

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHAREL EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM PLÂNTULAS DE FEIJOEIRO
(*Phaseolus vulgaris* L.) TRATADAS COM ÁCIDOS HÚMICOS ISOLADOS DE
VERMICOMPOSTO**

Maria Emanuely Ramires

Unaí-MG
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM PLÂNTULAS DE FEIJOEIRO
(*Phaseolus vulgaris* L.) TRATADAS COM ÁCIDOS HÚMICOS ISOLADOS DE
VERMICOMPOSTO**

Maria Emanuely Ramires

Orientador(a):

Profº Leonardo Barros Dobbss

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharel em Ciências Agrárias, como
parte dos requisitos exigidos para a conclusão do
curso.

Unaí-MG

2018
**TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM PLÂNTULAS DE FEIJOEIRO
(*Phaseolus vulgaris* L.) TRATADAS COM ÁCIDOS HÚMICOS ISOLADOS DE
VERMICOMPOSTO**

Maria Emanuely Ramires

Orientador(a):
Professor Leonardo Barros Dobbss

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharel em Ciências Agrárias, como
parte dos requisitos exigidos para a conclusão do
curso.

Prof^a Dr^a. Tânia Pires da Silva - UFVJM

Prof^a Dr^a. Ingrid Horák Terra - UFVJM

Prof^o Dr^o Leonardo Barros Dobbss - UFVJM

1 **Tolerância ao estresse hídrico em plântulas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) tratadas**
2 **com ácidos húmicos isolados de vermicomposto**

3 **Tolerance to water stress in seedlings bean (*Phaseolus vulgaris L.*) treated with humic**
4 **acids isolated of vermicompost**

5 Maria Emanuely Ramires^I; Leonardo Barros Dobbss^{II*}

6 ^{I*} Graduanda em Ciências Agrárias na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM),
7 Unaí, MG, Brasil. E-mail: emanuelyinter@hotmail.com.

8 ^{II*} Professor Adjunto da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Unaí, MG,
9 Brasil. E-mail: leonardo.dobbss@ufvjm.edu.br. Autor para correspondência.

10
11

12 **RESUMO**

13 As plantas durante todo o seu ciclo de vida, principalmente por serem seres sésseis, podem vir
14 a passar por condições ambientais desfavoráveis para o seu crescimento e desenvolvimento.
15 Situações adversas como, por exemplo, o estresse hídrico são frequentes e gerado muitas
16 vezes por influência do homem. Condição que influencia em demasiado na produtividade do
17 feijão. No presente estudo foram avaliados a bioatividade e o poder de recuperação às
18 condições adversas do estresse hídrico por ácido húmico isolado de vermicomposto. Os
19 resultados obtidos para os aspectos morfológicos avaliados foram significativos após a adição
20 de ácidos húmicos à solução de cultivo, proporcionando um melhor crescimento e também
21 uma aparente minimização ao dano causado às plântulas de feijoeiro em situação de estresse
22 hídrico. Com relação à atividade das enzimas foi possível observar que a maior atividade
23 dessas se deu quando as plântulas de feijoeiro foram submetidas à restrição hídrica e que, em
24 contrapartida, houve uma significativa diminuição da atividade dessas enzimas quando há
25 presença dos ácidos húmicos, que atuaram como aliviadoras do estresse oxidativo nessas
26 plântulas.

27 **Palavras-chaves:** matéria orgânica; ensaios biológicos; enzimas antioxidantes.

28

1

2 **ABSTRACT**

3 Plants throughout their life cycle, mainly because they are sessile beings, may undergo
4 unfavorable environmental conditions for their growth and development. Adverse situations
5 such as water stress are frequent and often generated by human influence. Condition that
6 influences too much on bean productivity. In the present study, the bioactivity and the
7 recovery power to the adverse conditions of water stress by humic acid isolated from
8 vermicompost were evaluated. The results obtained for the evaluated morphological aspects
9 were significant after the addition of humic acid to the culture solution, providing a better
10 growth and also an apparent minimization to the damage caused to bean seedlings under
11 water stress conditions. Regarding the activity of the enzymes, it was possible to observe that
12 the greater activity of these occurred when the bean seedlings were submitted to water
13 restriction and that, on the other hand, there was a significant decrease in the activity of these
14 enzymes when the presence of humic acid, as relievers of oxidative stress in these seedlings.

15 **Key words:** organic matter; biological essays; antioxidant enzymes.

16

17 **1. INTRODUÇÃO**

18 As substâncias húmicas (SH) são produtos da degradação de resíduos de plantas e
19 animais através da atividade microbiológica, são consideradas o estágio final da evolução dos
20 compostos de carbono no solo, e também como componentes mais recalcitrantes da matéria
21 orgânica. Constituem o principal comp da matéria orgânica (MO), consistindo em grande
22 parte da reserva orgânica do solo.

23 A MO regida pelo seu principal compartimento, as SH, exercem influência
24 amplamente reconhecida nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e no
25 crescimento das plantas (Asli, et al. 2010). Dentre os benefícios da MO para o solo estão:

1 melhor estruturação, maior retenção de água, aumento da microbiota, aumento da fertilidade e
2 todos esses fatores refletem na produtividade da cultura de interesse.

3 Sabe-se que a composição química da matéria húmica inclui diversos anéis
4 aromáticos, que interagem uns com os outros e com cadeias alifáticas, dando origem a
5 moléculas com massas diferentes (Nardi et al., 2002). Estas moléculas formam supra
6 agregados que são mantidos unidos por ligações de hidrogênio (Baldotto et al., 2011). Em sua
7 estrutura foi observado espaços vazios de diferentes tamanhos, onde poderiam alojar-se outros
8 compostos orgânicos hidrofílicos ou hidrofóbicos, como carboidratos e matérias proteináceas,
9 lipídeos, agrotóxicos e outros poluentes além de interagirem e interferirem diretamente nos
10 movimentos internos da água, ar, calor e crescimento de raízes, constituindo o que se
11 conceitua como partículas primárias minerais do solo (Schulten e Schnitzer, 1997).

12 Portanto, de acordo com essas características, as SH possuem uma grande eficiência
13 na absorção de nutrientes conferindo maior capacidade de produção de biomassa às plantas, já
14 que sob condições de limitação de nutrientes do meio, maior tolerância ao estresse
15 nutricional, bem como uma maior tolerância ao estresse hídrico (Pinton et al., 1999; Altieri,
16 1999), sendo que sua interação com constituintes enzimáticos da membrana plasmática tem
17 efeito similar à ação dos hormônios vegetais (Canellas et.al., 2002).

18 A aplicação e o interesse em produtos a base de SH em lavouras comerciais tem tido
19 um crescimento significativo, pois vem demonstrando respostas positivas em cultivos de alto
20 interesse econômico (Baldotto et al., 2009).

21 O déficit hídrico é uma situação comum à produção de muitas culturas, podendo
22 apresentar um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento das plantas
23 (Lecoeur e Sinclair, 1996). Dessa forma, a frequência e a intensidade do deficit hídrico são de
24 extrema importância para a produção agrícola. O estresse hídrico na planta e/ou no solo pode
25 provocar diversos efeitos, que, dentre outros, está o fechamento dos estômatos, limitação da

1 fotossíntese e do crescimento das plantas. Segundo Bergamaschi (1992), à medida que o solo
2 seca, torna-se mais difícil absorção de água pelas plantas, porque é aumentada a força de
3 retenção e diminuída a disponibilidade de água no solo e para a planta. A redução no
4 conteúdo de água no solo causa uma variação significativa na distribuição e desenvolvimento
5 radicular (Ludlow e Muchow, 1990).

6 Em países subdesenvolvidos, assim como o Brasil, o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)
7 é cultivado em sua maioria por pequenos e médios produtores, os quais não fazem o uso de
8 irrigação, e por isso, em mais de 60% dos seus cultivos observa-se deficiência hídrica em
9 algum estágio da cultura (Singh, 1995). Segundo Fageria et al. (1991), a fase da planta mais
10 sensível à insuficiência de água é a reprodutiva, sendo altamente suscetível desde o início da
11 floração até o início da formação das vagens. Essa fase também é a mais exigente em
12 fertilidade do solo, já que a planta transloca muito das suas reservas para a formação de
13 sementes e conseqüentemente, perpetuação da espécie. A produtividade é mais afetada
14 quando o estresse hídrico ocorre de 5 a 10 dias antes da antese, podendo haver uma
15 diminuição superior a 50% no rendimento (Norman et al., 1995). Esse efeito é causado
16 principalmente pela baixa taxa de polinização e pelo aborto de óvulos, que causam abscisão
17 dos órgãos reprodutivos, resultante do decréscimo na translocação de fotoassimilados das
18 folhas para as flores (Kramer e Boyer, 1995).

19 Segundo Levitt (1980), é de fundamental importância o entendimento das respostas
20 das plantas ao déficit hídrico e dos mecanismos de adaptação das mesmas à redução da
21 disponibilidade de água no solo, pois de acordo com Kiehl (1979) a quantidade de água
22 armazenada no solo disponível aos vegetais, as leva a apresentar diferentes respostas em seus
23 mecanismos de resistência morfofisiológicos. Dentro desse contexto, faz-se necessário a
24 busca de melhor compreensão das respostas à deficiência hídrica de plantas de feijoeiro, a fim
25 de melhorar as estratégias de manejo dessa cultura quando em condições de estresse.

1 Portanto, a hipótese metodológica desse trabalho é de que haverá uma maior tolerância ao
2 estresse hídrico em plântulas de feijoeiro quando forem adicionadas soluções húmicas às
3 soluções de cultivo, acarretando com isso, melhores condições ao crescimento vegetal.

4

5 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

6 **2.1. Extração e valores de Carbono do ácido húmico de vermicomposto**

7 O procedimento de extração das SH solúveis (ácido húmico e ácido fulvico) encontra-
8 se descrito com detalhes em CANELLAS & SANTOS (2005). Resumidamente, foi utilizado
9 NaOH 0,1 mol L⁻¹ como solvente na razão solvente/vermicomposto de 1:10 (m:v) sob
10 agitação durante pelo menos 6 horas em atmosfera inerte de N₂. Nesse procedimento as SH
11 solúveis foram extraídas progressivamente do vermicomposto. A extração com o solvente foi
12 repetida até a obtenção de um extrato com absorvância igual a zero em 250 e 465 nm. A
13 separação dos ácidos húmicos (AH) foi realizada com o abaixamento do pH da solução até
14 1,5 com HCl 6,0 mol L⁻¹. A redissolução e precipitação foi repetida três vezes. Os AH foram
15 lavados com água até teste negativo com AgNO₃ e então submetidos a diálise contra água
16 destilada em membranas de “cut-off” de 14 kDa durante 150 h e posteriormente liofilizados.

17 Após o processo de extração e purificação, os AH foram submetidos à determinação
18 da composição elementar em um analisador elementar automático (CHN) Perkin Elmer 2400
19 em amostras de 4,0 mg de AH em duplicata.

20

21 **2.2. Atividade biológica dos AH (ensaio de dose)**

22 Sementes de *Phaseolus vulgaris* (Feijoeiro), foram colocadas em papel umidificado
23 para germinar, depois de atingir radícula de aproximadamente 1,0-1,5 centímetros foram
24 transferidas para vasos de plástico com capacidade de 500ml, vinte plântulas cada repetição,
25 no qual foram testadas quanto à sensibilidade na presença ou ausência (controle) do AH

1 extraídos de vermicomposto. Foram utilizadas as seguintes concentrações: 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e
2 8,0 mM de C AH L⁻¹. As plântulas foram mantidas por vinte dias nos tratamentos e
3 posteriormente coletadas para avaliação dos parâmetros morfológicos. Após a análise de
4 regressão foi determinada a melhor dose de estímulo às plântulas, através da integração das
5 curvas de dose resposta. O resultado obtido como melhor dose nesta etapa, foi utilizado na
6 segunda fase. Esta que possuía a parcela do controle; AH; EH e AH+EH.

7

8 **2.3. Avaliações dos aspectos morfológicos de *Phaseolus vulgaris*.**

9 As raízes das plântulas de feijoeiro foram coletadas e analisadas individualmente. A
10 área radicular foi calculada utilizando-se o programa computacional para análise digital de
11 imagens Delta-TScanTM®, a massa seca das raízes e parte aérea foram determinadas em
12 balança analítica de precisão após 72h em estufa a 60°C.

13

14 **2.4. Estresse hídrico induzido**

15 Foi utilizado Manitol (-0,25) MPa para induzir o estresse hídrico (EH), pois essa
16 dosagem causa o efeito esperado, mas ainda mantém a planta viva.

17 **2.5. Atividade de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo**

18 A possível amenização do estresse hídrico proporcionado pelos AH foi avaliada pela
19 análise da atividade de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo: catalase (CAT) e
20 ascobarto peroxidase (APX). As amostras de plantas, para estas análises, foram coletadas e
21 mantidas em nitrogênio líquido até o momento de uso.

22 **2.5.1. Ensaio da atividade da Catalase (CAT)**

23 A CAT foi determinada segundo método descrito por Beutler (1975). O meio de
24 reação (1mL) foi composto por tampão Tris-HCl 1M, contendo EDTA 50 mM, pH 8,0, H₂O₂
25 10mM e água deionizada. O meio de reação foi mantido em banho-maria a 37°C durante 10

1 minutos. A reação foi iniciada pela adição de 50µL do extrato, e imediatamente acompanhada
2 a 240 nm em espectrofotômetro. Uma unidade de enzima (U) foi definida como a quantidade
3 capaz de decompor o peróxido de hidrogênio por minuto. A atividade da CAT foi expressa
4 em unidade de enzima por miligrama de proteína (U mg ptn⁻¹).

5 **2.5.2. Ensaio da atividade do Ascobarto Peroxidase (APX)**

6 A atividade da APX foi determinada de acordo com Jiang e Zhang (2001). Para isso, o
7 meio de reação (1mL) foi preparado com 0,5 mM ácido ascórbico, 1 mM de EDTA, 1 mM de
8 H₂O₂ em 50mM de tampão fosfato de potássio pH 7,0. A reação foi iniciada com a adição de
9 50µL do extrato enzimático e as leituras de decréscimo de absorbância foram realizadas em
10 espectrofotômetro a 290nm ($\epsilon = 2,8\text{mM cm}^{-1}$), por acompanhamento da oxidação do
11 ascorbato. Uma unidade de enzima foi definida como a quantidade capaz de transformar
12 1µmol de substrato em monodehidroascorbato. A atividade da APX foi expressa em U mg
13 ptn⁻¹.

14

15 **2.8. Dosagem de proteínas**

16 A concentração de proteínas totais foi dosada pelo método descrito por Bradford (1976).

17

18 **2.9. Delineamento e análises estatísticas**

19 Para todas as variáveis analisadas foi realizada uma análise de variância, para
20 verificação do efeito dos tratamentos em relação às características avaliadas. Os experimentos
21 foram conduzidos utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para o
22 experimento de obtenção das melhores doses de AH, foi realizada uma análise de regressão e
23 seus dados (significâncias e coeficientes) foram verificados pelo teste F ($p < 0,05$). Todos os
24 dados foram analisados com o uso do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011) e as

1 diferenças entre as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de
2 probabilidade.

3 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

4 **3.1. Atividade biológica dos AH extraídos de vermicomposto (ensaio com diferentes** 5 **concentrações)**

6 Após a obtenção dos valores de carbono igual a 44,6% para os AH e pela análise de
7 composição elementar (CHN), foram realizados os procedimentos para encontrar as doses
8 ótimas dos bioestimulantes (AH). Para isso foram utilizadas somente as regressões
9 quadráticas com os valores encontrados após os “ensaios preliminares de doses”. Tal
10 procedimento foi feito devido aos bioestimulantes vegetais possuírem, muitas vezes, ação
11 muito similar à de alguns fitohormônios (Zandonadi et al., 2010), que possuem como
12 característica o estabelecimento de equações de regressão quadráticas como as mais
13 adequadas por representarem os melhores estímulos sobre o crescimento dos vegetais. Para o
14 AH foram utilizados os valores da densidade de raízes laterais, onde a concentração ótima
15 encontrada foi de 2,05 mM C L⁻¹ (Tabela 1), sendo um valor semelhante ao encontrado por
16 Canellas et al. (2010), Dobbss et al. (2010) e Ramos et al. (2015) para plântulas de
17 Arabidopsis, milho e tomate e arroz respectivamente, que variaram de 2,0 a 4,0 mM C L⁻¹.

18

19 **3.2. Aspectos morfológicos e bioquímicos de plântulas de feijoeiro**

20 Com relação à massa seca das partes aéreas e das raízes, pode-se observar a ocorrência
21 de diferenças significativas entre os tratamentos (Figuras 2 e 3). Conforme pode ser
22 observado na Figura 2, que mostra uma imagem representativa das raízes das plântulas de
23 feijão ao final do período experimental é nítido o estímulo proporcionado ao crescimento após
24 a adição dos AH à solução de cultivo e também o dano causado às plantas após a adição de (-
25 0,25) MPa de Manitol. Pode-se observar nessa Figura que quando se adiciona os AH em

1 conjunto com (-0,25) MPa de Manitol a recuperação do estresse proporcionado também é
2 notório (Figura 2).

3 A massa seca das partes aéreas das plântulas foi significativamente modificada pela
4 adição dos tratamentos à solução de cultivo. As plântulas oriundas do tratamento onde foi
5 utilizado (-0,25) MPa isoladamente (EH) diferem significativamente das plântulas oriundas
6 dos tratamentos com AH. No entanto, é possível observar uma significativa melhoria dos
7 sintomas de estresse quando se fez o uso combinado de (-0,25) MPa de Manitol e AH (Figura
8 3A).

9 Com relação às raízes pode-se observar um destaque nítido para o tratamento com AH
10 de vermicomposto em relação aos demais tratamentos. Quando se faz uma comparação entre
11 os demais tratamentos observa-se que não houveram diferenças significativas (Figura 3B)

12 A partir das análises apresentadas nas figuras das áreas foliares (Figura 3A) e
13 radiculares (Figura 4B), foi revelado o efeito significativo entre as plântulas avaliadas nos
14 tratamentos: CONT, AH, EH e SN_AH_EH. Sendo evidente a promoção do melhor
15 crescimento nos tratamentos com AH. Em ambas as análises observam-se que quando as
16 plantas são submetidas ao tratamento com AH em combinação com o estresse hídrico, há uma
17 nítida recuperação das plântulas de feijoeiro, com valores de áreas foliares e radiculares ainda
18 maiores que o tratamento controle (Figuras 3A e 3B).

19 A restrição hídrica gerou uma diferença significativa similar para ambas as enzimas
20 antioxidantes avaliadas. Conforme observado tanto para a partes aéreas (Figuras 4A e 5A)
21 quanto para raízes (Figuras 5A e 5B), a atividade enzimática da CAT e APX apresentaram
22 uma tendência semelhante quando em situação de estresse hídrico, mostrando que tais
23 tratamentos promoveram um aumento do estresse oxidativo de plântulas de feijoeiro. Da
24 mesma forma, as atividades das enzimas avaliadas (Figuras 4 e 5), coincidiram nos

1 tratamentos em que foram combinadas á indução do estresse (EH) com os AH, havendo uma
2 significativa diminuição do estresse oxidativo, aliviando os danos causados às plantas.

3 A massa seca foliar decresceu quando em situação de estresse hídrico, conforme os
4 dados apresentados na Figura 3A. Essa redução se deve ao fato, de que plantas induzidas ao
5 déficit hídrico aumentam a senescência das folhas devido à seca (Wright et al., 1983). Dados
6 semelhantes foram obtidos também para a massa seca radicular (Figura 3B). A perda de
7 folhas e paralelamente a diminuição da área foliar pode ser considerada como uma primeira
8 reação das plantas em relação ao déficit hídrico (Taiz e Zeiger, 1991). Ambos os resultados
9 obtidos (Figuras 2A e 3A) podem ser relacionados à pesquisa realizada por Jamieson et al.
10 (1995) com a cultura da cevada, onde foi verificado que o índice de área foliar está
11 diretamente relacionado à transpiração vegetal. Plantas induzidas ao estresse hídrico tendem a
12 desenvolver adaptações para minimizar as perdas de água por transpiração, tal como a
13 eliminação das folhas (Fageria, 1989). De acordo com McCree e Fernández (1989) e Taiz e
14 Zeiger (1991), plantas em situação de estresse, tendem a fechar seus estômatos e acelerar a
15 senescência e abscisão das folhas.

16 Segundo Hadas (1976), sob condições de déficit de água, as raízes crescem mais
17 devagar nas camadas superficiais do solo. No presente trabalho toda condução experimental
18 foi realizada em sistema hidropônico, com as soluções devidamente aeradas, justamente para
19 evitar uma possível maximização do estresse hídrico induzido. Mesmo assim, após os dias de
20 tratamento, conforme pode ser observado na Figura 2B, foi notória a diminuição da massa de
21 raízes com a indução do estresse por (-0,25) MPa de Manitol em comparação aos resultados
22 obtidos em plântulas tratadas com AH ou não (CONT).

23 Com relação à redução dos danos causados pela indução ao estresse hídrico, os AH
24 proporcionaram resultados significativos (Figuras 3 e 4). Na natureza os AH promovem à
25 melhoria da estrutura e da população microbiana do solo e incrementam o aumento da

1 solubilidade de nutrientes. Os AH, além de desenvolverem mecanismos com a capacidade de
2 regular e estimular o crescimento vegetal, semelhantes aos hormônios vegetais, segundo
3 Duenhas et al. (2004) essa fração húmica, também serve como reservatório de
4 micronutrientes, que são disponibilizados posteriormente para as plantas. Além disso,
5 segundo Sposito (1989), os AH apresentam propriedade hidrofílica, ou seja, apresentam
6 afinidade às moléculas de água, contribuindo para a manutenção do regime hídrico.

7 O efeito de materiais húmicos sobre o mecanismo de defesa antioxidante vegetal já foi
8 relatado anteriormente (Santos, 2014 e Cordeiro et al. 2011). Nos resultados apresentados
9 nesse trabalho observou-se uma drástica redução da atividade da CAT e APX nas raízes e
10 partes aéreas das plântulas submetidas ao estresse hídrico e uma “recuperação do estresse”,
11 quando em tratamentos contendo SH em combinação com (-0,25) MPa de Manitol
12 (SN_AH_EH) (Figuras 5 e 6). Cordeiro et al. (2011) observaram mudanças significativas na
13 atividade da Catalase e nas produções de espécie reativas de O₂ (ERO) após o tratamento de
14 plantas de milho com ácidos húmicos. Os mesmos autores afirmaram que as SH atuam como
15 aliviadoras do estresse oxidativo em plantas. Tal resultado, se deve ao efeito bioestimulante
16 das SH, que classicamente causam mudanças no metabolismo energético vegetal, gerando um
17 “estresse benéfico” que resultará num maior crescimento e desenvolvimento das plantas
18 (Santos, 2014).

19 A atividade da ascorbato peroxidase (APX) (Figura 5) apresentou comportamento
20 bastante semelhante ao da Catalase (CAT) (Figura 4) em plantas de *Phaseolus vulgaris*,
21 operando na decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio (O₂) (Perl-
22 Treves e Perl, 2002; Asada, 1999). O H₂O₂ é uma espécie reativa de oxigênio (ERO)
23 produzido pelo metabolismo aeróbico em situações de estresse biótico ou abiótico. Uma vez
24 que as EROS são tóxicas e participam de eventos de sinalização, as células vegetais requerem
25 mecanismos aptos a controlar a concentração intracelulares dessas moléculas (Mittler, 2002).

1 Assim como nesse trabalho, Rosa (2008) constatou que a redução da EROS “alivia” os efeitos
2 do estresse.

3 **4. CONCLUSÃO**

4 De acordo com as evidências experimentais obtidas no presente trabalho foi possível
5 confirmar a hipótese formulada, que os AH isolados de vermicomposto, apresentaram
6 capacidade de estimular o crescimento de plântulas de *Phaseolus vulgaris*, assim como
7 também ajudaram na recuperação de estresse hídrico. Sendo assim, pode-se sugerir a
8 produtores o uso de AH na agricultura como uma alternativa de fertilizante orgânico para o
9 incremento do crescimento de plantas, bem como para a recuperação de sintomas associados a
10 estresses abióticos. Porém, ainda são necessários mais estudos que apresentem alternativas
11 mais simples para a extração desses referidos materiais orgânicos, a fim de serem utilizados
12 em pequenas e grandes propriedades agrícolas.

13

14 **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

15 ALTIERI, M.A. (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture,
16 Ecosystems and Environment. Department of Environmental Science, Policy and
17 Management, University of California, 201 Wellman, Berkeley, CA 94720, USA. doi:
18 10.1016/S0167-8809(99)00028-6

19 ASLI, S.; et al (2010) Rhizosphere humic acid interacts with root cell walls to reduce
20 hydraulic conductivity and plant development. Plant Soil. Department of Environmental,
21 Water and Agricultural, Engineering, Technion Israel Institute of Technology, Haifa 32000,
22 Israel. doi: 10.1007/s11104-010-0483-2

23 ASADA, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and
24 dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular
25 Biology 50: 601-639.

1 BALDOTTO, M.A.; et al (2011) Root growth of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. treated
2 with humic acids isolated from typical soils of Rio de Janeiro state, Brazil. *Revista Ceres*, 58:
3 504-511. doi: 10.1590/S0034-737X2011000400015.

4 BALDOTTO, L.E.B.; et al. Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação de
5 ácidos húmicos durante a aclimatação. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33:979-990,
6 2009. doi: 10.1590/S0100-06832009000400022

7 BERGAMASCHI H. (1992) Desenvolvimento de déficit hídrico em culturas. In:
8 BERGAMASCHI, H. *Agrometeorologia aplicada à irrigação*. Porto Alegre: UFRGS, Ed.
9 Universidade, p. 25-32. ISBN: 85-7025-221-8.

10 BEUTLER, E. (1975) Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. In: Grune e
11 Stratton (eds.), London. ISBN: 0808908618

12 BRADFORD, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of
13 micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical*
14 *Biochemistry* 72: 248-254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

15 CANELLAS, L.P.; et al. Humic acids isolated from earthworm induces root mitotic sites and
16 plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiol.*, 30:1951-1957, 2002 doi: 10.1104 / pp.007088

17 CANELLAS, L. P.; SANTOS, G.A. *Humosfera: tratado preliminar sobre a química das*
18 *substâncias húmicas*. Campos dos Goytacazes, 2005. 309 p.

19 CANELLAS, L.P. et al. Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions
20 separated from a vermicompost humic acids. *Chemosphere*, v. 78 p 457-466, 2010. doi:
21 10.1016/j.chemosphere.2009.10.018

22 CORDEIRO, F.C. et al. (2011) Humic acid effect on catalase activity and the generation of
23 reactive oxygen species in corn (*Zea Mays* L). *Biosci. Biotechnol. Biochemical Journal*, 75
24 (1): 70-74. doi: 10.1271 / bbb.100553

1 DOBBSS, L.B.; Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on
2 plant root growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:3681-3688. 2010 doi:
3 10.1021/jf904385c

4 DUENHAS, L.H.; et al. (2004) Teores de macronutrientes em plantas de melão cultivado em
5 sistema orgânico fertirrigado com substâncias húmicas. *Horticultura Brasileira*, v. 22, n.2 -
6 Suplemente CD ROM, Petrolina - PE.

7 FAGERIA N.K. (1989) Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas. 1a ed. Brasília:
8 Departamento de Publicações EMBRAP-CNPAF, p.381-392.

9 FAGERIA, N.K.; et al. (1991) Common bean and cowpea. Growth and mineral nutrition of
10 field crops. New York: M. Dekker, p. 280-318. ISBN: 0 8247 0089 9

11 FERREIRA, D.F. SISVAR: Sistema de análise estatística de computador. *Ciência e*
12 *Agrotecnologia*, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, nov./dez. 2011.

13 HADAS, A. (1976) Water uptake & germination of leguminous seeds under changing
14 external water potential in osmotic solutions. *Journal of Experimental Botany*. 27: 480-489.
15 doi: 10.1093/jxb/27.3.480

16 HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. (1950) The water culture method of growing plants
17 without soil. Berkeley: University of California.

18 JAMIESON, P.D.; et al. (1995) Effects of water deficits on evapotranspiration from barley.
19 *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 76, p.41- 58. doi: 10.1016/0168-1923(94)02214-5

20 JIANG, M.; ZHANG, J. (2001) Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative
21 defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology*, 42:
22 1265-1273. doi: 10.1016/0168-1923(94)02214-5

23 KIEHL, E.J. (1979) *Manual de edafologia*. São Paulo: Ceres, p. 191-215.

24 KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. (1995) *Water relations of plants and soils*. San Diego:
25 Academic. 495p. ISBN de capa dura: 9780124250604

1 LECOEUR, J.; SINCLAIR, R.T. (1996) Field pea transpiration and leaf growth in response to
2 soil water deficits. *Crop Science*, 36: 331-335. doi:10.2135

3 LEVITT, J. Responses of Plants to environmental stresses. v. 1, Acad. Press, 1980. ISBN:
4 0124455018.

5 LUDLOW, M.M.; MUCHOW, R.C. (1990) A critical evaluation of traits for improving crop
6 yields in water-limited environments. *Advance in Agronomy*, 43: 107-153. doi:
7 10.1016/S0065-2113(08)60477-0

8 McCREE, K.J.; FERNÁNDEZ, C.J. (1989) Simulation model for studying physiological water
9 stress responses of whole plants. *Crop Science*, Madison, v.29, p.353-360. doi:10.2135

10 MITTLER, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*
11 7: 405-410. doi: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9

12 NARDI, S.; et al. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology &*
13 *Biochemistry*. 34: 1527-1536.2002. doi: 10.1016/S0038-0717(02)00174-8

14 NORMAN, M.J.T.; et al. (1995) The ecology of tropical food crops. 2. ed. Cambridge, Grã-
15 Bretanha: Universty Press. 430p. ISBN: 0 521 41062 2

16 PERL-TREVES, R.; PERL, A. (2002) Oxidative stress: An introduction. In: Inzé D, Van
17 Montagu M (eds), *Oxidative Stress in Plants*, p.1-32. Taylor e Francis, London.

18 PINTON, R.; et al. (1999) Water extractable humic substances enhance iron deficiency
19 response by Fe deficient cucumber plants. *Plant Soil*, 210: 145-157, 1999. doi:
20 10.1023/A:100432951

21 RAMOS, A.C.; et al Humic matter elicits proton and calcium fluxes and signaling dependent
22 on Ca²⁺ dependent protein kinase (CDPK) at early stages of lateral plant root development.
23 *Chemical and Biological Technologies in Agriculture 2015*. doi: 10.1186/s40538-014-0030-0

- 1 ROSA, S.B. (2008) Caracterização funcional das isoformas citosólicas e peroxissomais de
2 ascorbato peroxidase em arroz (*Oryza sativa* L.) Tese (Mestrado em Ciências). Programa de
3 Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da UFRGS. Porto Alegre - RS.
- 4 SANTOS, T.C. (2014) Amenização da toxidez por ferro em plântulas de aroeira (*Schinus*
5 *terebinthifolius* Raddi) tratadas com substâncias húmicas. Tese (Mestrado em Ecologia).
6 Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas. Universidade Vila Velha - ES.
- 7 SCHULTEN, H.R.; SCHNITZER, M. (1997) Chemical model structure for soil organic
8 matter and soils. *Soil Science*, 162: 115-130. doi: 10.1097 / 00010694-199702000-0000005
- 9 SINGH, S. P. (1995) Selection for water-stress tolerance in interracial populations of common
10 bean. *Crop Science Society of America*, 35: 118-124. doi:10.2135
- 11 SPOSITO, G. (1989) *The chemistry of soils*. Oxford, Oxford University Press, p 277. ISBN:
12 0- 19- 504615- 3
- 13 TAIZ, L.; ZEIGER (1991) *Plant Physiology*. California: The Benjamin/ Cummings
14 Publishing Company, Inc., Redwood City. ISBN: 080530245X
- 15 WRIGHT, G.C.; et al. (1983) Differences between two grain sorghum genotypes in
16 adaptation to drought stress. III. Physiological responses. *Australian Journal of Agricultural*
17 *Research*, Cambridge, v. 34, p. 637-651. doi: 10.1071/AR9830637.
- 18 ZANDONADI, D.B.; et al. (2010) Nitric oxide mediates humic acids-induced root
19 development and plasma membrane H⁺- ATPase activation. *Planta*, 231:1025-1036. doi:
20 10.1007 / s00425-010-1106-0.

21

22 TABELAS E FIGURAS

23 **Tabela 1.** Modelo de concentração-resposta, coeficiente de correlação (R^2), desvio-padrão da
24 regressão (DP), número de unidades que integram a amostra (n), nível de significância da
25 regressão (valor-p) e ponto de inflexão [concentração ótima - (dx/dy): $b_1 + 2(b_2)x = 0$] para a

1 densidade de raízes laterais de plântulas de feijão após tratamento com AH de
 2 vermicomposto.

3

Equação ($y = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	R ²	DP	N	valor-p	Concentração ótima de AH
$y = -2,94x^2 + 12,03x + 2,68$	0,87	2,01	25	<0,0001	2,05 mM C L ⁻¹

4

5

6

7

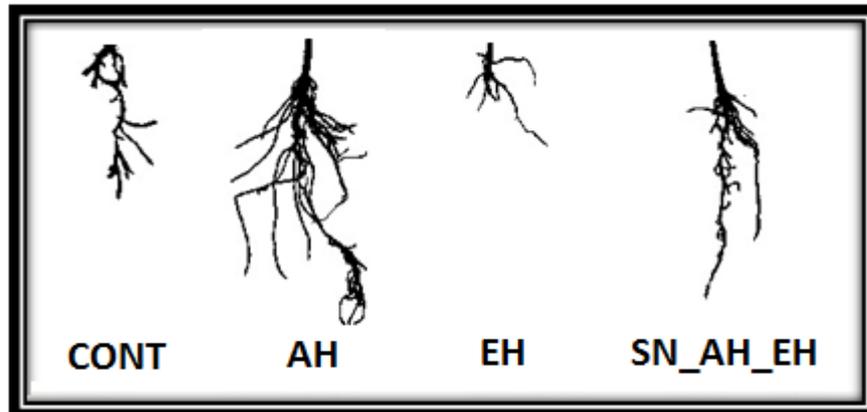
8

9

10

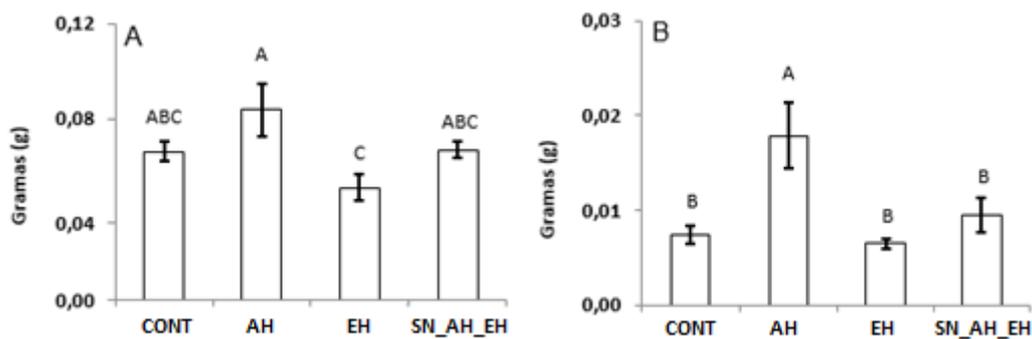
11

12



13

14 **Figura 1.** Imagem representativa das raízes das plântulas de feijão (convertidas a preto e
 15 branco 1 bit) crescidas nos diferentes tratamentos ao final do experimento.



16

17

18 **Figura 2.** Efeito dos diferentes tratamentos, sobre a massa seca da parte aérea e radicular de
 19 plântulas de *Phaseolus vulgaris*. Em **A**: comparativo da massa seca em gramas (g) da parte
 20 aérea; **B**: comparativo da massa seca em gramas (g) da raiz. Letras maiúsculas correspondem
 21 às diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Os valores são
 22 representados pelas médias \pm erro padrão.

23

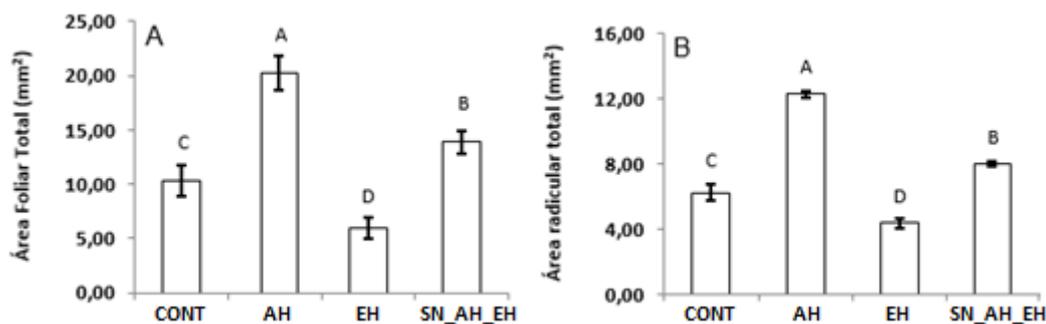


Figura 3. Efeito dos diferentes tratamentos, sobre a área foliar e radicular de plântulas de *Phaseolus vulgaris*. Em **A**: comparativo da área foliar total em milímetros quadrados (mm²); **B**: comparativo da área radicular total em milímetros quadrados (mm²). Letras maiúsculas correspondem às diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Os valores são representados pelas médias \pm erro padrão.

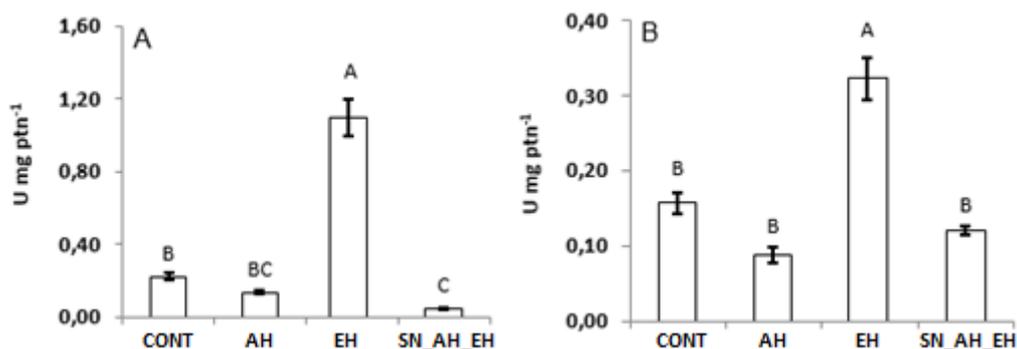


Figura 4. Efeito dos diferentes tratamentos, sobre a atividade da enzima antioxidante Catalase (CAT) em plântulas de *Phaseolus vulgaris*. Em **A**: comparativo da atividade da CAT na parte aérea em unidade de enzima por miligrama de proteína (U mg ptn⁻¹); **B**: comparativo da atividade da CAT na raiz em unidade de enzima por miligrama de proteína (U mg ptn⁻¹). Letras maiúsculas correspondem às diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Os valores são representados pelas médias \pm erro padrão.

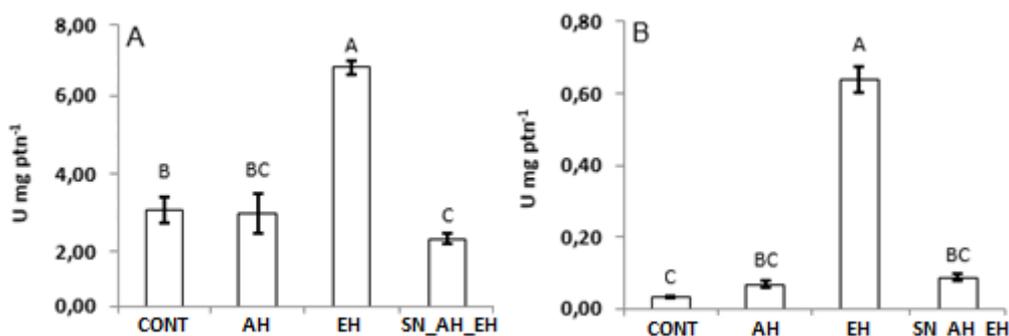


Figura 5. Efeito dos diferentes tratamentos, sobre a atividade da enzima antioxidante Ascorbato Peroxidase (APX) em plântulas de *Phaseolus vulgaris*. Em **A:** comparativo da atividade da APX na parte aérea em unidade de enzima por miligrama de proteína (U mg ptn⁻¹); **B:** comparativo da atividade da APX na raiz em unidade de enzima por miligrama de proteína (U mg ptn⁻¹). Letras maiúsculas correspondem às diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey (p < 0,05). Os valores são representados pelas médias ± erro padrão.

ANEXO

- Este artigo seguiu as normas para publicação, da Revista **Ciência Rural** da Universidade Federal de Santa Maria, que publica na área de Ciências Agrárias. Normas da revista disponível em: <http://coral.ufsm.br/ccrrevista/normas.htm>
- Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e

- 1 individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e nem
2 estar com apresentação paisagem.
- 3 • O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês);
4 Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura;
5 Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências;
 - 6 • Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e
7 português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo
8 deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes
9 científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando necessário.
 - 10 • As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do
11 ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os
12 reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má
13 formação congênita (MOULTON, 1978).
 - 14 • As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme
15 normas próprias da revista