação C/N média de 23,2 (Silva et al., 2009).

Esse trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito das substâncias húmicas isoladas de uma turfeira da Serra do Espinhaço Meridional sobre a promoção do crescimento radicular de plântulas de tomateiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

A turfeira estudada se estende por 81,75 ha e está inserida na Área de Proteção Ambiental - APA Pau-de-Fruta, que ocupa uma área de 1.700 ha e se localiza a 6 km da cidade de Diamantina-MG, entre as coordenadas 18° 14' 59" e 18° 16' 30" de latitude sul e 43° 39' 22" e 43° 41' 15" de longitude oeste e altitude média de 1350 m. Os solos desta turfeira, classificados segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 2006), são Organossolos Háplicos, sápricos (predominantes), hêmicos e fíbricos (Campos, 2009; Campos et al., 2010).

O clima presente é, de acordo com a classificação de Koppen, Cwb, ou seja, mesotérmico. A temperatura média anual é de 18,7 °C, com invernos frios e secos e verões brandos e úmidos e a precipitação média anual é de 1.500 mm (Silva et al., 2005). A cobertura vegetal que predomina na turfeira é o Campo Limpo Úmido (Silva et al., 2009), mas também são encontrados esparsos capões de vegetação de Floresta Estacional Semidecidual (Ribeiro & Walter, 1998).

A turfeira foi amostrada até a profundidade de 50 cm, sob as duas fitofisionomias da área, em diferentes estádios de decomposição da matéria orgânica. As amostras coletadas na camada de 5 a 10 cm de profundidade são fíbricas, as coletadas entre 20 e 25 cm são hêmicas e as coletadas entre 45 e 50 cm de profundidade são sápricas.

As amostras coletadas foram identificadas da seguinte maneira: A: Capão de Mata 1 (matéria orgânica sáprica); B: Capão de Mata 2 (matéria orgânica fíbrica); C: Campo Limpo Úmido 2 (matéria orgânica hêmica); D: Campo Limpo Úmido 2 (matéria orgânica sáprica); E: Campo Limpo Úmido 1 (matéria orgânica sáprica); F: Campo Limpo Úmido 1 (matéria orgânica hêmica); G: Capão de Mata 2 (matéria orgânica hêmica); H: Campo Limpo Úmido 1 (matéria orgânica fíbrica); I: Capão de Mata 2 (matéria orgânica sáprica).

Composição da matéria orgânica humificada das turfeiras

A quantificação das substâncias húmicas alcalino solúveis (SH), ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) foi realizada de acordo com o método descrito por Benites et al. (2003). O método é baseado na extração e separação das SH com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e separação dos AH dos AF com H₂SO₄ concentrado. A determinação dos teores de C oxidável nas turfas e nas frações humificadas foi realizada após a reação com K₂Cr₂O₇ 0,0866 mol L⁻¹ com fornecimento de calor externo seguido da titulação com Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ 6H₂O 0,2 mol L⁻¹. A razão entre a quantidade de C contido nos AH e AF (CAH/CAF) e o grau de humificação ([CAH/CSH]x100) foram calculados.

Extração da matéria húmica

A extração das substâncias húmicas solúveis das turfas foi realizada com NaOH 0,1 mol L⁻¹, na razão solvente:turfa de 1:10 (v:v) em atmosfera inerte de N₂. A extração foi repetida até a obtenção de extrato descolorido obtido, em média, com cinco extrações. Uma parte do extrato alcalino foi ajustado a pH 7,0 e submetido ao processo de diálise contra água destilada em membranas com poros de exclusão menor que 1000 Da. Após a diálise as substâncias húmicas alcalino solúveis (SH) foram congeladas e secas por liofilização. Outra parte do extrato alcalino foi utilizada para a obtenção dos ácidos húmicos (AH) mediante o abaixamento do pH da solução até 1,5 com HCl 6 mol L⁻¹. A operação de redissolução (com NaOH 0,1 mol L⁻¹) e precipitação (com HCl 6 mol L⁻¹) foi repetida três vezes. Em seguida, foram adicionados 200 mL de solução aquosa diluída de HF e HCl (preparada com 5 mL de HCl concentrado e 5 mL de HF concentrado, sendo o volume da solução completado para 1 L com água deionizada). A amostra ficou sob agitação durante oito horas. Os AH foram lavados com água deionizada até teste negativo contra cloreto utilizando-se AgNO₃. Antes do congelamento os AH

foram titulados até pH 7,0 com KOH 0,1 mol L⁻¹ e submetidos a diálise contra água em membranas com poros de exclusão menor que 1000 Da e secos por liofilização. O sobrenadante produzido com a acidificação do meio alcalino foi eluído numa coluna preenchida com a resina XAD-8 (0,33 g resina:1 g turfa). A coluna foi lavada com dois volumes de água destilada para retirada de compostos hidrofílicos livres e os ácidos fúlvicos (AF) retidos na coluna foram eluídos com um volume de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Os AF foram titulados a pH 7,00 com HCl 0,1 mol L⁻¹, submetidos a diálise contra água destilada em membranas com poros de exclusão menor que 1000 Da, congelados e secos por liofilização.

Crescimento das plântulas de tomateiro e tratamento com o material húmico

Sementes de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. cv. IPA 6) foram esterilizadas com solução comercial de NaClO 30 % por 15 min, sob agitação. As sementes foram lavadas com água destilada estéril e semeadas em caixas para germinação (11 x 11 x 4 cm). As caixas foram acondicionadas em câmara BOD nas seguintes condições: 25 °C, 12 h de fotoperíodo e 90 mmol m⁻² s⁻¹ de densidade de fluxo de fótons fotossintéticos. Após a germinação (4–5 dias), as plântulas foram tratadas com os materiais húmicos (SH, AH e AF) em diferentes concentrações: 0; 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 275,0 e 400,0 mg L⁻¹ (pH 5,8). Após o procedimento da análise de regressão para o número de raízes laterais emergidas, um novo experimento foi montado, utilizando-se desta vez as doses ótimas obtidas para os diferentes materiais húmicos. As novas plântulas foram tratadas ou não (CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ - controle) com os diferentes materiais húmicos onde cresceram durante 5 dias. Após esse período, foram avaliados o número de raízes laterais e o comprimento das raízes principais das plântulas de tomateiros.

Ensaio com Tomateiro variedade Micro-Tom DR5::GUS

Plantas transgênicas de tomate da variedade Micro-Tom DR5::GUS com quatro dias após a germinação foram tratadas com AH e AF isolado da turfa B para detecção de uma possível atividade do tipo auxínica. As plântulas foram tratadas durante quatro dias com 50 mg L⁻¹ AH e 100 mg L⁻¹ AF de CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ ou somente CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ (tratamento controle). As análises histoquímicas foram realizadas de acordo com o procedimento descrito anteriormente por Jefferson et al. (1986) com algumas pequenas modificações tais como tempo de incubação dos segmentos de raízes de um dia no escuro com solução GUS a 37 °C. O resultado foi visualizado em microscopia ótica como um produto de coloração azulada difusa resultado da reação enzimática nos segmentos radiculares. As sementes foram gentilmente cedidas pelo Dr. José Luiz Garcia-Martinez da Universidad Politécnica de Valencia, Espanha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de C encontrado nas turfeiras foi elevado, típico de ambientes que sofreram alguma restrição de drenagem e relacionado com o estágio de decomposição da matéria orgânica. A CAH/CAF utilizada por Jiménez & García (1992) para avaliar a humificação da matéria orgânica foi maior nas turfeiras de caráter sáprico (Quadro 1). O principal requisito da fonte para extração de matéria húmica é o seu conteúdo elevado tal como os encontrados nas amostras das turfas estudadas. Para avaliar o potencial de uso da matéria húmica isolada das turfeiras como agente promotor do crescimento vegetal foram conduzidos experimentos com plântulas de tomateiro.

O aumento no crescimento das raízes é um dos principais efeitos fisiológicos das substâncias húmicas e depende tanto da espécie e idade das plantas como da fonte e concentração utilizada. A concentração ótima de estímulo foi obtida com a derivação da curva de dose-resposta utilizando-se substâncias húmicas (SH) ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) isolados da amostra de turfa B versus o número de raízes laterais emergidas do eixo principal. Mudanças na arquitetura do sistema radicular têm grande impacto sobre a

produção final (Dorlodot et al., 2007). Um dos fatores mais importantes que controlam a arquitetura do sistema radicular é a formação de raízes laterais e muitos sinais provenientes do ambiente bem como dos hormônios afetam o número de raízes laterais emergidas (Nibau et al., 2008). As curvas de dose-resposta (Quadro 2) e o modelo quadrático descreveu os efeitos observados para todos os materiais húmicos testados. Entre os materiais húmicos estudados os AH foram os que apresentaram maior bioatividade, i.e., o máximo de indução de raízes laterais foi obtido com a menor concentração (160 mg L⁻¹ AH). A bioatividade das frações humificadas isoladas das turfas estudadas avaliada pelo efeito na indução do número de raízes laterais é mostrada na figura 1(A), (B) e (C).

A SH-A foi a única amostra de SH que apresentou habilidade de encurtar o eixo principal da raiz sem, no entanto, induzir o número de raízes laterais. As demais SH promoveram aumento significativo no número de raízes laterais emergidas do eixo principal (Figura 1). Todas as amostras de AH promoveram indução no número de raízes laterais emergidas (Figura 1). Os incrementos variaram de 185 a 400 % em relação às plantas controle (Figura 1(B)b). Em relação ao comprimento do eixo principal foram observados dois tipos de resposta. Uma típica de alta

Quadro 1. Quantidade de substâncias húmicas alcalino solúveis (SH), ácidos fúlvicos (AF) e húmicos (AH) nas diferentes turfeiras

Código amostra ⁽¹⁾	Estádio evolução	C oxidável	C _{SH}	C _{AH}	C _{AF}	C _{AH} /C _{AF}	(C _{AH} /C _{SH}) x 100
		g kg ⁻¹					
A	Sáprico	125,4	62,15	40,23	21,92	1,84	65
B	Fábrico	77,3	38,05	21,40	16,65	1,29	56
C	Hêmico	158,2	100,59	54,26	46,33	1,17	54
D	Sáprico	37,5	45,61	24,23	21,38	1,13	53
E	Sáprico	45,8	32,81	19,16	13,65	1,40	58
F	Hêmico	155,6	86,16	27,59	58,57	0,47	32
G	Hêmico	72,1	39,89	15,41	24,48	0,63	39
H	Fábrico	162,2	69,42	28,63	40,79	0,70	41
I	Sáprico	37,9	30,26	21,37	8,89	2,40	71

⁽¹⁾ A: Capão de Mata 1; B: Capão de Mata 2; C: Campo Limpo Úmido 2; D: Campo Limpo Úmido 2; E: Campo Limpo Úmido 1; F: Campo Limpo Úmido 1; G: Capão de Mata 2; H: Campo Limpo Úmido 1; I: Capão de Mata 2.

Quadro 2. Equações de regressão, coeficientes de correlação, desvio-padrão da regressão, valores p e pontos de inflexão para o número de raízes laterais emergidas de *Solanum lycopersicum* L. após o tratamento com soluções de SH, AH e AF isoladas de turfas (n=7)

Material Húmico	Equações de regressão ($\hat{y} = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	R ²	SD	p	Dose ótima (dx/dy): $b_1 + 2(b_2)x = 0$
					mg L ⁻¹
SH	$\hat{y} = -0,0001x^2 + 0,049x + 2,32$	0,88	1,35	<0,0001	245
AH	$\hat{y} = -0,0002x^2 + 0,064x + 5,69$	0,87	1,80	<0,0001	160
AF	$\hat{y} = -0,0002x^2 + 0,085x + 3,20$	0,95	1,76	<0,0001	212

concentração de auxina exógena (Zandonadi et al., 2007) e correspondente a forte inibição do crescimento do eixo principal como observado nas amostras AH-D e AH-G isoladas de turfas sáprica e hêmica, respectivamente, e ausência de efeito sobre o eixo principal (AH-H) (Figura 1). As amostras AH-E e AH-G apresentaram grande indução no número de raízes laterais emergidas do eixo principal (390 e 400 % em relação às plantas controle, respectivamente). Já o AH-E não promoveu encurtamento do eixo principal enquanto o AH-G inibiu o comprimento do eixo principal em -31 %.

Os AF apresentaram um padrão de resposta bem mais complexo do que o observado para os AH e SH (Figura 1). Enquanto seis amostras (AF-A, AF-B, AF-C, AF-E, AF-F e AF-H) das nove amostras testadas promoveram aumento do comprimento da raiz principal (Figura 2(C)a), sete AF (AF-B, AF-C, AF-D,

AF-E, AF-F, AF-H, AF-I) inibiram o número de raízes laterais emergidas do eixo principal em relação a resposta das plantas controle (Figura 1(C)b). Somente os AF-A e AF-G aumentaram o número de raízes laterais (na faixa de 15 %) revelando baixa atividade biológica dos AF nesse ensaio (Figura 1(C)b)

O padrão observado na indução do número de raízes laterais do tomateiro tanto pelas SH como pelos AH sugerem uma ação similar a observada pelos hormônios de crescimento especialmente as auxinas que promovem, além do aumento do número de raízes laterais emergidas, a proliferação de pelos radiculares (Canellas et al., 2010). A proliferação de pelos radiculares induzida pelas diferentes concentrações de SH e AH pode ser visualizada na figura 2. Tanto as SH como os AH na menor concentração (12,5 mg L⁻¹) induziram o aparecimento de pelos radiculares na zona muito próxima da coifa, ou seja, na extremidade da raiz.

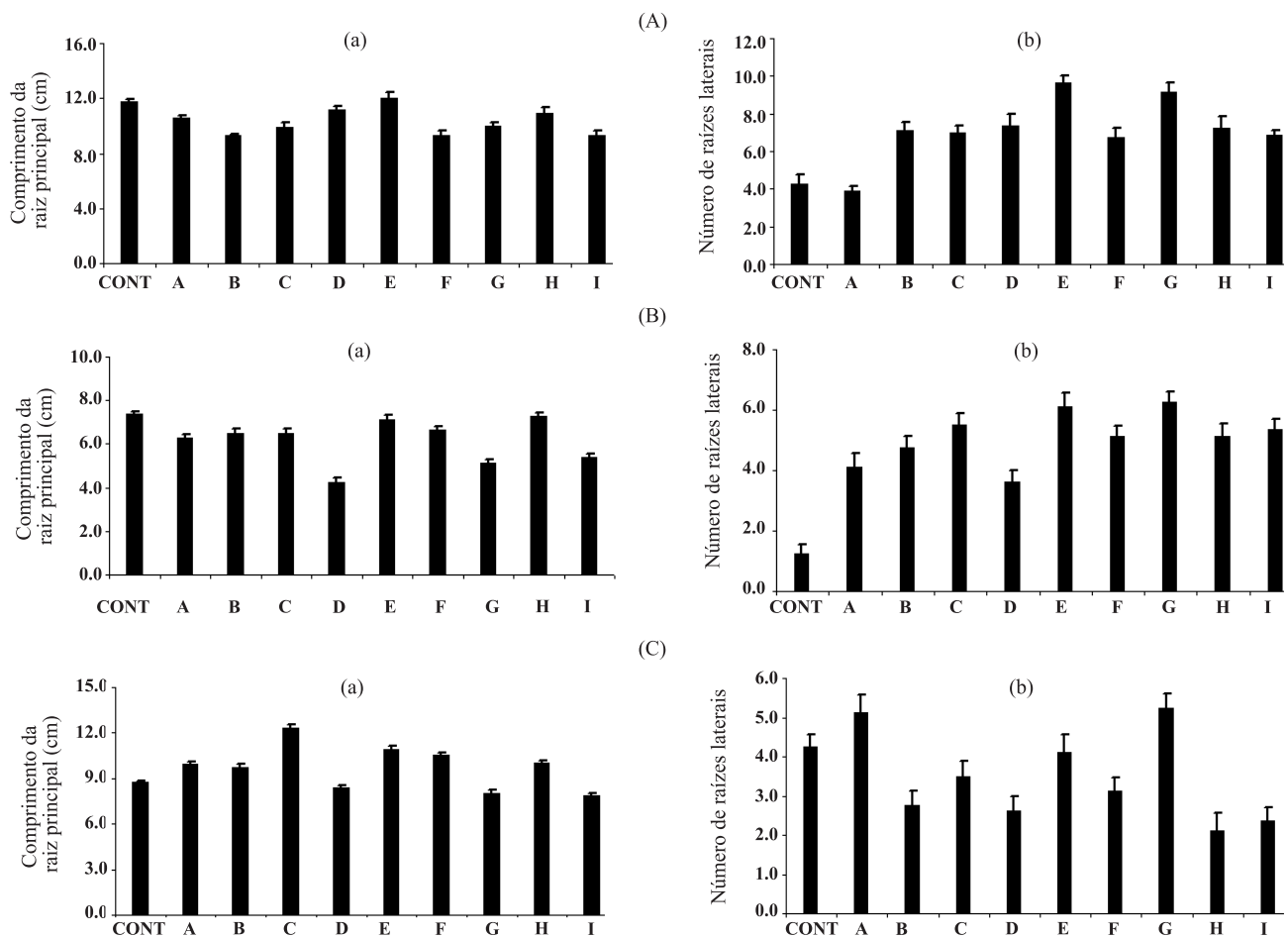


Figura 1. Efeito das substâncias húmicas alcalino solúveis (SH) isoladas de diferentes turfeiras na concentração de 245 mg L⁻¹ (A) dos ácidos húmicos (AH) na concentração de 160 mg L⁻¹ (B) e dos ácidos fúlvicos (AF) isolados de diferentes turfeiras na concentração de 212,5 mg L⁻¹ (C) sobre a arquitetura o sistema radicular de tomateiro analisadas 5 dias após o tratamento. Dados do comprimento das raízes principais (a); número de raízes laterais (b). Os valores representam a média de oito plantas \pm desvio padrão. Turfas: A: Capão de Mata 1; B: Capão de Mata 2; C: Campo Limpo Úmido 2; D: Campo Limpo Úmido 2; E: Campo Limpo Úmido 1; F: Campo Limpo Úmido 1; G: Capão de Mata 2; H: Campo Limpo Úmido 1; I: Capão de Mata 2.

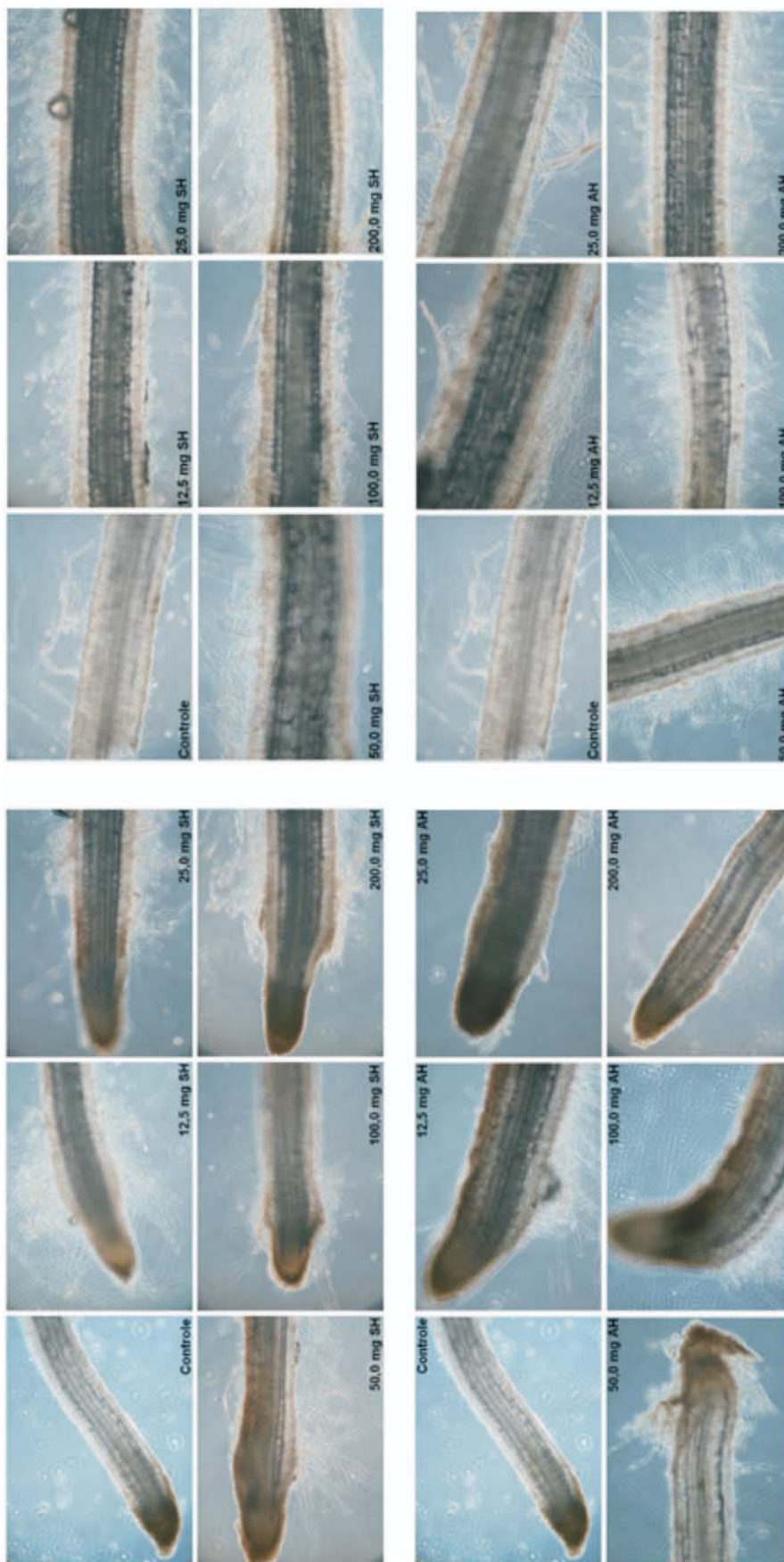


Figura 2. Microscopia óptica de contraste de fase das raízes de plântulas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), tratadas com diferentes concentrações de substâncias húmicas (SH) e ácidos húmicos (AH). Fotos correspondem à região apical e meristemática das raízes.

Esse padrão de emissão de pelos (*root hairs*) na ponta da raiz foi visível nas SH e menos importante nas outras concentrações avaliadas de AH. Tanto as SH como os AH promoveram, aparentemente, distúrbios no balanço hormonal das plântulas uma vez que foi observado (Figura 2) aparecimento de raízes na zona da coifa. Já na zona de diferenciação meristemática foi visível e marcante a indução de pelos promovida pelos AH em todas as concentrações utilizadas. Esses efeitos sugerem uma ação do tipo hormonal ou regulatória, pois em pequenas concentrações os AH promovem desbalanço hormonal e indução de pelos no ápice da raiz e em concentrações mais elevadas atuam como auxinas típicas. Para avaliar esse efeito foram utilizadas plantas mutantes de tomateiro anão com gene repórter GUS que sinaliza para a rota de auxinas tratadas com AH e AF isolados da amostra de turfa B. Os resultados são apresentados na figura 3 e permitiram a clara identificação que somente os AH atuam como auxinas exógenas.

Os efeitos das SH sobre a fisiologia das plantas geralmente é reconhecido como resultado da promoção do crescimento radicular (Vaughan et al., 1985; Chen & Aviad, 1990; Nardi et al., 2002). Isso torna a planta capaz de explorar um volume maior de solo e representa um processo importante na adaptação das plantas a ambientes com baixo conteúdo de nutrientes disponível ou submetidos a estresse hídrico (Fitter, 1991). Muscolo et al. (2007) postularam que a interação entre a matéria húmica e o sistema radicular é possível na rizosfera quando moléculas húmicas em solução tem tamanho suficiente para permitir seu fluxo no apoplasto e atingir as membranas celulares. Dessa forma, uma série de trabalhos (Piccolo et al., 1992; Nardi et al., 2002; Quaggiotti et al., 2004; Muscolo et al., 2007; Nardi et al., 2007) consideraram os AF como a fração de SH de maior bioatividade. Entretanto, nesse trabalho foi observado que, independente do estágio de decomposição da matéria orgânica das turfeiras, os AH foram o material húmico de maior bioatividade. Os resultados estão de acordo com os previamente obtidos por Aguiar et al. (2009) e Canellas et al. (2010) que utilizaram a cromatografia por exclusão em gel de sephadex ou por HPSEC, respectivamente, e não encontraram qualquer relação entre a distribuição de massa molecular e a bioatividade das SH avaliadas tanto pela indução na emergência das raízes laterais como pela promoção da atividade das H⁺-ATPases de membrana plasmática. Assim, como pode ser observado na figura 3, AH foram capazes de ativar a rota de sinalização tipicamente utilizada pelas auxinas atuando como um regulador do crescimento vegetal (Zandonadi et al., 2007; Dobbss et al. 2010). Uma possível justificativa para a maior bioatividade dos AH pode ser encontrada na sua natureza química. Os AF são compostos menores e de acidez muito mais elevada enquanto os AH apresentam tanto distribuição de massa aparente e hidrofobicidade maiores. Piccolo (1996) postulou que os componentes hidrofóbicos

derivados da degradação de plantas ou da ressíntese de microrganismos são capazes de incorporar moléculas nos seus domínios hidrofóbicos e protegê-las contra a degradação. Spaccini et al. (2002) utilizando um composto de degradação fácil marcado isotopicamente demonstraram que a adição de matéria húmica de natureza hidrofóbica no solo protegeu o composto da degradação bioquímica. Dessa forma, pode ser que o processo de proteção de biofragmentos fisiologicamente ativos nos domínios mais hidrofóbicos dos AH tornem essa fração mais ativa. Não foi surpresa, portanto, encontrar uma relação significativa entre o grau de hidrofobicidade da matéria húmica e sua capacidade de indução do crescimento radicular (Canellas et al., 2008a; 2009; Dobbss et al., 2010). Em solução, os AH podem liberar parte de seus componentes com a adição de pequenas quantidades de ácidos orgânicos (Piccolo et al., 1999; Cozzolino et al., 2001) tais como os exsudados pelas raízes. Além disso, Canellas et al. (2008b) e Puglisi et al. (2008) verificaram que plântulas tratadas com AH alteram seu perfil de exsudação de ácidos orgânicos aumentando a concentração de ácido cítrico e oxálico na rizosfera. Os componentes moleculares desagregados da associação húmica podem acessar

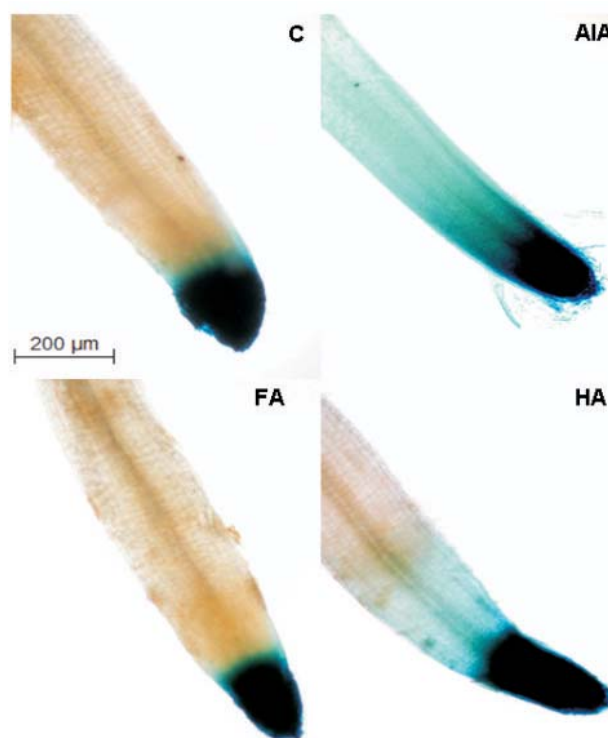


Figura 3. Visualização da atividade GUS em raízes de tomateiro transgênico Micro Tom DR5::GUS. As plântulas foram crescidas por 4 dias em CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ e incubadas por 4 dias com água (C), ácido indol acético (AIA) 10⁻⁶ mol L⁻¹ ou 50 e 100 mg L⁻¹ de ácidos húmicos e fúlvicos, respectivamente, isolados de amostras de turfa-B. Barra: 200 μm.

receptores celulares na membrana plasmática e desencadear os efeitos de promoção do crescimento radicular tais como os observados nesse trabalho.

CONCLUSÕES

1. O teor de C humificado e o grau de humificação avaliados pela proporção de ácidos húmicos nas turfeiras foram elevados e variaram de acordo com o grau de decomposição da matéria orgânica das turfas.

2. Os ácidos húmicos (AH) consistiram na fração humificada de maior bioatividade, ou seja, apresentaram maior capacidade de indução de raízes laterais no estágio inicial de desenvolvimento do tomateiro com a menor concentração.

3. Tanto os AH como as substâncias húmicas alcalino solúveis foram hábeis em promover o aparecimento de pelos radiculares em plântulas de tomateiro. Em baixas concentrações induziram o crescimento de pelos fora da zona meristemática num efeito típico de desbalanço hormonal.

4. Os AH atuaram como um tipo de auxina exógena induzindo a rota de sinalização da auxina em plântulas transgênicas de tomateiro MicroTom DR5::GUS.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPERJ, FAPEMIG e CNPq pelo auxílio financeiro. Esse trabalho foi também uma iniciativa apoiada pelo INCT da Fixação Biológica de Nitrogênio.

LITERATURA CITADA

- AGUIAR, N.O.; CANELLAS, L.P.; DOBBS, L.B.; ZANDONADI, D.B.; OLIVARES, F.L. & FACANHA, A.R. Distribuição de massa molecular de ácidos húmicos e promoção do crescimento radicular. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:1613-1623, 2009.
- BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; GIRO, V.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L. & BRESSAN-SMITH, R. Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimação. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:979-990, 2009.
- BENITES, V.M.; MADARI, B. & MACHADO, P.L.O.A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: Um procedimento simplificado de baixo custo. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2003. 7p. (Comunicado Técnico, 16)
- CAMPOS, J.R.R. Caracterização, mapeamento, volume de água e estoque de carbono da turfeira da Área de Proteção Ambiental Pau-de-Fruta, Diamantina – MG. Diamantina, MG, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2009. 101p. (Tese de Mestrado)
- CAMPOS, J.R.R.; SILVA, A.C.; SILVA, D.V.; SILVA, E.B. & GRAZZIOTTI, P.H. Pedochronology and development of peat bog in the Environmental Protection Area Pau-de-Fruta – Diamantina, Brazil. *R. Bras. Ci. Solo*, 34:1965 - 1975, 2010.
- CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; FAÇANHA, A.R. & OLIVARES, F.L. Humic acids isolated from earthworm induces root mitotic sites and plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiol.*, 30:1951-1957, 2002.
- CANELLAS, L.P.; PICCOLO, A.; DOBBS, L.B.; OLIVARES, F.L.; SPACCINI, R.; ZANDONADI, D.B. & FACANHA, A.R. Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acids. *Chemosphere*, 78:457-466, 2010.
- CANELLAS, L.P.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; DOBBS, L.B.; OKOROKOVA-FACANHA, A.; SANTOS, G.A.; OLIVARES, F.L. & FACANHA, A.R. Relationships between chemical characteristics and root growth promotion of humic acids isolated from Brazilian Oxisols. *Soil Sci.*, 174:611-620, 2009.
- CANELLAS, L.P.; TEIXEIRA JUNIOR, L.R.L.; DOBBS, L.B.; SILVA, C.A.; MÉDICI, L.O.; ZANDONADI, D.B. & FAÇANHA, A.R. Humic acids crossinteractions with root and organic acids. *Ann. Appl. Biol.*, 153:157-166, 2008b.
- CANELLAS, L.P.; ZANDONADI, D.B.; BUSATO, J.G.; BALDOTTO, M.A.; SIMOES, M.L.; MARTIN-NETO, L.; FACANHA, A.R.; SPACCINI, R. & PICCOLO, A. Bioactivity and chemical characteristics of humic acids from tropical soils sequence. *Soil Sci.*, 173:624-637, 2008a.
- CHEN, Y. & AVIAD, T. Effects of humic substances on plant growth. In: MACCARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOLM, R.L. & BLOOM, P.R., eds. Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings. Madison, ASA/SSSA, 1990. p.161-186.
- CHEN, Y.; CLAPP, C.E. & MAGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complex. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 50:1089-1095, 2004.
- COZZOLINO, A.; CONTE, P. & PICCOLO, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy, keto, and sulfonic acids. *Soil Biol. Biochem.*, 33:563-571, 2001.
- CUNHA, T.J.F.; BASSOI, L.H.; SIMÕES, M.L.; MARTIN-NETO, L.; PETREIRE, V.G. & RIBEIRO, P.R.A. Ácidos húmicos em solo fertirrigado no Vale do São Francisco. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:1583-1592, 2009.
- DOBBS, L.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; AGUIAR, N.O.; PERES, L.E.P.; AZEVEDO, M.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A. & FAÇANHA, A.R. Bioactivity of chemically transformed Humic matter from vermicompost on plant root growth. *J. Agric. Food Chem.*, 58:3681-3688, 2010.
- DORLODOT, S.; FORSTER, B.; PAGES, L.; PRICE, A.; TUBEROSA, R. & DRAYE, X. Root system architecture: Opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *Trends Plant Sci.*, 12:474-481, 2007.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, Embrapa Produção de Informação/Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006.
- FITTER, A.H. Characteristics and functions of root systems. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A. & KAFKAFI, U., eds. Plant roots: The Hidden Half. New York, Marcel Dekker, 1991. p.3-24, 1991.
- MUSCOLO, A.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V. & NARDI, S. The auxin-like activity of humic substances is related to membrane interactions in carrot cell cultures. *J. Chem. Ecol.*, 33:115-129, 2007.
- NARDI, S.; CARLETTI, P.; PIZZEGHELLO, D. & MUSCOLO, A. Biological activities of humic substances. In: SENESI, N.; XING, B. & HUANG, P.M., eds. Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems. New Jersey, Wiley, 2009. p.305-339.
- NARDI, S.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S.; BAIANO, S.; SPACCINI, R. & PICCOLO, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and Krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biol. Biochem.*, 704:3138-3146, 2007.
- NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A. & VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol. Biochem.*, 34:1527-1536, 2002.
- NIBAU, C.; GIBBS, D.J. & COATES, J.C. Branching out in new directions: The control of root architecture by lateral root formation. *New Phytol.*, 179:595-614, 2008.
- PICCOLO, A. Humus and soil conservation. In: PICCOLO, A., ed. Humic substances in terrestrial ecosystems. Amsterdam, Elsevier, 1996. p.225-264.
- PICCOLO, A.; CONTE, P. & COZZOLINO, A. Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular association of dissolved humic substances. *Europ. J. Soil Sci.*, 50:687-694, 1999.
- PICCOLO, A.; NARDI, S. & CONCHERI, G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. *Soil Biol. Biochem.*, 24:373-380, 1992.
- PINTON, R.; CESCO, S.; SANTI, S.; AGNOLON, F. & VARANINI, Z. Water extractable humic substances enhance iron deficiency response by Fe deficient cucumber plants. *Plant Soil*, 210:145-157, 1999.
- PUGLISI, E.; FRAGOULIS, G.; DEL RE, A.M.; SPACCINI, R.; GIGLIOTTI, G.; SAID-PULLICINO, D. & TREVISAN, M. Carbon deposition in soil rhizosphere following amendments with soluble fractions, as evaluated by combined soil-plant rhizobox and reporter gene systems. *Chemosphere*, 73, 1292-1299, 2008.
- QUAGGIOTTI, S.; RUPERTI, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V. & NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *J. Exper. Bot.*, 55:803-813, 2004.
- SILVA, A.C.; HORÁK, I.; VIDAL-TORRADO, P.; MARTINEZ CORTIZAS, A.; RODRIGUES RACEDO, J.; GRAZZIOTTI, P.H.; SILVA, E.B. & FERREIRA, C.A. Turfeiras da Serra do Espinhaço Meridional - MG. I - Caracterização e classificação. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:1385-1398, 2005.
- SILVA, A.C.; HORÁK, I.; VIDAL-TORRADO, P.; MARTINEZ CORTIZAS, A.; RODRIGUES RACEDO, J. & CAMPOS, J.R. Turfeiras da Serra do Espinhaço Meridional - MG. II- Influência da drenagem na composição elementar e substâncias húmicas. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:1399-1408, 2009.
- SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; CONTE, P.; HABERHAUER, G. & GERZABEK, M.H. Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. *Soil Biol. Biochem.*, 34:1839-1851, 2002.
- VAUGHAN, D.; MALCOLM, R.E. & ORD, B.G. Influence of humic substances on growth and physiological process. In: VAUGHAN, D. & MALCOLM, R.E., eds. Soil organic matter and biological activity. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1985. p.77-108.
- ZALLER, J.G. Vermicompost in seedling potting media can affect germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties. *Europ. J. Soil Biol.*, 43:S332-S336, 2007.
- ZANDONADI, D.B.; CANELLAS, L.P. & FAÇANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H⁺ pumps activation. *Planta*, 225:1583-1595, 2007.

