

AValiação fisiológica da grama esmeralda em diferentes estações climáticas, tratada com composto de lodo de esgoto e bioestimulantes.

PHYSIOLOGICAL ASSESSMENT OF EMERALD GRASS IN DIFFERENT CLIMATIC SEASONS, TREATED WITH SEWAGE SLUDGE COMPOST AND BIOSTIMULANTS

Giovanna Luiza de Lima (1) Adrielle Rodrigues Prates(1); Leandro José Grava de Godoy (3); Roberto Lyra Villas Bôas (4); Fernando Broetto (5); Tatiane Cristovam Ferreira (6)

(1) Graduanda do Curso de Agronomia UNESP/FCA, Botucatu, SP, gl.lima@unesp.br (2) Doutora, UNESP/FCA, Botucatu, SP, adrielle.prates@unesp.br; (3) Professor UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira, Registro, SP, leandro.godoy@unesp.br; (4) Professor, UNESP/FCA, Botucatu, SP, roberto.lyra@unesp.br; (5) Professor, da UNESP/FCA, Botucatu, SP, fernando.broetto@unesp.br; (6) Doutora, –UNESP/FCA, Botucatu, SP, tatiane.cristovam@unesp.br

RESUMO

O ciclo produtivo da grama é longo e enfrenta desafios em climas tropicais marcados por períodos de seca. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a fisiologia da grama Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud) em diferentes estações climáticas, utilizando composto de lodo de esgoto (CLE) e bioestimulantes. Em que a nutrição mineral e bioestimulantes, podem mitigar os efeitos do estresse hídrico. Com um delineamento em blocos casualizados, 5x3+1, 4 repetições, foram avaliadas cinco doses de CLE e bioestimulantes, como *Azospirillum brasilense* e extrato de algas. Resultados mostraram com a aplicação de bioestimulantes houve redução no acúmulo de prolina e na dose de 7,5 t ha⁻¹ de CLE a atividade da catalase diminuiu.

Palavras-chave: déficit hídrico, catalase, prolina.

ABSTRACT

The productive cycle of grass is long and faces challenges in tropical climates marked by dry periods. The study evaluates the physiology of Emerald grass (*Zoysia japonica* Steud) in different climatic seasons, utilizing sewage sludge compost (CLE) and biostimulants. The research investigates how mineral nutrition and biostimulants can mitigate the effects of water stress. With a randomized block design (16 treatments, 4 replications), five doses of CLE and biostimulants, such as *Azospirillum brasilense* and seaweed extract, were evaluated. Results showed that with the application of biostimulants, there was a reduction in proline accumulation, and at a dose of 7.5 t ha⁻¹ of CLE, catalase activity decreased.

Key-words: water deficit, catalase, proline.

INTRODUÇÃO

A urbanização levou à expansão do saneamento básico e ao aumento da produção de lodo de esgoto. Uma alternativa viável é o usá-lo na agricultura como adubo orgânico, rico em nutrientes, como nitrogênio (N), fósforo (F), cálcio (Ca) e micronutrientes, que promovem o desenvolvimento das culturas. No Brasil, a produção de grama começou nos anos 1970, com a Itograss® no Estado de São Paulo, vem destacando-se a grama Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud), que representa 81% do total produzido (ZANON, 2015), é valorizada pela estética, versatilidade e resistência.

O nitrogênio é o principal nutriente para gramas, melhora o vigor, a coloração e o crescimento das raízes, mas doses excessivas podem prejudicar o desenvolvimento dos rizomas (CHRISTIANS, 1998). O composto de lodo de esgoto (CLE) é uma alternativa para fornecer nitrogênio e melhorar a qualidade do solo, aumentando a matéria orgânica.

Os bioestimulantes, classificados como biofertilizantes no Brasil (Decreto nº 4.954/2004), também podem ajudar no crescimento e na resistência das plantas (FETTER, 2018), mas ainda há pouca pesquisa sobre sua interação com a fertilização de gramas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a fisiologia da grama Esmeralda (*Zoysia japonica* Steud) em diferentes estações climáticas, utilizando composto de lodo de esgoto (CLE) e bioestimulantes.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no campo, na empresa Qually Grama®, no município de Tatuí, SP. De acordo com a classificação de Köppen (1948), o local é mesotérmico úmido

subtropical de inverno (Cwa), com temperatura situadas entre 18 e 20 °C, uma amplitude térmica de aproximadamente 7 °C e uma precipitação média anual de 1.100 mm (MONTEIRO, 1973).

O delineamento experimental foi realizado em blocos casualizados, com fatorial 5 x 3 + 1, quatro repetições, sendo: cinco doses de CLE (0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 t ha⁻¹ CLE base úmida), com ausência (Sem) e presença de bioestimulantes, bactéria promotora de crescimento *Azospirillum brasilense* (Bac) e extrato a base algas marinhas *Ascophyllum nodosum* (Ext), e um tratamento adicional caracterizado como controle absoluto (controle). As doses de CLE seguiram os padrões estabelecidos pelo mercado. Com exceção do tratamento controle, os tratamentos receberam complementação de N, P e K por meio de fertilizante mineral, ajustada com base na diferença entre a dose total necessária e a concentração de N, P e K nas doses de CLE.

Para avaliar a influência dos bioestimulantes associados às doses de composto de lodo de esgoto na tolerância da grama ao estresse hídrico, foram realizadas análises bioquímicas em dois períodos: 19/01/2022, com maior incidência de chuvas e 31/03/2022, com menor precipitação e consequentemente, déficit hídrico. É esperado que, no período de menor ocorrência de chuva, que a atividade das enzimas indicadoras de estresse hídrico sejam mais alta, mas que, com aplicação dos bioestimulantes, esses valores tenham diminuído. Para as análises, foram coletadas amostras de folhas de grama nos períodos determinados para cada tratamento, elas foram mantidas congeladas em ultra freezer, processadas para análise enzimática e de teor de prolina, e os seguintes parâmetros foram determinados.

O extrato para as análises da concentração de proteínas e atividade enzimática (Catalase - CAT) foi obtido pela ressuspensão do material vegetal (300 mg) em 5,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8 suplementado e 200 mg PVPP. Após centrifugação por 10 minutos a 6.500 x g, o sobrenadante foi coletado, transferido para frascos eppendorf e armazenado em ultra freezer.

Proteína solúvel total: determinada conforme a metodologia de Bradford (1976). Utilizaram-se 60 µL do extrato bruto, 20 µL de água deionizada e 5 mL do reagente de Bradford. A solução foi mantida por 15 minutos para a formação do complexo colorido. As leituras de D.O. foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu, UVmini-1240) a 595 nm.

Enzima Catalase: Foram adicionados 50 µL do extrato bruto a 950 µL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final

de 12,5 mM. A atividade da catalase foi determinada por espectrofotometria, a 240 nm, medindo-se a variação de absorção (ΔE) em 1 minuto, utilizando-se o coeficiente de extinção molar $\epsilon=34,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Prolina: determinada pela adição de 2 mL de extrato bruto, extraído de 400 mg de material vegetal, a 10 mL de solução de ácido sulfosalicílico (3%), 2 mL de ácido acético glacial p. a. e 2 mL de ninhidrina ácida. Após banho-maria por 1 hora, a reação foi finalizada em banho de gelo, e a mistura foi extraída com 4 mL de tolueno. A fase superior foi separada para leitura da densidade ótica a 520 nm, com tolueno p. a. como branco. A quantificação do teor de prolina foi realizada comparando-se com uma curva padrão.

Para efeito da aplicação do bioestimulante foi realizado o teste de Tukey ($P < 0,05$), entretanto, nos casos que somente obteve efeito de doses os resultados foram submetidos ao teste de Tukey ($P < 0,05$) e regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação entre os dois ciclos, sob estresse hídrico, houve aumento da atividade da enzima catalase em função das doses e bioestimulantes, exceto nos tratamentos com 5,0 t ha⁻¹ de CLE sem bioestimulantes e com *A. brasiliense*. Esse aumento é comum em várias culturas sob deficiência hídrica, como milho (*Zea mays* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.) (TALAAT et al., 2015; KUMAR et al., 2015).

No ciclo com déficit hídrico, a aplicação de bioestimulantes reduziu a atividade da enzima catalase. *A. brasiliense* reduziu a atividade em 41% na dose de 0 t ha⁻¹ de CLE, enquanto o extrato de algas reduziu em 15%. Na dose de 7,5 t ha⁻¹ de CLE, a atividade enzimática caiu 64% com *Azospirillum* e 49% com extrato de algas. Mendes (2019) também observou a redução da atividade da catalase com bioestimulantes em soja [*Glycine max* (L.) Merrill] sob déficit hídrico. Já na dose de 5 t ha⁻¹ de CLE, a aplicação de bioestimulantes aumentou a atividade da enzima catalase, com um crescimento de 12% com *A. brasiliense* e 26% com extrato de algas. Esse aumento também foi observado por Elansary et al. (2020) em ervilha (*Pisum sativum* L.) e hortelã (*Mentha x piperita* L.), sugerindo que o aumento da atividade antioxidativa em plantas com bioestimulantes ajuda a reduzir danos causados por compostos tóxicos.

Ao comparar a atividade da enzima catalase entre as doses sem aplicação de bioestimulantes, verificou-se que, à medida que a dose de CLE aumentou, a atividade da enzima diminuiu. No entanto, apenas a dose de 2,5 t ha⁻¹

mostrou diferença estatisticamente significativa em relação à dose de 0 t ha⁻¹. Fillipi (2022) também não encontrou alterações significativas na atividade da catalase em cebola (*Allium cepa* L.) com o aumento das doses de CLE.

Com a aplicação de *A. brasiliense*, a atividade enzimática reduziu nas doses de 2,5, 7,5 e 10,0 t ha⁻¹, mas apenas a dose de 5 t ha⁻¹ apresentou diferença estatística. Nos tratamentos com aplicação de extrato de algas, a atividade da enzima catalase diminuiu nas doses de 7,5 e 10,0 t ha⁻¹ de CLE. No entanto, apenas as doses que não apresentaram redução em relação à dose de 0 t ha⁻¹ mostraram diferença estatística. Esses resultados são consistentes com Schneider et al. (2020), que observaram menor atividade da catalase em plantas de soja tratadas com bioestimulantes, sugerindo que esses compostos ajudam a neutralizar espécies reativas de oxigênio, reduzindo o gasto energético das plantas.

Com relação a prolina, as plantas submetidas a estresse hídrico acumulam maior quantidade deste aminoácido como mecanismo para manter o potencial osmótico e o turgor (HAWORTH et al., 2018). Assim, nos tratamentos sob estresse, a dose de 2,5 t ha⁻¹ de CLE apresentou uma redução de 61% no acúmulo de prolina com o uso de extrato de algas e 42% com *A. brasiliense*, em comparação à dose sem bioestimulantes, evidenciando o potencial desses compostos na mitigação do estresse. Houve diferença significativa entre os bioestimulantes na dose de 2,5 t ha⁻¹, e na dose de 7,5 t ha⁻¹ apenas o extrato de algas se destacou. Esses resultados são semelhantes

aos de Goñi et al. (2018) em tomate (*Solanum lycopersicum* L.), que observaram menor acúmulo de prolina com o uso de bioestimulantes sob déficit hídrico.

CONCLUSÕES

Sob estresse hídrico, houve aumento no acúmulo de prolina; com bioestimulantes houve redução no acúmulo de prolina; na dose de 7,5 t ha⁻¹ de CLE a atividade da catalase diminuiu.

REFERÊNCIAS

- ELANSARY, H. O.; MAHMOUD, E. A.; EL-ANSARY, D. O.; MATTAR, M. A. **Effects of water stress and modern biostimulants on growth and quality characteristics of mint**. Agronomy, v. 10, n. 10, novembro, 2020.
- FILLPI, A. C. K. **Toxicidade de lodo de esgoto sanitário: subsídios para tomada de decisão ambientalmente correta antes da incorporação em solos agrícolas**, 2022.
- GOÑI, O.; QUILLE, P.; O'CONNELL, S. **Ascophyllum nodosum extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants**. Plant Physiology and Biochemistry, v. 126, 2018.
- MENDES, C. R. L. G. **Efeito de bioestimulantes no desenvolvimento inicial de soja sob deficiência hídrica**, 2019.
- SCHNEIDER, JR; Müller, M.; Klein, VA; Rossato-Grando, LG; Barcelos, RP; Dalmago, GA; Chavarria, G. **Metabolismo da planta de soja sob déficit hídrico e aplicação de agentes xenobióticos e antioxidantes**. Biology, 2020.

Tabela 1 – Análise bioquímica da grama nos períodos avaliados após aplicação de CLE e bioestimulantes

19-01-2022						
Tratamento	Catalase (µKat µg Prot ⁻¹)			Prolina (µmol g ⁻¹ FW)		
	Sem	Bac	Ext	Sem	Bac	Ext
Controle		290			1,33	
0 t ha ⁻¹ de CLE	58bC	156cB	289bA	0,96bA	0,95bcA	0,95aA
2,5 t ha ⁻¹ de CLE	74bB	92cB	491aA	1,14abAB	1,38aA	1,09aB
5,0 t ha ⁻¹ de CLE	237aB	369bA	214bB	1,33aA	0,87cB	1,15aA
7,5 t ha ⁻¹ de CLE	33bB	137cA	218bA	1,19abA	1,01bcA	1,04aA
10 t ha ⁻¹ de CLE	80bC	612aA	192bB	1,17abA	1,22abA	1,22aA
Média	96B	273A	281A	-	-	-
Teste F						
Doses de CLE		24,40**			5,15**	
Bioestimulantes (B)		91,63**			1,27 ^{NS}	
(CLE) x (B)		45,62**			3,37**	
(Adic) X (Fatorial)		8,48**			7,19*	
CV (%)		22			13,8	

31-03-2022

Tratamento	Catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$)			Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$)		
	Sem	Bac	Ext	Sem	Bac	Ext
Controle		147			1,84	
0 t ha ⁻¹ de CLE	200aA	118bB	171bcA B	1,86dB	2,53bA	1,94bB
2,5 t ha ⁻¹ de CLE	109bB	109bB	268aA	3,82aA	2,19bcB	1,49bcC
5,0 t ha ⁻¹ de CLE	189abA	212aA	239abA	2,51cAB	2,24bcB	2,66aA
7,5 t ha ⁻¹ de CLE	265aA	95bB	134cB	2,18cA	1,98cA	1,26cB
10 t ha ⁻¹ de CLE	190abA B	111bB	124cAB	3,07bA	3,31aA	2,63aB
Média	191A	129B	187A	2,69A	2,44B	1,99C
Teste F						
Doses de CLE		4,69**			47,34**	
Bioestimulantes (B)		13,31**			48,01**	
(CLE) x (B)		8,09**			26,10**	
(Adic) X (Fatorial)		1,02 ^{NS}			21,02**	
CV (%)		25,2			9,7	

Nota: **, * e ^{NS} – Significativo a 1 e 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas da mesma letra (minúsculas para doses e maiúscula para aplicação de bioestimulantes) na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CLE = Composto de lodo de esgoto. Sem = Sem aplicação de bioestimulantes. Bac = Bactéria *Azospirillum brasilense*. Fonte: Autor