



BIOATIVIDADE DE ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS OBTIDOS A PARTIR DE CARVÃO QUIMICAMENTE FUNCIONALIZADO

Aguiar, Natália de Oliveira¹; Novotny, Etevlino Henrique²; Canellas, Luciano Pasqualoto¹
*nattyaguiar@gmail.com

Palavras Chaves: estrutura-atividade, plantas biomarcadoras, carvão funcionalizado

Resumo

A matéria orgânica do solo de *Terras Pretas de Índios* servem de modelo para a síntese de condicionadores de solo que sequestram carbono numa forma recalcitrante e útil. Materiais carbonizados, como o carvão vegetal, apresentam grupos aromáticos condensados, que garantem sua recalcitrância no solo (estimativas da sua meia-vida variam de séculos a milênios), sendo assim um eficiente material para o seqüestro de carbono. Entretanto, diferentemente da MOS encontrada nas *Terras Pretas de Índios* esses materiais não apresentam os grupos funcionais carboxílicos que são importantes para sua reatividade e contribuição para a capacidade do solo em reter nutrientes.

Visando obter materiais que mimetizam essa matéria orgânica, efetuou-se a funcionalização química de carvões e procedeu-se a análise da bioatividade das suas frações: hidrofílica (HI – aquela excluída pela resina XAD-7); ácidos fúlvicos (AF) e; húmicos (AH). A bioatividade foi testada com plântulas de tomate (emergência de raízes laterais) e mutantes de tomateiro variedade Micro-Tom DR5::GUS. O método proposto visando à funcionalização química do carvão mostrou-se eficiente na inserção de grupos ácidos à estrutura aromática dos carvões. O efeito da funcionalização foi demonstrado na atividade dos AF e AH sobre a indução de raízes laterais em plântulas de tomate. Acredita-se que a bioatividade dos AF e AH também esteja ligada a compostos bioativos, como auxinas.

Introdução

As *Terras Pretas de Índios* (TPI) encontradas na Amazônia são extremamente férteis, sendo sua sustentabilidade e estabilidade atribuída aos seus elevados teores de matéria orgânica e às propriedades físico-químicas desta. As cores escuras dos horizontes superficiais das TPI ocorrem em razão da elevada concentração de carbono total e carbono pirogênico (Glaser et al., 2001). O carbono pirogênico (black carbon) é derivado da carbonização (pirólise) parcial, principalmente de materiais ligno-celulósicos, e é composto de unidades poliaromáticas condensadas, deficientes em hidrogênio e com diferentes tamanhos e níveis organizacionais (Kramer et al., 2004). O carvão vegetal apresenta os grupos aromáticos condensados, que garantem a sua recalcitrância no solo, sendo um eficiente material para seqüestro de carbono (estimativas da sua meia vida variam de séculos a milênios), entretanto não apresenta os grupos carboxílicos, importantes para sua

¹ Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura (NUDIBA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes - RJ

² Embrapa Solos, Rio de Janeiro - RJ



reatividade. Sua aplicação ao solo e conseqüentes alterações químicas e biológicas acabam gerando esses grupos ácidos, porém esse processo pode demorar décadas. Entretanto, é possível sintetizar em laboratório materiais orgânicos similares àqueles próprios das TPI, a saber, estruturas aromáticas policondensadas e carboxiladas, procedendo-se a funcionalização química de carvões vegetais. Sabe-se que as substâncias húmicas (SH) têm reconhecida capacidade de estimular o crescimento vegetal. A presença de moléculas ou unidades bioativas semelhantes às auxinas ligadas ou agregadas às SH foi relacionada com a indução de sítios de mitose nas raízes e ativação das H⁺-ATPases (Canellas et al., 2002). Tendo isso em vista, avaliou-se a bioatividade das frações hidrossolúveis (ácidos húmicos – AH; ácidos fúlvicos – AF e; fração hidrofílica - HI) do produto da funcionalização química de carvão ativado.

Material e Métodos

Amostras de carvão ativado P.A. (Vetec) foram parcialmente oxidadas quimicamente com hipoclorito de sódio a duas concentrações (10 e 20 cMol L⁻¹, indicadas com os subscritos 10 e 20, respectivamente) em meio alcalino (pH ~ 13) por 3 h a 60 °C ± 2 °C. Ao final do processo, os filtrados obtidos das misturas reacionais foram acidificados até pH ~ 1 e os AH recuperados por centrifugação e dialisados. Os AF que permaneceram em solução foram purificados com as resinas XAD-7 e Ambertile IR-120 (Swift, 1996). Coletou-se a fração HI que não fora retida pela resina XAD-7. Todas as frações obtidas foram liofilizadas.

Sementes de tomate (*Solanum lycopersicom* L.) foram esterilizadas e colocadas para germinar em caixas tipo Gerbox acondicionadas em câmara BOD com as seguintes condições: 25°C, e 16 h de fotoperíodo. Após a germinação (5 dias), as plântulas foram tratadas com diferentes concentrações de AH, AF e HI (12,5; 25; 50; 100; 200 e 400 mg L⁻¹) a fim de se obter as curvas de dose-resposta para emergência de raízes laterais. Sementes de plantas transgênicas de tomate com a mutação diageotrópica (Micro-Tom), que reduz a sensibilidade à auxina, e com o transgene DR5::GUS, que sinaliza a atividade auxínica em tecidos, foram esterilizadas e colocadas para germinar em caixas tipo Gerbox numa BOD (27° C). Quatro dias após a germinação, foram tratadas com as frações HI₂₀, AF₁₀, AF₂₀, AH₁₀ e AH₂₀. As análises histoquímicas foram realizadas de acordo com o procedimento descrito anteriormente por Jeferson et al. (1986).

Resultados e Discussão

A funcionalização das frações AH e AF foi confirmada por espectroscopia de ¹³C-RMN e FTIR (dados não mostrados), sendo que a fração HI apresentou grande quantidade de cloretos de arila (Figura 1). O sistema radicular das plântulas tratadas com HI, AF e AH foi significativamente alterado, sendo o número de raízes laterais emergidas de duas a quatro vezes maiores nas plantas tratadas, quando comparadas ao controle. A fração que menos apresentou atividade foi o AF₂₀, justamente aquela com a maior concentração de grupos aril-carboxil. O modelo quadrático ajustou todas as curvas de respostas, exceto para o HI₂₀, que foi ajustado com um modelo linear. Para verificar se esse estímulo ao enraizamento é auxínico, utilizou-se o tomateiro Micro Tom com gene repórter DR5::GUS (Figura 2). Foi possível visualizar a rota de sinalização utilizada por auxinas estimuladas por AF e AH isolados de carvão, enquanto que a fração HI não apresentou resposta



auxínica.

Esse resultado não deixa de ser surpreendente tendo-se em vista a origem das amostras: carvão ativado e tratado com NaOCl, donde não se espera a presença de auxinas, ou compostos similares, preservados na estrutura dos materiais testados, embora a estrutura química dos produtos gerados guardem uma grosseira semelhança ao ácido indol-acético (grupos arila carboxilados, embora falte o grupo pirrol). Novos estudos se fazem necessários, porém uma outra hipótese é que os compostos testados, com exceção da fração HI, induzem a produção de auxina endógena.

Conclusões

As frações hidrofílicas (HI, AF e AH), obtidas a partir de carvão ativado quimicamente funcionalizado com grupos carboxílicos, apresentaram efeito indutor do enraizamento de plântulas de tomate. O ensaio com o mutante de tomateiro DR5:GUS mostrou que a bioatividade dos AF e AH pode estar diretamente relacionada com a ação da auxina. Como não se espera a persistência desse fito-hormônio natural nos materiais testados, essa auxina provavelmente seja endógena ou a resposta tenha sido induzida pela semelhança estrutural do produto gerado com o ácido indol-acético.

Agradecimentos

À fonte financiadora, CNPq.

Referências

¹AMIN N. K., Removal of reactive dye from aqueous solutions by adsorption onto activated carbons prepared from sugarcane bagasse pith, **Desalination**, nº.223, p. 152–16, 2008.

²SUNG W. W., HAN M. H., YUN Y.; Different binding mechanisms in biosorption of reactive dyes according to their reactivity; **Water Research** v.42 p. 4847-4855, 2008.

³JEFFERSON, R. A., KAVANAGH T. A.' AND BEVAN, M. W. GUS fusions: B-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. **The EMBO Journal** vol.6 no. 13 pp.3901 -3907, 1987.

⁴CANELLAS, L.P., FAÇANHA, A.O., OLIVARES, F.L., FAÇANHA, A.R., Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiol.** 130, 1951– 658 1957. 2002.

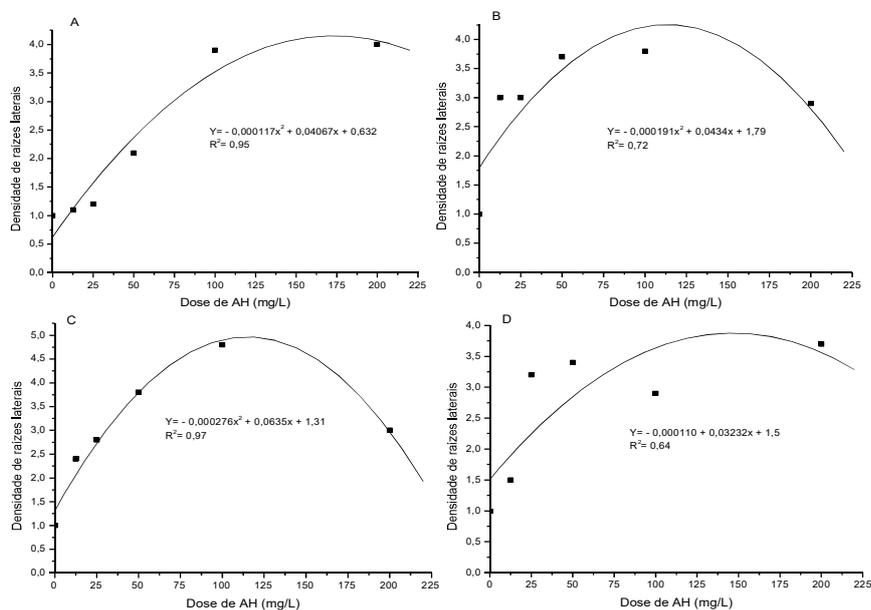


Figura 1. Curvas de dose-resposta e equação de regressão para a emergência de raízes laterais em plântulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) após o tratamento com diferentes concentrações de: (A) HI₂₀, (B) AF₁₀, (C) AF₂₀, (D) AH₁₀.

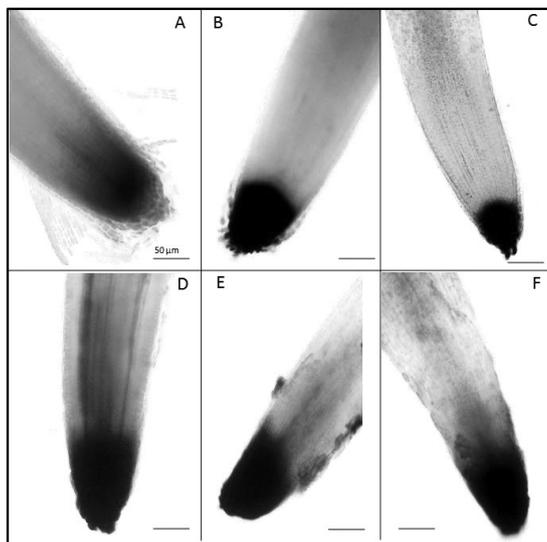


Figura 2. Microfotografias das raízes de tomateiro transgênico Micro Tom DR5::GUS mostrando a atividade GUS. Tratamentos: (A) AIA 10^{-6} Mol L⁻¹, (B) Controle, (C) HI₂₀, (D) AF₁₀, (E) AH₁₀ e (F) AH₂₀ na concentração de 100 mg de AH e 200 mg L⁻¹ de AF e HI em CaCl₂ 2 mMol L⁻¹. A barra de escala corresponde a 50 µm.