



XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas  
XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas  
XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo  
VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo  
Guarapari – ES, Brasil, 13 a 17 de setembro de 2010.  
Centro de Convenções do SESC

## Bioatividade de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto em diferentes estágios de maturidade

Natália O. Aguiar<sup>1</sup>, Luciano P. Canellas<sup>1</sup>, Fabio L. Olivares<sup>1</sup>, Luis Gonzaga JR. S. Silva.<sup>1</sup>; Etelvino H. Novotny<sup>2</sup> e Arnoldo R. Façanha<sup>1</sup>

1-Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes 28013-602, Rio de Janeiro, Brasil.

2- Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS), R. Jardim Botânico, 1024, Rio de Janeiro, Brasil.

### RESUMO

A matéria orgânica estabilizada pela ação das minhocas tem reconhecida capacidade de estimular o crescimento vegetal e pode ser utilizada na produção de bioestimulantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar alterações químicas e o efeito de ácidos húmicos (AH), isolados de vermicomposto em diferentes estágios de maturação, no crescimento de plântulas de milho. O vermicomposto foi caracterizado quimicamente (carbono orgânico, relação de C/N, CTC e teor de AH). O índice relativo de massa molecular (Mw) do AH foi obtido por HPSEC, e o conteúdo hidrofóbico por RP-HPLC e RMN C<sup>13</sup>. Plântulas de milho foram utilizadas nos testes de bioatividade. A relação C/N e o conteúdo de lignina diminuíram, enquanto que a CTC e o conteúdo de AH aumentaram com processo de vermicompostagem. Nos estágios iniciais do processo de maturação o AH apresentou menor efeito de promoção no crescimento das plântulas. O aumento da bioatividade do AH avaliado pela extrusão de H<sup>+</sup> na solução e pela atividade da H<sup>+</sup> ATPase da membrana plasmática foi acompanhado pelo aumento da maturidade do vermicomposto juntamente com o aumento dos domínios hidrofóbicos na sua estrutura, principalmente, até os 60 dias. Entretanto a forma de proteção de moléculas bioativas na estrutura do AH ainda não é bem entendida e necessita de mais estudos.

**Palavras-chave:** maturidade do composto, bioestimulação de plantas.

### INTRODUÇÃO

A utilização de insumos biológicos na produção agrícola vem crescendo a cada dia, diminuindo a dependência por produtos industrializados, que apresentam baixa eficiência de uso e custos cada vez mais significativos. As substâncias húmicas (SH) atuam principalmente, como promotoras do crescimento radicular favorecendo a exploração de maior volume de solo, e por isso tem sido alvo de interesse crescente de agricultores e indústrias. Entretanto, apesar do seu potencial tecnológico, ainda são poucas as informações acumuladas sobre o mecanismo pelo qual as SH influenciam atividades biológicas em plantas.

Tem sido amplamente demonstrado que os ácidos húmicos (AH) podem afetar o crescimento das plantas e seu metabolismo, mas a pesquisa ainda não conseguiu elucidar a relação entre atividade biológica e estrutura química, apresentando resultados divergentes até o momento. A relação entre os diferentes níveis de bioatividade e a variação na estrutura química das SH persiste como um desafio para fins científicos e tecnológicos no sentido de melhoria dos insumos orgânicos à base de materiais húmicos.

Da mesma forma que as auxinas os ácidos húmicos induzem a síntese da H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática (MP) nas raízes (Canellas et al., 2002; Quaggioti et al., 2004). Essa enzima acopla a hidrólise de ATP ao transporte de H<sup>+</sup> através da MP. Consequentemente, o apoplasto é acidificado e a parede celular se torna mais flexível permitindo a expansão celular e favorecendo o crescimento radicular. A indução da H<sup>+</sup>-ATPase de MP também promove a nutrição vegetal pelo aumento do gradiente eletroquímico que dirige o transporte iônico via energização dos transportadores secundários. O objetivo deste

trabalho foi avaliar alterações químicas e o efeito de AH, isolados de vermicomposto em diferentes estágios de maturação, no crescimento da planta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O vermicomposto (VC) foi produzido a partir de esterco bovino num cilindro de concreto com capacidade de 150 L, a umidade foi mantida entre 65-70%. Depois de um mês, as minhocas foram introduzidas (*Eisenia foetida*) na proporção de 5 kg por m<sup>3</sup> de resíduo orgânico. Dois cilindros de cada resíduo orgânico foram utilizados para a amostragem nos diferentes períodos: 0, 30, 60, 90 e 120 dias. O VC foi caracterizado quimicamente (carbono orgânico, relação de C/N, CTC e teor de AH). Os AH foram isolados com 0,5 M NaOH sob atmosfera inerte de N<sub>2</sub> e precipitados com 6 M HCl. A solução HF:HCl foi usada por 16 horas para diminuir o teor de cinzas dos AH. Sendo este posteriormente lavado com água, dialisado (membrana 1.000 Da) e liofilizado. O índice relativo de massa molecular (Mw) foi obtido por HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography) utilizando a coluna de exclusão por tamanho Polysep-GFC-P 3000 (Phenomenex) com 600 milímetros por 7,8 milímetros d.i. O conteúdo hidrofóbico foi obtido por RP-HPLC (Reverse Fase - High Performance Liquid Chromatography), utilizando a coluna de fase reversa (Supelco C-18) e por RMN C<sup>13</sup> (Ressonância Magnética Nuclear do C<sup>13</sup>). Plântulas de milho com 0,5 cm de comprimento radicular foram tratadas por 48 h com solução de AH (20 mg C L<sup>-1</sup> da AH e 2 mM CaCl<sub>2</sub>, a pH 7,0). Em seguida, as plântulas foram transferidas para 40 mL de 2 mM CaCl<sub>2</sub>, a pH 7,0. Após 48 h, foi feita a medição do pH utilizando Thermo pHmetro Orion. Um ensaio preliminar foi feito a fim de verificar uma suposta relação entre extrusão de H<sup>+</sup> e atividade MP H<sup>+</sup> ATPase (medido de acordo com Canellas et al., 2002).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO** - A relação C/N e o conteúdo de lignina diminuíram, enquanto que a CTC e o conteúdo de AH aumentaram com o processo de vermicompostagem (Figura 1). O índice relativo de Mw não apresentou mudanças ao longo processo (Figura 2C). O conteúdo hidrofóbico determinado por RMN (Figura 2) e por RP-HPLC (Figura 2D) apresentou pequenas mudanças com o processo de maturação.

No final do processo de maturação do vermicomposto foi observado um aumento seletivo

no conteúdo de C-aromático, C-O aromático e C-carboxílico, como consequência da diminuição do conteúdo de carboidratos (Figura 2). O índice relativo de massa molecular do AH não apresentou mudanças ao longo do processo de maturação, mas a hidrofobicidade avaliada por RP-HPLC mostrou um aumento significativo até os 60 dias, decrescendo a partir de 90 dias. Após 60 dias de maturação do vermicomposto o AH apresentou maiores efeitos de bioatividade, quando comparado ao controle. Tal efeito é manifestado pelo aumento da extrusão de H<sup>+</sup> pelas raízes de plântulas de milho, que tem grande correlação com a atividade da H<sup>+</sup> ATPase da membrana plasmática (Figura 4B).

## CONCLUSÕES

Concluimos que nos estágios iniciais do processo de maturação do vermicomposto o AH apresenta menor efeito de promoção do crescimento das plântulas. O aumento da bioatividade do AH avaliado pela extrusão de H<sup>+</sup> na solução e pela atividade da H<sup>+</sup> ATPase da membrana plasmática foi acompanhado pelo aumento da maturidade do vermicomposto juntamente com o aumento dos domínios hidrofóbicos na sua estrutura, principalmente, até os 60 dias. Entretanto a forma de proteção de moléculas bioativas na estrutura do AH ainda não é bem entendida e necessita de mais estudos. Além disso, o processo de humificação, por si só não é suficiente para explicar a promoção do crescimento das plantas.

## REFERÊNCIAS

CANELLAS, 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<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.* 130, 1951–658 1957. 2002.

QUAGGIOTTI, S., RUPERTI, B., PIZZEGHELLO, D., FRANCIOSO, O., TUGNOLI, V., NARDI, S. (2004) Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 55:803–813.

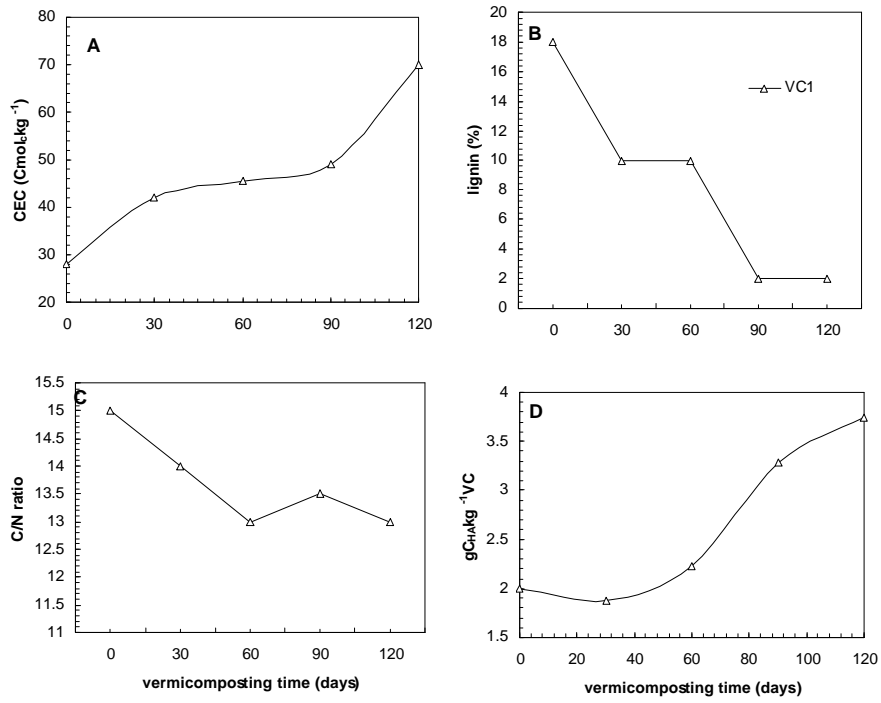


Figura 1: Parâmetros relacionados com o processo de maturação do vermicomposto.

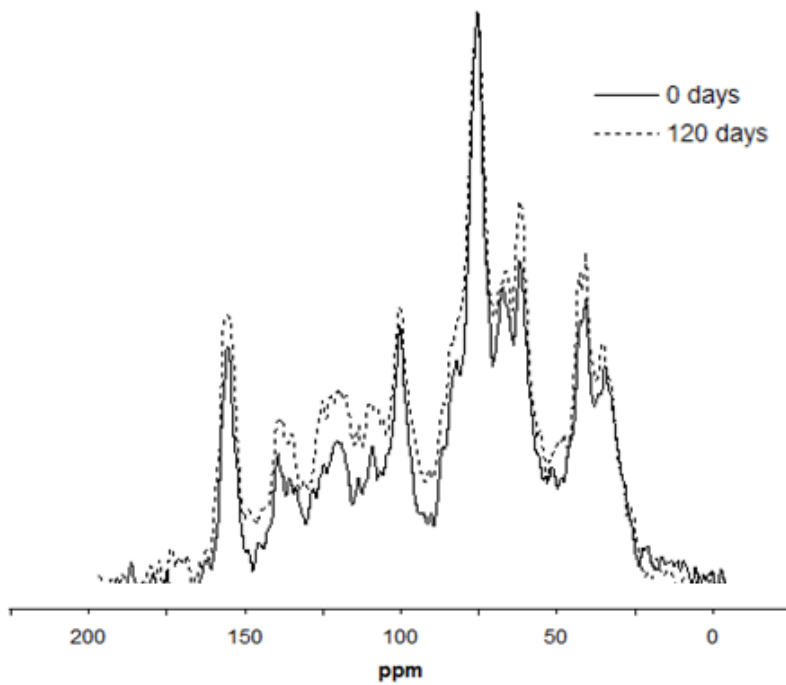


Figura 2: Espectro <sup>13</sup>C-CPMAS-NMR de vermicomposto em diferentes estágios de maturidade (0 e 120 dias).

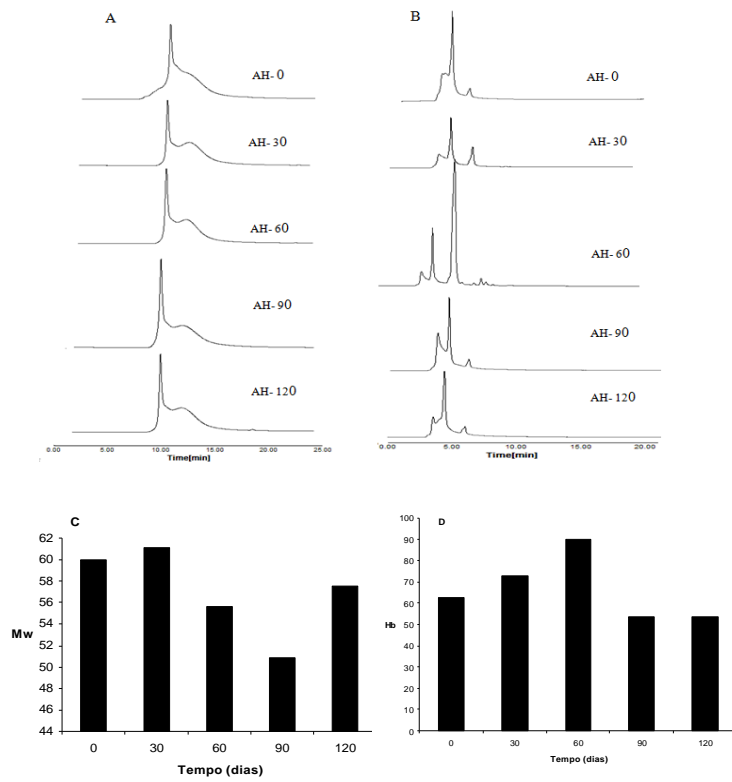


Figura 3: Cromatogramas HPSEC (A), Cromatogramas RP-HPLC (B) Índice relativo de Mw (C) e Índice relativo de hidrofobicidade (D) de AH extraído de vermicomposto em diferentes estágios de maturidade (0, 30, 60, 90 e 120 dias) .

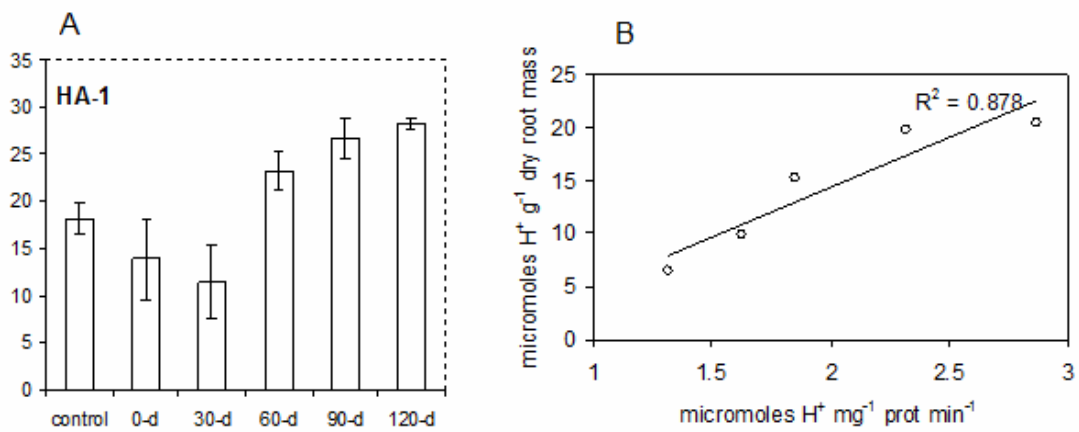


Figura 4: A: Extrusão de Prótons (mM H<sup>+</sup> g<sup>-1</sup> raiz seca) por raízes de plantulas de milho em solução de 2 mM CaCl<sub>2</sub> tratadas por 48 h com AH isolado de vermicomposto em diferentes estágios de compostagem (0, 30, 60, 90 e 120 dias). B: Relação entre extrusão de H<sup>+</sup> e atividade H<sup>+</sup>-ATPase MP.

