

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

**ÍNDICE DE QUALIDADE E BIOATIVIDADE DA MATÉRIA ORGÂNICA
EM SOLOS DO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

KATHERINE FRAGA RUAS

VILA VELHA
FEVEREIRO/2015

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

**ÍNDICE DE QUALIDADE E BIOATIVIDADE DA MATÉRIA ORGÂNICA
EM SOLOS DO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

KATHERINE FRAGA RUAS

VILA VELHA
FEVEREIRO/2015

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

R894i Ruas, Katherine Fraga.

Índice de qualidade e bioatividade da matéria orgânica em solos do bioma Mata Atlântica / Katherine Fraga Ruas. – 2015.
61 f : il.

Orientador: Leonardo Barros Dobbss.

Dissertação (mestrado Ecologia de Ecossistemas) –
Universidade Vila Velha, 2015.
Inclui bibliografias.

1. Fertilidade do solo. 2. Humus. 3. Mata Atlântica. I. Dobbss, Leonardo Barros. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 631.47

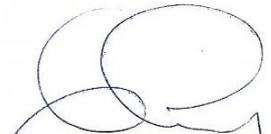
KATHERINE FRAGA RUAS

**ÍNDICE DE QUALIDADE E BIOATIVIDADE DA MATÉRIA
ORGÂNICA EM SOLOS DO BIOMA MATA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha, como pré-
requisito do Programa de Pós-
graduação em Ecologia de
Ecossistemas, para a obtenção do
grau de Mestre em Ecologia.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2015,

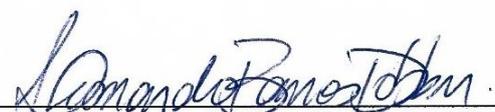
Banca Examinadora:



Dr. Eliemar Campostrini - UENF



Dr. Carlos Eduardo Tadokoro - UVV



Dr. Leonardo Barros Dobbs - UVV
Orientador

'Nas grandes batalhas da vida,
o primeiro passo para a vitória
é o desejo de vencer'. (Mahatma Gandhi)

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente de agradecer a Deus, por me acompanhar em todos os dias da minha vida, colocando em meu caminho boas oportunidades e pessoas maravilhosas;

Agradeço ao meu orientador e amigo Leonardo Barros Dobbss, pela dedicação, paciência, preocupação, e atenção no desenvolvimento dos trabalhos no laboratório. Obrigada por todos os conselhos, direcionamento, por me acalmar nas horas necessárias e me fazer acreditar.

Agradeço aos meus familiares e ao meu namorado pelo apoio e carinho. Vocês me deram forças para nunca desistir;

Aos meus amigos de laboratório (LEMO), com vocês, criei verdadeiros laços de amizade, e conseguimos transformar nossos dias de trabalho intenso, em cumplicidade, harmonia, e muito aprendizado. Vocês são especiais na minha vida, e espero ter o privilégio de mantê-los sempre por perto. Obrigada a todos que me acompanharam nas calorosas coletas, montagem e desmontagem de experimentos, e em todo o andamento do meu trabalho;

Aos meus professores mestres e doutores que me acompanham desde a graduação e sempre me incentivaram e me conquistaram com a pesquisa científica;

A toda equipe do laboratório de química e fertilidade do solo, da Universidade de Brasília (UnB), em especial ao Alan, o Eduardo, e ao meu supervisor de estágio Jader Busato, que me receberam muito bem, me ensinaram e me ajudaram a realizar tudo o que foi proposto.

Ao pesquisador Daniel Zandonadi por me acompanhar nas análises nutricionais;

Agradeço as seguintes instituições pela oportunidade da pesquisa e suporte financeiro: Universidade Vila Velha (UVV), Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER) e Reserva Natural Vale (RNV). A toda a equipe do Projeto Biomas, em especial da Mata atlântica, que estavam sempre dispostos a ajudar e solucionar todos os problemas enfrentados durante a pesquisa;

A empresa Caliman, pelo fornecimento das mudas de mamoeiro;

E por fim, mas não menos importante, a todos os meus amigos que entenderam a minha ausência nesses últimos meses, e me proporcionaram a cada encontro momentos descontraídos e de companheirismo. Obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. HIPÓTESE.....	6
3. OBJETIVOS.....	6
4. FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	7
4.1. Bioma Mata Atlântica e o desmatamento.....	7
4.2. Manejo do solo.....	8
4.3. Matéria Orgânica.....	9
4.4. Substâncias húmicas.....	10
4.5. Bioatividade das Substâncias húmicas.....	14
4.6. <i>Carica papaya Lineu</i> (mamoeiro).....	15
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1. Área de estudo e conduções experimentais.....	17
5.2. Amostragem dos solos.....	20
5.3. Análise de fertilidade.....	20
5.4. Fracionamento da matéria orgânica do solo.....	23
5.5. Extração das SH e purificação dos AH.....	25
5.6. Composição elementar (CHN).....	25
5.7 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de fourier (IV – TF).....	25
5.8. Efeito dos ácidos húmicos sobre o desenvolvimento vegetal: Detalhamento do experimento em casa de vegetação.....	26
5.9. Avaliações dos aspectos morfológicos de <i>Carica papaya</i> após experimento com as melhores doses obtidas.....	27
5.10. Análise nutricional de plântulas de <i>Carica papaya</i> L.....	28
5.11.Delineamento experimental e análises estatísticas.....	29
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
7. CONCLUSÃO.....	46
8. REFERÊNCIAS.....	47

RESUMO

RUAS, KATHERINE F., M.Sc, Universidade Vila Velha - ES. Fevereiro, 2015. **Índice de qualidade e bioatividade da matéria orgânica em solos do bioma mata atlântica.** Orientador: Leonardo Barros Dobbss.

Para verificar a qualidade de um solo, podem-se utilizar dois importantes indicadores: a matéria orgânica do solo, a qual exerce uma importante função na fertilidade dos solos, e suas substâncias húmicas, através da avaliação de suas características químicas e espectroscópicas, bem como sua bioatividade sobre plantas. A matéria orgânica e suas respectivas frações são bastante sensíveis ao uso e manejo dos solos, tendo suas quantidades e qualidades geralmente aumentadas quando há a minimização de impactos provocados, por exemplo, por fatores ligados à sua degradação. Cada vez mais as pesquisas na área da matéria orgânica e seu principal componente, as substâncias húmicas, tem sido voltada para o desenvolvimento de tecnologias voltadas para identificar quais atributos devem ser avaliados a fim de se medir a qualidade da matéria orgânica de diferentes solos. Com o intuito de contribuir nessa investigação, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do solo e paralelamente de sua matéria orgânica através de técnicas químicas e espectroscópicas, bem como a bioatividade dos ácidos húmicos isolados de solos do bioma mata atlântica com diferentes níveis de preservação. A coleta dos solos foi realizada em duas profundidades (0-20 e 20-40 cm) no município de Linhares, ES, na Reserva natural Vale do Rio Doce (área preservada - AP) e na Fazenda São Marcos (área degradada - AD). Foram elegidos quatro pontos de amostragem em cada área que foi percorrida em zig-zag para a realização dos procedimentos de coleta. As amostras coletadas foram submetidas a análises de fertilidade e fracionamento / extração da matéria orgânica. Após esses procedimentos avaliou-se a qualidade da matéria orgânica / substâncias húmicas, através de técnicas químicas e espectroscópicas bem como também realizados testes de bioatividade dos ácidos húmicos isolados dos respectivos solos sobre o desenvolvimento vegetal e análise nutricional de *Carica papaya* (mamoeiro). Este último experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Vila Velha em sistema hidropônico. Com relação aos resultados, os solos das respectivas áreas apresentaram características distintas quanto a sua fertilidade. A distribuição das frações húmicas também diferiu entre as áreas de coleta, onde foi observado que a maior parte do carbono humificado em ambas as áreas de estudo foi composto pela fração húmica. Já quando trata-se das relações atômicas dos ácidos húmicos, C/N; H/C e O/C, foi possível observar respectivamente que os mesmos estão abaixo do valor sugerido quanto à estabilidade biológica, apresentam natureza alifática evidente, e maior quantidade de grupos funcionais oxigenados. De uma maneira geral, os índices qualidade obtidos após a o fracionamento químico da matéria orgânica foram melhores na AP e os espectros de infravermelho indicaram presença de grupos relacionados a hidrofobicidade, principalmente nas amostras de ácidos húmicos isolados dos solos da AD, fato que provavelmente influenciou de maneira significativa a atividade biológica destes sobre plântulas de mamoeiro. Independentemente do tratamento, todos os ácidos húmicos estimularam o crescimento das plântulas de mamão em relação ao tratamento controle, porém com um nítido destaque para o isolado dos solos da área degradada. As análises nutricionais demonstraram o aumento da absorção de nutrientes em presença de AH, principalmente na parte aérea das plântulas, indicando uma possível translocação de nutrientes da raiz para parte aérea. Desta maneira, com os

resultados obtidos foi possível aceitar parcialmente a hipótese do presente trabalho, ou seja, a matéria orgânica dos solos oriundas da AP apresentaram índices de qualidade melhores que da AD, porém com relação à atividade biológica, os AH isolados da AD foram os mais bioativos com relação ao crescimento e a nutrição de plântulas de *Carica papaya*. Portanto, pelo menos em parte, mais que o nível de preservação, as características químicas e espectroscópicas dos ácidos húmicos são as que mais influenciam sobre a atividade biológica de plântulas de mamoeiro.

Palavras chaves: ácido húmico, *Carica papaya*, área degradada e preservada, Infravermelho, atividade biológica.

ABSTRACT

RUAS, KATHERINE F., M.Sc, University of Vila Velha – ES. February, 2015. **Quality Score and bioactivity of organic matter in soils Bioma Mata Atlântica.** Advisor: Leonardo Barros Dobbss.

To check the quality of a soil can be used two important indicators to soil organic matter, which plays an important role in soil fertility, and their humic substances, by evaluating its chemical and spectroscopic characteristics and its bioactivity on plants. The organic matter and its fractions are very sensitive to the use and management of soils, and their quantities and qualities generally increased when there is the minimization of impacts caused, for example, factors related to its degradation. Increasingly, research in organic matter and its main component, humic substances, has been focused on the development of technologies for identifying which attributes should be evaluated in order to measure the quality of organic matter from different soils. In order to contribute to this research, the objective of this study was to evaluate the quality of the soil and in parallel to its organic matter through chemical and spectroscopic techniques and the bioactivity of humic acids isolated from soils the Mata Atlântica with different levels of preservation . The collection of soil was conducted in two depths (0-20 and 20-40 cm) in Linhares, ES, in Nature reserve Vale do Rio Doce (unspoilt area - AP) and farm São Marcos (degraded area - AD) . Were elected four sampling points in each area that was covered in zig-zag to the achievement of collection procedures. The samples were undergoing fertility analysis and fractionation / extraction of organic matter. After these procedures, we evaluated the quality of the organic / humic matter by chemical and spectroscopic techniques well as bioactivity testing also made of humic acids isolated from its land on plant development and nutritional analysis of *Carica papaya* (papaya). The latter experiment was conducted in a greenhouse of the University Old Town hydroponically. Regarding the results, the respective areas of soil present special features as their fertility. The distribution of humic fractions also differed between the collection areas, where it was observed that most of the carbon humified in both study areas was composed of the humin fraction. But when it is the atomic ratios of humic acids, C/N; H/C and O/C, it was observed that they are respectively below the value suggested for biological stability, show evident aliphatic nature, and more oxygenated functional groups. In general, the quality indexes obtained after fractionation of the organic matter were the best AP and IR spectra showed the presence of groups related to hydrophobicity, especially in samples of humic acids isolated from soil AD, probably influenced the fact that significantly the biological activity of these on papaya seedlings. Regardless of treatment, all humic acids stimulated the growth of papaya seedlings compared to the control, but with a clear emphasis on the isolated area of degraded soils. Nutritional analysis showed increased absorption of nutrients in the presence of HA, mainly in shoots of seedlings, indicating a possible translocation of nutrients from the root to shoot. Thus, with the results we partially accept the hypothesis of this study, ie the organic matter derived from the AP soils showed better quality indices of AD, but with respect to biological activity, the AH isolated from AD were the most bioactive regarding the growth and nutrition of *Carica papaya* seedlings.

Therefore, at least in part, over the level of preservation, the chemical and spectroscopic characteristics of the humic acids are the most influence on the biological activity of papaya plants.

Keywords: humic acid, *Carica papaya*, degraded and preserved area, Infrared, biological activity.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas tem aumentado sensivelmente a preocupação mundial com o crescimento alarmante da taxa de desmatamento das florestas tropicais e seu impacto na riqueza de espécies do Planeta. A conversão de áreas para as atividades agropecuárias é apontada como a principal causa de desmatamento em todo o mundo (Ribeiro et al., 2005).

No município de Linhares, um dos maiores problemas ambientais é o desmatamento de áreas para inserção de pastagens, seguido do seu uso inadequado (Incaper, 2011). Tais problemas, muitas vezes, levam à degradação dos solos, que de uma maneira geral, está associada a fatores ligados ao manejo, levando, na maioria das vezes, o abandono de diversas áreas pelos agricultores e produtores. Esse município é reconhecido por ser um dos principais produtores de mamoeiro (*Carica papaya*) do Estado do Espírito Santo, e devido a esse fato, é de suma importância a utilização de novas tecnologias utilizando-se bioestimulantes, para potencializar o crescimento dessa espécie para uma possível posterior reintrodução de suas plântulas em áreas degradadas com o intuito de recuperá-las (Tatagiba et al., 2002; Serrano e Cattaneo, 2010; Fontes et al., 2012).

Normalmente, as causas mais importantes da degradação de áreas podem ser consideradas as seguintes: ausência ou mau uso do preparo do solo; sistemas e métodos de plantio; uso do fogo como rotina; ausência ou uso inadequado de adubação de manutenção; excesso de lotação de gado e ausência ou aplicação incorreta de práticas de conservação do solo após o uso relativo ou uso prolongado de pastejo (Nogueira Júnior, 2000). Não raro, estas perturbações podem afetar de formas diretas e indiretas o ciclo do carbono (C). O carbono orgânico do solo tem sido utilizado como indicador de alterações de qualidade, uma vez que está associado a funções ecológicas do ambiente e é capaz de refletir mudanças de uso e manejo dos solos (Simões, et al., 2010). Um dos efeitos negativos diretos ao ciclo do C é a modificação da estrutura e distribuição da vegetação por meio de alterações no uso da terra e a eliminação da vegetação florestal e sua substituição por outra cobertura superficial (Costa et al., 2009). Isto porque o sequestro de C pode ser

influenciado pela quantidade de biomassa depositada na forma de manta orgânica e de raízes mortas no solo (Gatto, 2010). A entrada de C no pool da MOS ocorre via deposição de serapilheira, incorporação de resíduos vegetais ao solo após a colheita e via sistema radicular (Braghirolli, 2012).

A preocupação com as medidas mitigadoras do problema, principalmente envolvendo ciclagem e fixação de C, tem colocado o sistema pastoril entre um dos grandes responsáveis por alterações negativas no meio ambiente. Este fato se dá principalmente por conta desse sistema aparecer, em geral, em substituição a ambientes naturais de mata, havendo com isso, grandes liberações de C, principalmente devido a práticas de formação de pastos, que na grande maioria, se faz uso de queimadas (Costa, et al., 2009).

Outra forma bastante eficaz para se avaliar indiretamente as alterações na qualidade da MOS, de acordo com as diferentes formas de manejo e tipos de solo é através da avaliação de características químicas e espectroscópicas das SH (Canellas et al., 2004; Canellas et al., 2007). Isto porque o processo de degradação também altera significativamente a MOS e o estoque de C, podendo influenciar diretamente a deterioração das propriedades físico-químicas do solo e sua fertilidade (Rodrigues et al., 2013). Esses efeitos, muitas das vezes, inviabilizam o replantio, seja de pastagem ou outros fins agrícolas, ocasionando assim, o abandono de diversas áreas (Silva Neto et al., 2012).

A matéria orgânica do solo, regida pelo seu principal componente, as SH exercem influência amplamente reconhecida nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e no crescimento das plantas (Asli, 2010). Sua formação está associada ao tipo de material vegetal depositado no solo, às reações químicas e físicas que ocorrem a partir dessa deposição e à atuação microbiana (Stevenson, 1994; Guerra et al., 2008). A matéria orgânica e suas frações húmicas (ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina) podem influenciar diretamente o desenvolvimento e crescimento vegetal (Rosa, 2009; Piccolo, 1996), especialmente pelo aumento do sistema radicular (Canellas, 2002; Aguiar et al., 2009), fazendo com que as plantas explorem um maior volume de solo e conseqüentemente facilitando sua adaptação à ambientes inóspitos tal como áreas degradadas e ou em processo de degradação (Canellas et al., 2008).

De acordo com o exposto, estudos que avaliem qualidade de ambientes e utilizem tecnologias inovadoras a base de substâncias húmicas são fundamentais para o desenvolvimento de novas técnicas relacionadas a aspectos ecológicos, voltados à recuperação do solo, e que apresentem paralelamente contribuições significativas para a agricultura.

2. HIPÓTESE

Os índices de qualidade dos solos e da matéria orgânica bem como a atividade biológica de seus ácidos húmicos sobre plântulas de mamoeiro será melhor na área preservada do presente estudo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral:

Avaliar a qualidade do solo e da matéria orgânica através de técnicas químicas e espectroscópicas, bem como a bioatividade dos ácidos húmicos isolados de solos do bioma mata atlântica localizados em áreas com diferentes níveis de preservação [área degradada (AD): pastagem degradada em estágio inicial de recuperação e área preservada (AP): mata nativa da Reserva Natural Vale do Rio Doce], no município de Linhares - ES.

3.2. Objetivos específicos:

- Coletar os solos;
- Realizar a análise de fertilidade dos solos;
- Realizar o fracionamento da matéria orgânica;
- Extrair os ácidos húmicos da matéria orgânica;
- Analisar os AH química e espectroscopicamente;
- Obter as mudas de mamoeiro;
- Realizar testes de bioatividade em plântulas de mamoeiro (*Carica papaya*) com os ácidos húmicos extraídos;
- Realizar a análise nutricional das plantas após submissão aos tratamentos;

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1. Bioma Mata Atlântica e o desmatamento

De acordo com a Lei, conhecida como a “Lei da Mata Atlântica” (Lei nº 11.428/06), a Floresta Atlântica é constituída pelas seguintes formações nativas e ecossistemas associados: Floresta Ombrófila Densa; Floresta Ombrófila Mista, também denominada de Mata de Araucárias; Floresta Ombrófila Aberta; Floresta Estacional Semidecidual; e Floresta Estacional Decidual, bem como os manguezais, as vegetações de restingas, campos de altitude, brejos interioranos e encaves florestais do Nordeste. Esse bioma ocupa 17 estados brasileiros e seus remanescentes estão reduzidos em aproximadamente 27% de sua cobertura original (Campanili e Schaeffer, 2010).

A recuperação e preservação deste bioma é importante devido ser considerado um dos maiores centros de biodiversidade, e classificado como uma região de elevado índice de endemismo (*hotspot*) (Tabarelli e Mantovani, 1999; Zipparro et al., 2005). A diversidade no regime pluviométrico, temperatura, topografia, solos, variedade de fitofisionomias e complexidade de aspectos bióticos, enfatizam ainda mais a relevância ambiental deste bioma.

Mesmo diante de tanta importância, atualmente, a mata Atlântica, quando comparada a todos os outros biomas brasileiros, apresenta a menor parcela de cobertura vegetal natural, e está entre as oito áreas prioritárias ('hotspots') do planeta, em termos de estratégias de conservação (Myers et al. 2000).

Contudo, apesar dos fragmentos serem relativamente pequenos, seus remanescentes apresentam alta importância para o funcionamento do ecossistema. Atuam no processo de regulação do fluxo dos mananciais hídricos, asseguram a fertilidade do solo, atuam na proteção das áreas de preservação permanente (APP), controlam o clima e protegem escarpas e encostas das serras (IBAMA - Relatório técnico, 2012).

Além dos fragmentos estarem sujeitos a intervenções e ameaças constantes, por se encontrarem próximos dos grandes centros urbanos brasileiros ou estarem envolvidos por vastas plantações de finalidade econômica, enfrentam também, consequências do acelerado processo de devastação, intensa atividade agropastoril, industrial e urbana. Sendo assim, a

floresta atlântica foi praticamente dizimada ao longo dos séculos após seu descobrimento, restando hoje entre 5-8% da cobertura original (IBAMA – Relatório técnico, 2012) (Figura 1).

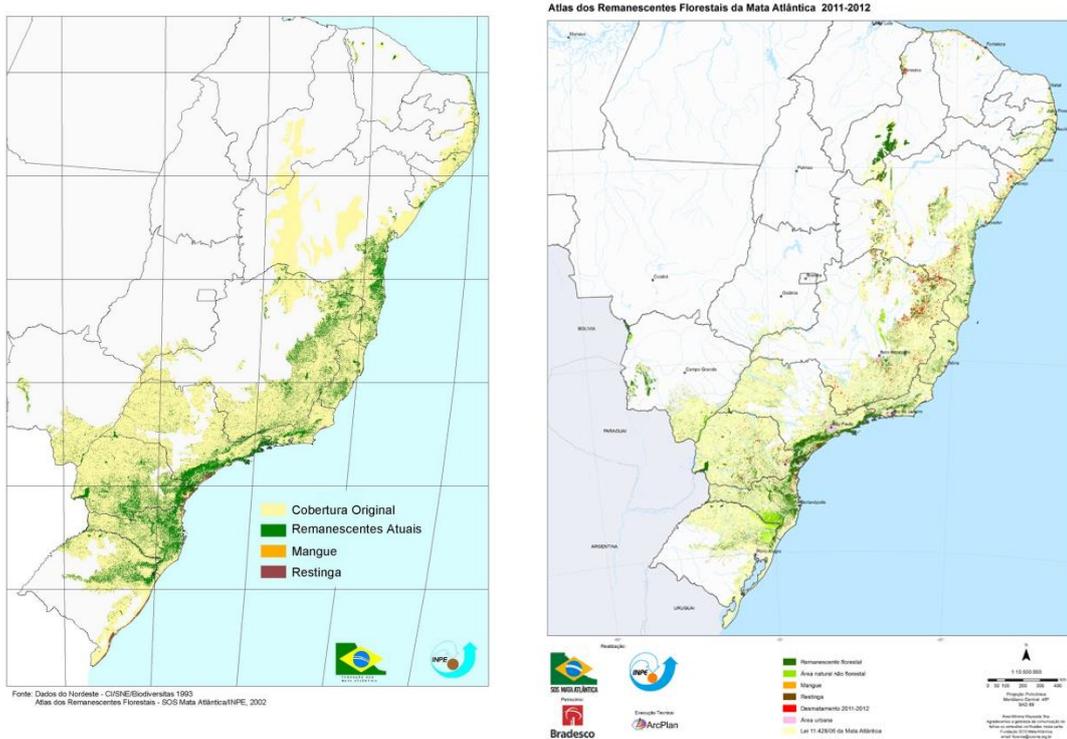


Figura 1: Comparativo de remanescentes florestais do bioma mata atlântica entre o ano de 2002 e 2012 respectivamente.

Diante deste contexto, a preocupação com a conservação e restauração da Mata Atlântica vem crescendo nos últimos anos, em virtude da ameaça de extinção das áreas desse ecossistema (Miranda *et al.*, 2007).

4.2. Manejo do solo

Os ecossistemas naturais apresentam integração harmoniosa entre a cobertura vegetal e os atributos do solo, decorrente de processos essenciais de ciclagem de nutrientes e acumulação e decomposição da matéria orgânica. Ao derrubar a vegetação nativa para estabelecer plantações, há remoção de sistemas biológicos complexos, multiestruturados, diversificados e estáveis, e

sua substituição por sistemas simples e instáveis provoca variações nos estoques de várias frações orgânicas do solo (Portugal et al., 2008).

Em situação de vegetação natural, a matéria orgânica do solo, se encontra estável, e quando submetida ao uso agrícola, pode ocorrer redução no seu conteúdo, principalmente quando os métodos de preparo utilizados são de intenso revolvimento do solo e os sistemas de cultura apresentam baixa adição de resíduos. Desta maneira, pode ocorrer um processo de degradação das condições químicas, físicas e biológicas do solo além da perda significativa da produtividade das culturas (Bayer e Mielniczuk, 2008).

A conversão de sistemas naturais em agrícolas, também pode resultar em compactação do solo, devido ao pisoteio animal, tráfego de máquinas e implementos agrícolas, cultivo intensivo e sistema de manejo inadequado (Reinert et al., 2008). O grau de compactação provocado pelo pisoteio animal pode ser influenciado pela textura, pelo sistema de pastejo, pela altura de manejo da pastagem, pela quantidade de resíduo vegetal na superfície e pela umidade do solo (Cardoso et al., 2011).

O que vai influenciar o grau de impacto da remoção da floresta nativa é o tipo manejo do sistema produtivo e a prática agrícola utilizada. Nas últimas décadas, a avaliação da qualidade do solo tem merecido destacada atenção, e a quantificação de alterações nos seus atributos, decorrentes da intensificação de sistemas de uso e manejo tem sido amplamente realizados para monitorar a produção sustentável dos solos e, conseqüentemente, a conservação dos recursos naturais (Cardoso et al., 2009).

Dentro deste contexto, a composição da matéria orgânica e as feições estruturais das substâncias húmicas podem fornecer informações para descrever e estabelecer parâmetros sobre a capacidade do agroecossistema suportar determinadas práticas agrícolas (Canellas e Santos, 2005).

4.3. Matéria orgânica

O conteúdo de matéria orgânica (MO) é controlado pelos fatores de formação do solo. O balanço de carbono em sistemas naturais não perturbados pode ser influenciado pelo clima, material de origem, relevo, atividade biológica e o tempo. A prática do cultivo é considerada uma perturbação deste equilíbrio

dinâmico, proporcionando uma menor quantidade de MO no sistema (Canellas e Santos, 2005; Melo e Schaefer, 2009).

O conteúdo de matéria orgânica foi definido por Kononova (1968) como o produto do balanço entre as quantidades relativas formadas e decompostas anualmente somadas ao húmus inicial do solo. Essa reserva de compostos orgânicos reflete, principalmente, o balanço entre a produção de biomassa microbiana, a estabilização dos resíduos orgânicos oriundos de plantas e animais e a mineralização dos compostos orgânicos.

O uso da matéria orgânica do solo como indicador de qualidade está baseado na premissa de que ela exerce uma importante ação na fertilidade dos solos (afeta propriedades químicas, físicas e biológicas), e suas frações humificadas são um marcador químico estável da história do solo (Canellas et al., 2004) e sensíveis a modificações no manejo do solo, pois apresentam potencial para serem utilizadas como atributos-chaves, atuando diretamente sobre diversos funcionamentos, como por exemplo, a ciclagem de nutrientes, complexação de elementos tóxicos e estruturação do solo (Conceição et al., 2005).

A matéria orgânica do solo é dividida em viva (4%), que compreende os microrganismos, macrorganismos e raízes, e a morta (96%) representada pela matéria macro orgânica, substâncias não húmicas (lipídios, proteínas, ácidos graxos e etc.) e as substâncias húmicas (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e húmica) (Piccolo, 1996; Rosa *et al.* 2009; Pinheiro *et al.*, 2010; Primo et al., 2011).

4.4. Substâncias húmicas

As substâncias húmicas (SH) são formadas pela transformação de biomoléculas, durante o processo de decomposição de resíduos vegetais e animais, e das atividades metabólicas de microrganismos presentes no ambiente (Nomura *et al.*, 2012). Devido à natureza complexa das SH, de acordo tanto com a literatura pretérita quanto a atual, pouco se sabe sobre sua estrutura química, no entanto, são frequentemente designadas como misturas heterogêneas de moléculas polidispersas de elevada massa molar, que representam cerca de 70% do carbono presente no solo. Possuem alto teor de

grupos funcionais contendo oxigênio na forma de carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas (Moreira, 2007).

Dentre as SH incluem-se os ácidos húmicos (AH), que são predominantemente hidrofóbicos e solúveis somente em pH básico; os ácidos fúlvicos, que são pequenas moléculas hidrofílicas associadas de forma que existam grupos funcionais ácidos suficientes para mantê-los dispersos em qualquer pH; e as huminas, que são insolúveis em todas as faixas de pH por estarem intimamente ligadas a fração mineral dos solos e sedimentos. Os AH constituem na fração reativa mais estável das SH. Apresentam coloração escura, alto teor de anéis aromáticos, grupos funcionais hidrofílicos contendo oxigênio, além de possuírem as mais diversas estruturas e composições elementares (Pinheiro et al., 2010).

Além de influenciar as propriedades químicas, físicas e biológicas determinando a produção biológica dos ecossistemas, as SH também exercem efeito direto sobre o crescimento e metabolismo das plantas, principalmente sobre o sistema radicular (Nardi et al., 2002). Portanto, a eficiência da estimulação biológica depende da natureza química das SH.

Muitos pesquisadores vêm utilizando como objeto de estudo a caracterização estrutural das SH (Konova, 1966; Schnitzer, 1978, Steelink, 1985; Giovanela, 2003). Na tentativa de chegar a uma estrutura padrão para estas substâncias várias técnicas analíticas têm sido utilizadas, dentre as quais destacam-se a análise elementar, as espectroscopias de IV, ultravioleta e visível (UV-Vis) e de RMN ^1H e RMN ^{13}C (Ressonância magnética nuclear), a pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi/CG-EM) e etc.

Considerando que diferentes compostos, tais como: aminoácidos, carboidratos, lipídios, monoaromáticos, poliaromáticos, fenóis, polifenóis, ácidos benzenocarboxílicos, ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos graxos e alcanos, dão origem às SH, tem-se que a composição destas representa a combinação de todas estas entidades em diferentes configurações e combinações (Konova, 1966; Schnitzer, 1978). Como resultado, puderam ser obtidas estruturas tridimensionais diversas, de características químicas distintas, dependendo do seu grau de humificação. As estruturas apresentadas

na literatura (Figuras 3 e 4) são consideradas apenas tentativas para a elucidação estrutural das SH (Rashid, 1985).

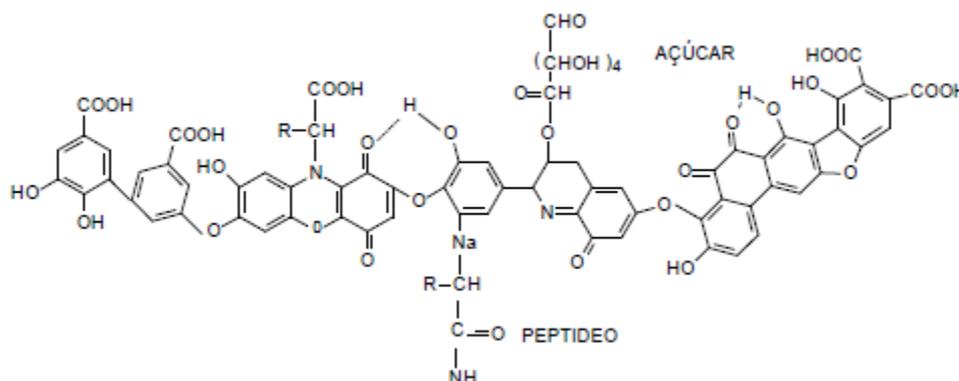


Figura 2: Modelo da estrutura de ácidos húmicos postulado por Stevenson (1994).

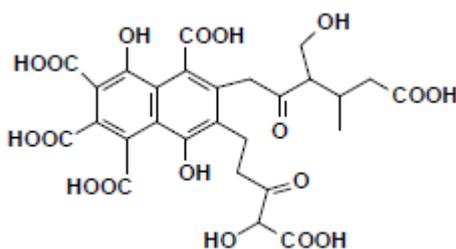


Figura 3: Modelo da estrutura para ácidos fúlvicos por Buffle (conforme Stevenson, 1994).

Nos dias de hoje uma proposta inovadora para a conformação estrutural das SH vem sendo a mais aceita cientificamente. Tal proposta foi desenvolvida principalmente a partir de resultados experimentais com cromatografia líquida de baixa-pressão por exclusão de tamanho. A variação cromatográfica de uma solução alcalina de SH levada até valores de pH igual a 2 com a adição de diferentes ácidos orgânicos foi observada por Piccolo et al. (1996), que registraram a mudança progressiva de baixo para elevados volumes de eluição. Esse fenômeno foi reversível, uma vez que, as bandas de eluição mudaram para baixos volumes quando a ação dos ácidos orgânicos foi neutralizada pela adição de uma solução alcalina ($\text{KOH } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$). Conte e Piccolo (1999) usando a cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão de tamanho (HPSEC), verificaram o mesmo comportamento e providenciaram,

portanto, evidências analíticas que as SH poderiam ser consideradas como uma associação de pequenas e heterogêneas moléculas em uma estrutura de tamanho aparentemente grande. Sob esse ponto de vista, as SH constituiriam agregados que se auto organizam em um arranjo supramolecular (Piccolo, 2002).

Esta associação húmica supramolecular é estabilizada por forças de ligação relativamente fracas e, podem ser quebradas reversivelmente na presença de baixas concentrações de ácidos orgânicos (Nardi et al., 2000; Cozzolino, et al., 2001). Vários ácidos orgânicos são exsudados pelas raízes das plantas e podem mobilizar subunidades estruturais das SH. Essas subunidades funcionais, uma vez dissociadas da molécula base dos ácidos húmicos, podem acessar receptores na superfície ou no interior das células das raízes desencadeando processos que culminariam com o estímulo do desenvolvimento radicular das plântulas (Figura 4).

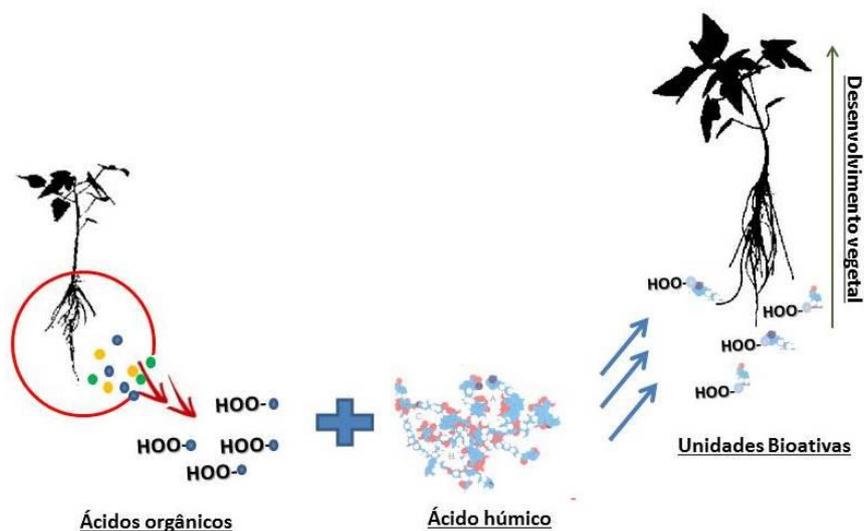


Figura 4: O arranjo supraestrutural dos AH (Piccolo, 2002) pode ser rompido pelos ácidos orgânicos exsudados pelas raízes vegetais (Taiz e Zeiger, 2004). Modificado de Canellas e Santos (2005) e adaptado pela autora.

4.5. Bioatividade das SH

As SH podem influenciar as características físicas e químicas dos compartimentos água, solo e sedimento, além de afetar diretamente o desenvolvimento vegetal (Canellas e Santos, 2005). A promoção do crescimento radicular estimulado pelas substâncias húmicas está relacionado com a sua origem, concentração, e com a espécie vegetal utilizada (Silva et al., 2011).

O crescimento, o padrão de formação e diferenciação dos órgãos vegetais são etapas do desenvolvimento vegetal alteradas frequentemente pelas SH (Nardi et al., 2002; Varanini et al., 1993). O crescimento vegetal pode ser definido como o aumento irreversível de tamanho que ocorre nas plantas, em consequência não apenas da divisão celular, mas também do alongamento celular. Já o desenvolvimento se constitui em uma série de fenômenos que vão acontecendo enquanto a planta cresce e que culminam com a maturidade sexual. A soma de ambos os processos (crescimento e desenvolvimento) recebe o nome de ontogênese, que é o conjunto de fenômenos que levam à formação de um indivíduo adulto de uma espécie (Canellas e Santos, 2005).

Nannipieri *et al.* (1983), resumiu os efeitos diretos das SH sobre o metabolismo das plantas que resultariam em um maior crescimento e/ou desenvolvimento das mesmas:

- i) Influência positiva sobre o transporte de íons facilitando a absorção;
- ii) Aumento da respiração e da velocidade das reações enzimáticas do ciclo de Krebs, resultando na maior produção de ATP;
- iii) Aumento no conteúdo de clorofila;
- iv) Aumento na síntese de ácidos nucléicos;
- v) Efeitos sobre a síntese protéica;
- vi) Aumento ou inibição da atividade de várias enzimas

Cabe ressaltar que todos esses efeitos das SH sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal descritos acima não são fáceis de serem explicados, principalmente devido a natureza complexa de sua estrutura.

4.6. *Carica papaya* Lineu (Mamoeiro)

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, é uma espécie diplóide com $2n=18$ cromossomos (Figura 5). Seu centro de origem é, provavelmente, o Noroeste da América do Sul-vertente oriental dos Andes, mais precisamente, a Bacia Amazônica Superior, onde sua diversidade genética é máxima, e por isso é considerado uma planta tropical. Seus frutos apresentam grande importância econômica, alimentícia e social, além de uma ótima aceitação no mercado mundial (Ruggiero et al., 2011).



Figura 5: Plântulas de *Carica papaya* (mamoeiro).

O Brasil representa cerca de 16,67% da produção mundial, com um volume de 1,87 milhão de toneladas de frutos, se classificando assim como um dos principais exportadores de mamão (FAO 2012; Paixão et al., 2012). Dentro deste contexto, merecem destaque os estados da Bahia (principalmente a região Sul), Espírito Santo (principalmente a região Norte), Ceará e Rio grande do Norte (Fontes et al., 2012). Sendo os estados da Bahia e Espírito Santo responsáveis por 70% da produção nacional do fruto (Lima et al., 2007).

O mamoeiro é considerado uma frutífera de crescimento rápido e elevada precocidade, iniciando o florescimento entre três e quatro meses, propiciando as primeiras colheitas a partir do oitavo mês. Embora possa ser propagado assexuadamente por meio de enxertia, estaquia, ou cultura de

tecidos, comercialmente, o mamoeiro é propagado por meio de mudas oriundas de sementes. Em geral, é classificado conforme a característica do fruto, sendo dividido em dois grandes grupos: Solo e Formosa (Santos et al., 2009).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Áreas de estudo e conduções experimentais

A área de estudo onde realizou-se os procedimentos de coleta dos solos utilizados para os ensaios experimentais pertence ao município de Linhares, ES (Bioma mata atlântica), em uma área de referência, preservada (AP), localizada na Reserva Natural Vale (Figura 6) e em uma área degradada (AD), localizada na Fazenda São Marcos, onde estão instalados experimentos realizados pelo Projeto Bioma Mata Atlântica (Figura 7).

O experimento com plantas foi realizado na casa de vegetação da Universidade Vila Velha, complexo biopráticas (Campus Nossa senhora da Penha), em sistema hidropônico no período de janeiro de 2013 a novembro de 2014. Para os testes biológicos (bioatividade das SH) foram utilizadas plântulas de *Carica papaya*, fornecidas pela empresa Caliman, que tem sua matriz localizada na cidade de Linhares - ES, na fazenda Santa Terezinha, Km 111, a 45 Km da sede do município.

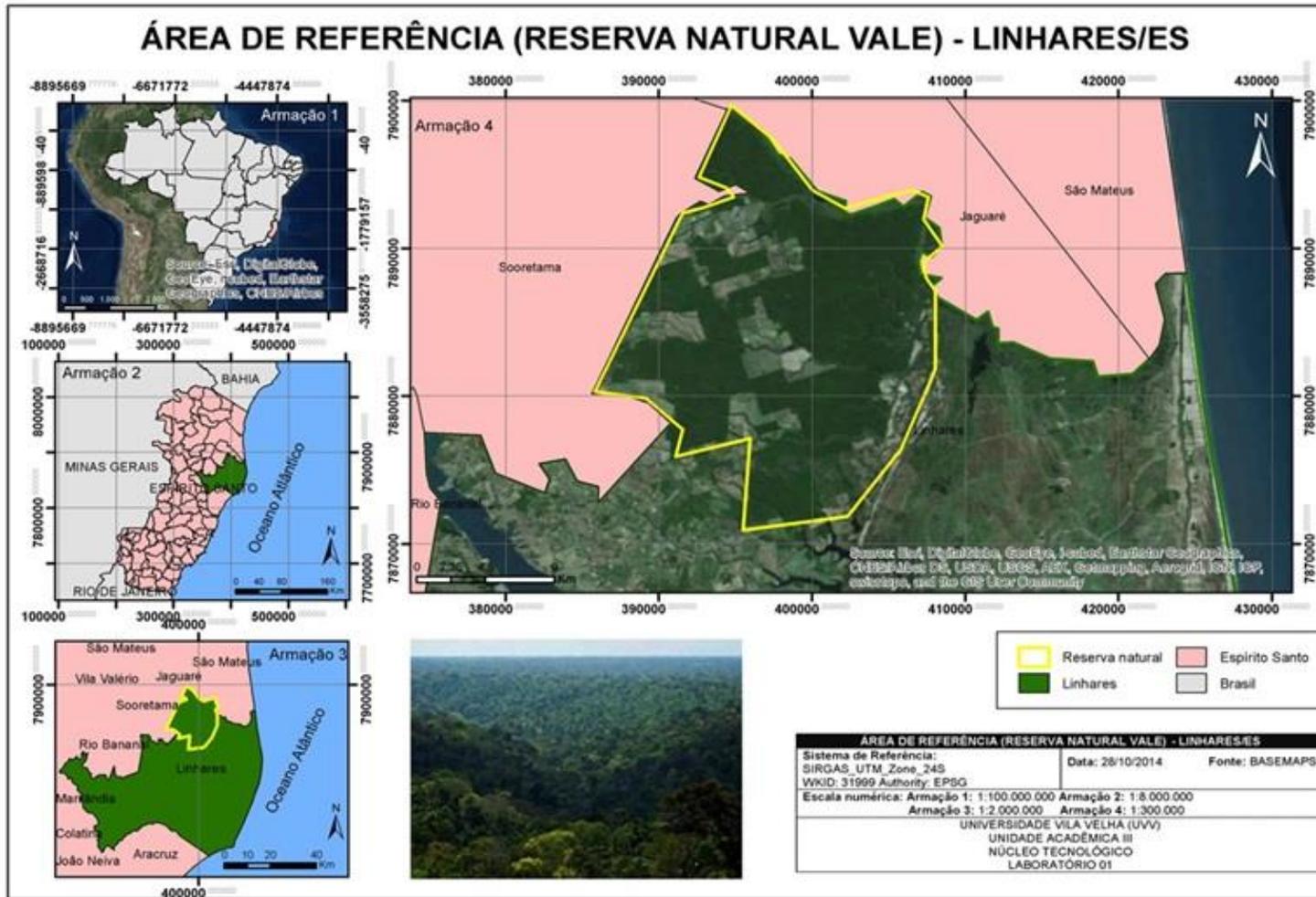


Figura 6: Mapa da área de preservada – Reserva Natural Vale, Linhares/ES.

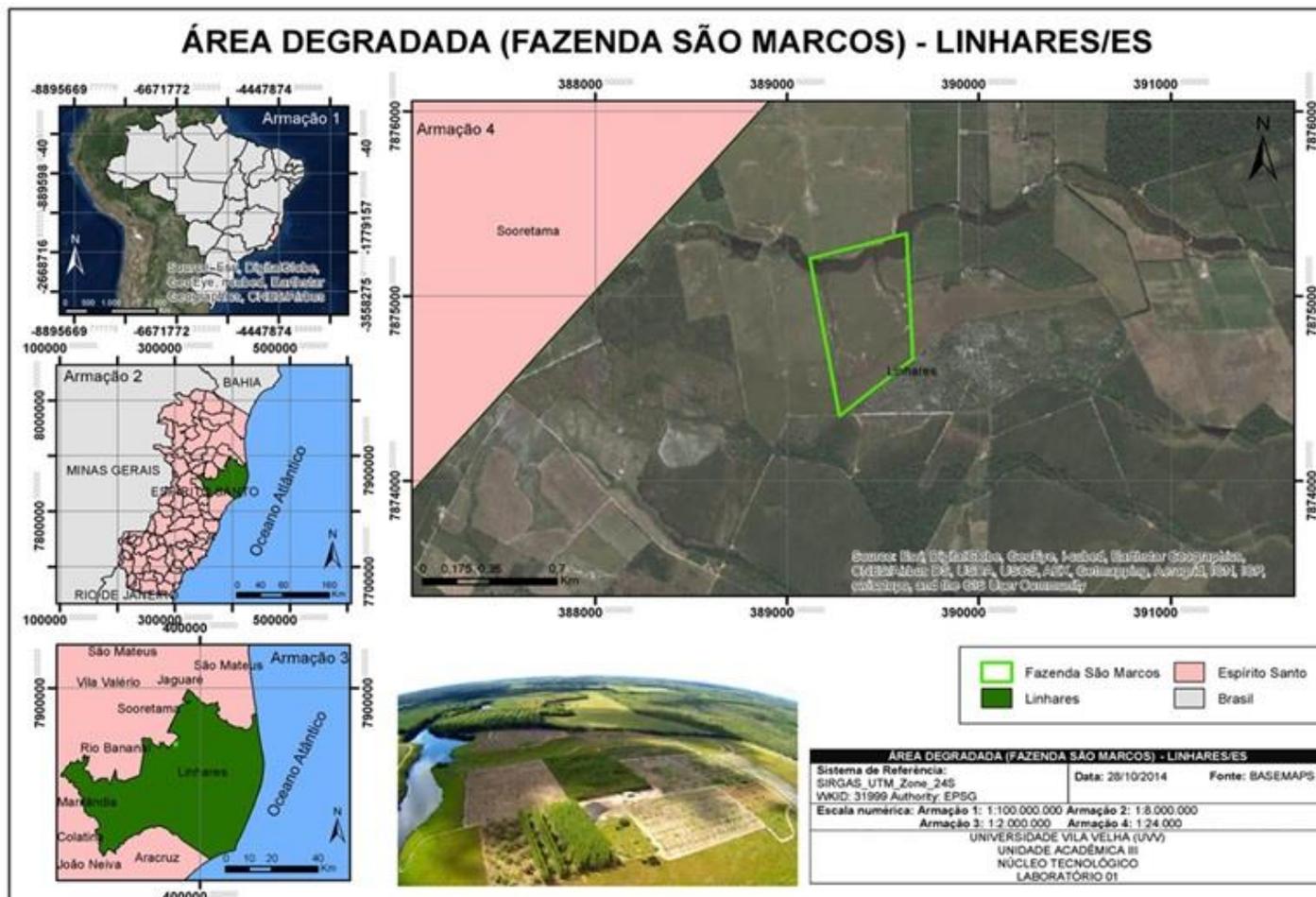


Figura 7: Mapa da área degradada – Fazenda São Marcos, Linhares/ES.

5.2. Amostragem dos solos

As amostras de solos foram coletadas superficialmente (0-20 cm) e subsuperficialmente (20-40 cm) nas respectivas áreas do Bioma Mata Atlântica descritas acima com diferentes níveis de preservação (AP e AD). As coletas foram realizadas com auxílio de um trado holandês, em quatro pontos representativos em zig-zag. Cada ponto foi composto por três amostras homogeneizadas. Desta maneira os pontos para AP e AD foram assim denominados: AP1; AP2; AP3; AP4, e AD1; AD2; AD3; AD4 respectivamente. Todo o material coletado foi armazenado em sacos plásticos devidamente identificados e posteriormente levados para a casa de vegetação da UVV, secos ao ar (TFSA) a sombra, peneirados em malha 2,0 milímetros e armazenados para posteriormente serem utilizados nos procedimentos descritos a seguir.

5.3. Análise de fertilidade

Para a análise de fertilidade, os procedimentos foram realizados uma vez para cada amostra de solo separadamente incluindo o branco/padrão. As análises químicas foram realizadas de acordo com SILVA, 2009.

5.3.1. Determinação de pH:

Colocou-se 10 cm³ de cada amostra de solo em tubo falcon (50 mL), devidamente identificado e foram adicionados 25 mL de água deionizada. Posteriormente, mediu-se o pH e seus respectivos valores foram anotados.

5.3.2. Determinação de acidez potencial ($H + Al^{3+}$)

Foram colocados 5 cm³ da amostra de solo em um erlenmeyer (250 mL) e adicionou-se 75 mL da solução extratora: $(CH_3COO)_2Ca$ 0,5 mol L⁻¹ (1 N, pH = 7,0). Posteriormente agitou-se por 15 minutos em mesa agitadora seguido de repouso de 16 horas. Após esse tempo, pipetou-se 25 mL do sobrenadante e adicionou-se 3 gotas do indicador (fenolftaleína 1%). Ao final, titulou-se com NaOH 0,025 mol L⁻¹ até ocorrer a viragem de incolor para a coloração rosa persistente, e o volume foi devidamente anotado para a realização dos cálculos através da seguinte fórmula:

$$\frac{cmol_c (H + Al^{3+})}{dm^3} = \left(Vol_{NaOH\ 0,025\ \frac{mol}{L}}\ Amostra - Vol_{NaOH\ 0,025\ \frac{mol}{L}}\ Branco \right) \times 1,5$$

5.3.3. Determinação de Al^{3+}

Colocou-se 10 cm³ da amostra de solo em um erlenmeyer (250 mL) e adicionou-se 100 mL da solução extratora, KCl 1 mol L⁻¹ (pH=5,5). Os erlenmeyers foram então agitados por 15 minutos, seguido de repouso por 16 horas. Posteriormente, pipetou-se 25 mL do sobrenadante para um béquer (100 mL) e foi adicionado na solução 3 gotas do indicador (azul de bromotimol 0,1%). Ao final, titulou-se com NaOH 0,025 mol L⁻¹ até ocorrer a viragem da cor de amarelo para azul. O volume foi devidamente anotado para a realização dos cálculos através da seguinte fórmula:

$$\frac{cmol_c Al^{3+}}{dm^3} = \left(Vol_{NaOH\ 0,025\ \frac{mol}{L}}\ Amostra - Vol_{NaOH\ 0,025\ \frac{mol}{L}}\ Branco \right)$$

5.3.4. Determinação de Ca^{2+} e Mg^{2+}

Pipetou-se 25 mL do filtrado utilizado na determinação do alumínio, e adicionou-se 4 mL do coquetel pH 10,0 seguido de 1,0 mL de ácido ascórbico (3%) e 3 gotas do indicador negro de eriocromo T (0,2%). Ao final, titulou-se com EDTANa₂ 0,0125 mol L⁻¹ até ocorrer a viragem da cor vermelha para azul. O volume foi devidamente anotado para a realização dos cálculos através da seguinte fórmula:

$$\frac{cmol_c Ca^{2+} + Mg^{2+}}{dm^3} = \left(Vol_{EDTANa_2\ 0,0125\ \frac{mol}{L}}\ Amostra - Vol_{EDTANa_2\ 0,0125\ \frac{mol}{L}}\ branco \right)$$

5.3.5. Determinação de K^+

Foi colocado 5 cm³ da amostra de solo em um erlenmeyer (125 ml), e adicionou-se 50 mL de solução extratora (HCl 0,05 mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹). Posteriormente, agitou-se por 15 minutos em mesa agitadora seguido de 16 horas de repouso. No dia seguinte, o material foi filtrado em papel de faixa azul (filtragem lenta).

Foi realizada a leitura das soluções padrão e das amostras no fotômetro de chama. Todos os valores foram devidamente anotados e correlacionados mediante a uma equação de regressão linear do tipo: $y = ax + b$

Sendo:

Y= leitura obtida no fotômetro de chama

x = Concentração de K^+ nas soluções padrão (0, 3, 6, 9, 15 $\mu g K^+/mL$)

a e b = coeficientes de regressão

A partir da obtenção dos valores pela regressão, foi realizado o cálculo da concentração final de K^+ das amostras através da seguinte fórmula:

$$K \text{ (ppm)} = \frac{(\text{Leitura}-b)}{a} \times \frac{50 \text{ ml}}{5 \text{ cm}^3}$$

5.3.6. Determinação de P

Primeiramente foi realizada a leitura dos padrões conhecidos de P (0,5, 1, 2, 3 e 4 $\mu g P mL^{-1}$). Para este procedimento, pipetou-se 5 mL de cada solução padrão para um béquer e foi adicionado 10 mL da solução reagente diluída e 1 mL de ácido ascórbico (3%). Após a adição de todos os reagentes, as amostras foram devidamente agitadas. O 'ponto zero' da curva padrão foi feito com a solução de Mehlich I ($HCl 0,05 \text{ mol L}^{-1} + H_2SO_4 0,0125 \text{ mol L}^{-1}$ (0,025 N), com a qual o espectrofotômetro foi zerado. Após 60 minutos de repouso, foi realizada a leitura em 660 nm.

5.3.7. Determinação de matéria orgânica- Método de Walkley - Black

Colocou-se 0,5 g das amostras secas e peneiradas (0,50 mm) em um erlenmeyer (500 mL) e adicionou-se 10 mL de dicromato de potássio (0,166 mol L^{-1}). Posteriormente, adicionou-se 20 mL de ácido sulfúrico (P.A), agitou-se a solução e a colocou em repouso por aproximadamente 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 200 mL de água purificada, 20 mL de ácido fosfórico (P.A) e 1 mL do indicador (difenilamina 0,16%).

Ao final, titulou-se as amostras com sulfato ferroso até ocorrer a viragem para a cor verde, e o volume foi devidamente anotado para a realização dos cálculos através da seguinte fórmula:

$$M.O._{total} (\%) = 10 \times \left(1 - \frac{A}{B} \right) \times 1,34$$

Sendo,

A= Volume utilizado na titulação da amostra

B= Volume utilizado na titulação do branco

5.4. Fracionamento da matéria orgânica do solo

5.4.1. Fracionamento:

Pesou-se 2,0 gramas das amostras de solo em tubo falcon (50 mL), e adicionou-se 40 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) 2 mol L^{-1} . Em seguida, agitou-se por 2 horas em mesa agitadora e centrifugou-se por 15 minutos. O sobrenadante (ácido fúlvico livre - AFL) foi filtrado, e todo o material retido no filtro de papel foi seco em estufa a 60°C para a determinação de matéria orgânica leve. Adicionou-se 40 mL de água deionizada no tubo falcon com o material precipitado, agitou-se por 30 minutos e centrifugou-se por 15 minutos. Este procedimento de lavagem foi realizado duas vezes. Em seguida, foi adicionado 40 mL de NaOH (0,1 mol L^{-1}), agitou-se por 4 horas e centrifugou-se por 15 minutos. O sobrenadante (substâncias húmicas - SH) foi coletado e condicionado em béquer devidamente identificado. Este procedimento foi repetido até o sobrenadante atingir uma cor clara, o que indica que toda SH foi extraída. O precipitado (humina) foi colocado para secar em estufa (60°C) e em seguida macerada. Coletou-se 40 mL da SH, e ajustou-se o pH da solução para 1,0-1,5 para separar ácido fúlvico (sobrenadante - AF) e ácido húmico (precipitado - AH).

5.4.2. Titulação de C nas frações humificadas:

Coletou-se 25 mL da fração de AFL, AF e SH e transferiu-se para um erlenmeyer (250 mL) separadamente. À amostra foram adicionados 5,0 mL de dicromato (0,166 mol L^{-1}) e 10 mL de H_2SO_4 (P.A.) e após este processo deixou-se em repouso por um período de 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 100 mL de H_2O deionizada, 5 mL de ácido fosfórico (P.A.) e 0,5 mL de

difenilamina (0,16%). Ao final, titulou-se com sulfato ferroso amoniacal (aproximadamente $0,25 \text{ mol L}^{-1}$) até ocorrer a viragem da cor azul para o verde, e o volume foi devidamente anotado para a realização dos cálculos através das seguintes fórmulas:

Ácido Fúlvico e Substância Húmica:

$$Eq_{K_2Cr_2O_7} = 6 \cdot Conc_{K_2Cr_2O_7} \cdot Vol_{K_2Cr_2O_7}$$

PS.: Concentração em mol L^{-1} . Para normalidade, não utilizar o fator de 6.

$$C \left(\frac{mg}{g_{solo}} \right) = \frac{\left[Eq_{K_2Cr_2O_7} - \left(\frac{Eq_{K_2Cr_2O_7}}{Vol_{FeBranco}} \right) \cdot Vol_{FeAmostra} \right] \cdot \frac{12}{4} \cdot \frac{Vol_{FinalExtração}}{Vol_{AliquotaTit}} \cdot \frac{100}{77}}{Massa_{Solo}}$$

Ácido húmico:

$$AH = SH - AF$$

Humina:

$$Eq_{K_2Cr_2O_7} = 6 \cdot Conc_{K_2Cr_2O_7} \cdot Vol_{K_2Cr_2O_7}$$

PS.: Concentração em mol L^{-1} .

$$C \left(\frac{mg}{g_{humina}} \right) = \frac{\left[Eq_{K_2Cr_2O_7} - \left(\frac{Eq_{K_2Cr_2O_7}}{Vol_{FeBranco}} \right) \cdot Vol_{FeAmostra} \right] \cdot \frac{12}{4} \cdot \frac{100}{77}}{Massa_{Humina}}$$

$$C \left(\frac{mg}{g_{solo}} \right) = \frac{\left[Eq_{K_2Cr_2O_7} - \left(\frac{Eq_{K_2Cr_2O_7}}{Vol_{FeBranco}} \right) \cdot Vol_{FeAmostra} \right] \cdot \frac{12}{4} \cdot \frac{Massa_{TotalHumina}}{Massa_{TitHumina}} \cdot \frac{100}{77}}{Massa_{Solo}}$$

5.5. Extração das SH e purificação dos AH

A extração das SH alcalino-solúveis foi realizada com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, na razão substrato orgânico:solvente de 1:10 (m/v) em atmosfera inerte de N_2 . A extração foi repetida até a obtenção de um extrato com absorbância igual a zero em 250 e 465 nm. Foram necessários, em média, 5 extrações da matéria

orgânica. A separação dos AH foi conseguida com o abaixamento do pH da solução até 1,0 com HCl 6 mol L⁻¹. A redissolução e precipitação foram repetidas três vezes. Em seguida, adicionou-se 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), agitou-se a amostra durante oito horas. Os AH foram então lavados com água deionizada até teste negativo com AgNO₃ e em seguida dialisados contra água deionizada em membranas com poros de 14 kDa e secos por liofilização.

Análises químicas e espectroscópicas dos AH

5.6. Composição elementar (CHN)

A composição elementar (C, H e N) dos AH isolados da matéria orgânica dos solos do bioma Mata Atlântica estudados foi obtida após análise em um auto-analisador CHN Perkin Elmer (14.800) com amostras de 4,0 mg de AH em triplicata. O teor de oxigênio foi obtido por diferença e o de cinzas pela incineração de 50 mg dos materiais a 700° C durante 8 horas. Após a obtenção dos valores de C, H, N e O (em %) foram calculadas as relações atômicas (C/N; H/C e O/C).

5.7. Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (IV-TF)

Para o início desta análise primeiramente foram secos 200 g de brometo de potássio (KBr) em estufa a 180°C por 48 horas.. As amostras de AH foram maceradas juntamente com o KBr (1%) e prensadas manualmente para a confecção da pastilha. Utilizou-se o equipamento 'VARIAN' para leitura das pastilhas. Os espectros de IV-TF dos AH foram obtidos no intervalo de 400 cm⁻¹ a 4.000 cm⁻¹. Durante a leitura dos espectros de IV-TF realizou-se a correção automática da linha base em 4.000, 2.000 e 400 cm⁻¹, igualando-se a zero. Posteriormente, todos os resultados foram trabalhados no programa OriginPro 8, para a confecção dos espectros.

5.8. Efeito dos AH sobre o crescimento vegetal: detalhamento do experimento em casa de vegetação

Montagem do experimento: Obtenção da melhor dose

As plântulas de *Carica papaya* foram devidamente padronizadas e selecionadas de acordo com as seguintes características: tamanho de 3 cm, dois pares de folhas e mesmo padrão de enraizamento. Em seguida, foram transferidas para vasos plásticos identificados de acordo com os tratamentos, com capacidade de 1,2 L. Os tratamentos continham solução nutritiva de hogland meia força iônica + a dose de AH e o controle, apenas solução nutritiva (Hogland, meia força iônica). O pH das soluções foram ajustados para 5,8.

Para cada ponto (AP1, AP2, AP3, AP4 e AD1, AD2, AD3, AD4) e o controle positivo: vermicomposto (V) foram testadas as doses de 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C L⁻¹ do seu respectivo AH em triplicata para obtenção da melhor dose. Totalizando assim 111 vasos, cada um com cinco plântulas de *C. papaya*, que permaneceram nos seus respectivos tratamentos por 15 dias sob constante aeração com auxílio de mini-compressores (Figura 8).



Figura 8: Imagem representativa da condução experimental em casa de vegetação.

Ao completar o período de exposição estipulado das plântulas aos seus respectivos tratamentos (15 dias), realizou-se a coleta do experimento para a determinação da massa fresca radicular e foliar. Após a análise de regressão foi determinada a melhor dose de estímulo às plântulas, através da integração da curva de dose resposta, obtendo-se uma média das doses ótimas radiculares e foliares. Após o ensaio de doses, foi conduzido um novo experimento, porém utilizando-se a concentração ótima de cada AH e então avaliados os seguintes atributos: massa fresca e seca das raízes e parte aérea e área radicular e foliar.

5.9. Avaliações dos aspectos morfológicos de *Carica papaya* após experimento com as melhores doses obtidas

5.9.1. Determinação da massa fresca e seca da parte aérea e das raízes

Após os 15 dias de permanência nos tratamentos, as plantas foram coletadas e separadas em parte aérea e raízes. Foi realizado o peso fresco em balança analítica de precisão imediatamente após a coleta, e logo após, mantidas em estufa de secagem com circulação de ar forçado a 60 °C até peso constante. Após esse procedimento realizou-se a pesagem para obtenção massa seca dos diferentes órgãos vegetais.

5.9.2. Análise da área radicular e foliar

A análise da área radicular foi realizada por meio do processamento eletrônico de imagens. Para isso, foram tomadas amostras de imagens das raízes das plântulas (com resolução de 300 dpi) e convertidas a preto e branco 1 bit. Para a determinação das áreas foliar e radicular utilizou-se o programa digital de análise de imagens Delta T Scan (Delta-T Devices, Cambridge, UK) (Baldotto *et al.*, 2011).

5.10. Análise nutricional de plântulas de *Carica papaya* L.

5.10.1. Digestão das amostras

Todas as plântulas foram secas em estufa (60°C), maceradas e separadas de acordo com o seu respectivo tratamento em raiz e parte aérea. Posteriormente, pesou-se 0,300 g e 0,100 respectivamente das partes aéreas e das raízes dos em tubos devidamente identificados para o início do processo da digestão.

Para iniciar o processo de digestão, adicionou-se em cada tubo 8 mL de ácido nítrico (P.A) e 2 mL de ácido clorídrico (P.A), e com o auxílio de uma chave especializada, estes tubos foram fechados ao nível máximo e colocados por 30 minutos em um micro-ondas especializado (Mars CEM). Em seguida, após esfriar o material, tirou-se a pressão e transferiu-se a amostra para um balão volumétrico (50 mL) e então completado o volume com água mili-q.

5.10.2. Determinação dos teores de nutrientes por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES)

A determinação de nutrientes minerais foram quantificados por meio do Espectrômetro de Emissão Atômica (ICP-AES), conforme procedimento descrito em nota técnica do equipamento.

5.11. Delineamento experimental e análises estatísticas

Para todos os experimentos, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez tratamentos e cinco repetições. No caso do ensaio biológico com plântulas de mamoeiro foram utilizadas cinco plântulas de *Carica papaya* por repetição. Após a constatação de que os dados eram paramétricos foi realizada uma análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$) pelo programa SISVAR da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Fertilidade dos solos

As amostras de solo apresentaram valores relativamente baixos de pH em água, evidenciando acidez tanto nas áreas preservadas, cobertas por fragmentos de mata atlântica, quanto nas áreas degradadas (Tabela 1). Miranda et al., 2007 encontraram resultados semelhantes ao comparar uma área de fragmento de mata atlântica, com áreas de plantio abandonado de eucalipto.

Ao se comparar os solos das duas diferentes áreas: preservada (AP) e degradada (AD), observa-se que a AP apresentou o pH mais ácido, acompanhado de um teor mais elevado de alumínio trocável e, de acordo com trabalhos de Cerri e Volkoff (1988), esses fatores podem, posteriormente, estarem relacionados com a diminuição da bioatividade, já que apresentam menor teor de cátions trocáveis.

É possível observar um alto teor de carbono (C), associado a alto conteúdo de matéria orgânica (MO) nas amostras de solo referentes a AD (Tabela 1). Alguns trabalhos encontrados na literatura mostram que devido ao alto conteúdo de MO, principalmente proporcionada pelas raízes das gramíneas, nas camadas superficiais (até 40 cm), os solos sob pastagem apresentam teores iguais ou superiores de C quando comparados a mata nativa, conforme constatado neste trabalho (Neill et al., 1997; Tarré et al., 2001; Balieiro et al., 2008).

Algumas características externas como, temperatura, deficiência de água, anaerobiose, inibem a ação dos micro-organismos, podendo assim favorecer este acúmulo de MO. De uma maneira geral, o material orgânico oriundo de plantas forrageiras tropicais apresentam baixas taxas de decomposição devido à presença de alguns compostos como a lignina e polifenóis, que são considerados resistentes à degradação. Sendo assim, é possível que esse aumento de C, e MO, encontrado nas amostras de solo da AD quando comparado a AP, pode estar mais relacionado com a qualidade do material orgânico a ser degradado do que a quantidade de material produzido nos dois ambientes de estudo (Costa et al., 2009).

Tabela 1: Tabela de fertilidade em solos do Bioma mata atlântica em duas áreas de diferentes níveis de preservação: Preservada (AP) e degradada (AD).

Amostra	pH	P	K	C	H+Al ³⁺	Al ³⁺	Ca ²⁺ + Mg ²⁺	K	SB	T	T	MO	V	m
	H ₂ O	ppm	ppm	mg g ⁻¹				Cmolc					(%)	
AP1 0-20	4,09	3,63	77,04	30,33	17,82	3,29	0,60	0,20	0,80	4,09	18,62	5,23	4,28	80,50
AP2 0-20	4,26	4,67	103,96	25,78	15,89	2,71	1,70	0,27	1,97	4,68	17,85	4,44	11,01	57,96
AP3 0-20	4,27	9,06	83,77	25,78	14,15	2,23	1,65	0,21	1,86	4,09	16,01	4,44	11,64	54,44
AP4 0-20	3,95	5,86	70,31	29,95	17,66	3,78	0,70	0,18	0,88	4,66	18,53	5,16	4,75	81,11
AP1 20-40	4,13	2,74	85,45	25,78	16,17	3,56	0,50	0,22	0,72	4,28	16,89	4,44	4,25	83,21
AP2 20-40	4,25	4,00	90,50	24,26	14,51	2,52	1,35	0,23	1,58	4,10	16,09	4,18	9,83	61,44
AP3 20-40	4,26	4,37	139,29	23,88	12,84	2,35	1,35	0,36	1,71	4,05	14,55	4,12	11,73	57,91
AP4 20-40	4,05	3,85	53,48	27,30	17,48	3,74	0,65	0,14	0,79	4,53	18,26	4,71	4,31	82,62
AD1 0-20	4,21	6,01	41,70	75,67	8,33	1,09	0,60	0,11	0,71	1,79	9,03	13,05	7,82	60,58
AD2 0-20	5,32	3,56	95,54	73,03	7,10	0,46	2,75	0,24	2,99	3,45	10,09	12,59	29,68	13,22
AD3 0-20	4,24	6,68	85,45	73,53	14,94	1,99	2,70	0,22	2,92	4,91	17,86	12,68	16,34	40,54
AD4 0-20	5,02	2,51	53,48	75,10	8,22	1,15	2,00	0,14	2,14	3,28	10,36	12,95	20,63	34,95
AD1 20-40	4,31	4,52	26,56	76,42	5,78	0,69	0,55	0,07	0,62	1,31	6,39	13,18	9,67	52,83
AD2 20-40	5,38	2,44	78,72	73,86	6,83	0,53	2,45	0,20	2,65	3,19	9,48	12,73	27,98	16,76
AD3 20-40	4,35	7,72	105,64	72,54	16,02	1,55	2,95	0,27	3,22	4,77	19,24	12,51	16,74	32,47
AD4 20-40	4,98	3,11	34,97	76,00	8,19	1,04	1,85	0,09	1,94	2,98	10,13	13,10	19,15	34,99

6.2. Fracionamento e índices de qualidade da matéria orgânica

Nas distribuições das frações húmicas a maior parte de carbono humificado, foi composta pela fração humina (C_{HUM}) tanto na AP quanto na AD, com diferenças significativas, independente da profundidade (Tabela 2 e 3).

Tabela 2: Distribuição das frações húmicas na área preservada (AP) e degradada (AD) na profundidade de 0-20 cm. Médias seguidas de letras minúsculas indicam que há diferença significativa entre as médias pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Amostras	C_{TOTAL}	C_{AF}	C_{AH}	C_{HUM}
	g kg ⁻¹ solo			
AP1 (0-20 cm)	30,33	1,60	2,88	10,66
AP2 (0-20 cm)	25,78	1,44	3,04	11,99
AP3 (0-20 cm)	25,78	1,61	2,62	10,59
AP4 (0-20 cm)	29,95	1,82	3,23	8,83
MÉDIA	27,96 b	1,62 a	2,94 a	10,52 a
AD1 (0-20 cm)	75,67	0,20	0,51	2,53
AD2 (0-20 cm)	73,03	0,81	1,52	5,07
AD3 (0-20 cm)	73,53	0,88	3,52	7,63
AD4 (0-20 cm)	75,10	0,88	1,58	6,60
MÉDIA	74,33 a	0,69 b	1,78 b	5,46 b

Tabela 3: Distribuição das frações húmicas na área preservada (AP) e degradada (AD) na profundidade de 20-40 cm. Médias seguidas de letras minúsculas indicam que há diferença significativa entre as médias pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Amostras	C_{TOTAL}	C_{AF}	C_{AH}	C_{HUM}
	g kg ⁻¹ solo			
AP1 (20-40 cm)	25,78	1,12	2,40	9,46
AP2 (20-40 cm)	24,26	1,76	2,72	8,79
AP3 (20-40 cm)	23,88	1,82	2,02	9,08
AP4 (20-40 cm)	27,30	1,61	3,03	9,08
MÉDIA	25,31 b	1,58 a	2,54 a	9,10 a
AD1 (20-40 cm)	76,42	0,20	0,30	4,05
AD2 (20-40 cm)	73,86	0,71	0,61	4,43
AD3 (20-40 cm)	72,54	0,70	2,29	6,02
AD4 (20-40 cm)	76,00	0,53	1,23	4,40
MÉDIA	74,70 a	0,54 b	1,11 b	4,73 b

Portanto, ao comparar as duas áreas, os valores do C humina na área preservada (AP) variou entre 37,61% e 35,96% e na área degradada (AD) entre 7,34% a 6,33% nas profundidades de 0-20 cm e 20-40 cm respectivamente. Em diversos estudos de solos tropicais também observou-se o predomínio da fração humina em relação as outras frações húmicas (Assis et al., 2006; Fontana et al., 2006; Miranda et al., 2007; Rossi et al., 2011).

A fração humina apresenta natureza essencialmente alifática, está fortemente associada a fração mineral do solo e é bastante resistente a degradação microbiana (Rossi et al., 2011). Alguns fatores que podem contribuir com a intensificação da formação de humina em solos tropicais estão relacionados com a natureza oxídica da fração mineral e as reações de desidratação favorecidas pela alternância de períodos secos e úmidos (Canellas, 2003; Miranda et al., 2007). De acordo com Canellas et al., 2003, valores menores que 45% na fração C_{HUM} , indicam estágio fraco de humificação da MOS, conforme observado para as duas áreas estudadas nessa dissertação.

Desta maneira, ao compararmos as duas áreas, podemos observar diferenças significativas, e um baixo valor da fração C_{HUM} em relação ao C total principalmente na AD, que pode ser explicado pela característica particular desta apresentar o húmus pouco evoluído, típico de ambientes com fortes restrições à atividade microbiana, já que se trata de uma área de pastagem, de alta compactação de solo e presença de hidromorfismo.

Além disso, as demais vias de humificação, como a de insolubilização, que é a humificação dos compostos fenólicos solúveis, e a neo-síntese microbiana, representada pela humificação das moléculas simples através da síntese microbiana, necessitam altamente de oxigênio (O_2) para manter a atividade do solo. Assim, devido as características que representam a AD citadas acima, contribuem para que seja um ambiente pobre em O_2 , dificultando assim a atividade biológica e consequentemente o processo de mineralização e humificação da MOS.

As frações de Carbono ácido húmico (CAH) e carbono ácido fúlvico (CAF), também foram maiores na AP significativamente, quando comparado com AD (Tabela 2 e 3). O conteúdo de CAH variou entre 10,52% e 10,04% na AP, e de 2,40% e 1,48% na AD. Já a fração CAF para a AP variou de 5,78% e 6,23% e para AD, 0,93% e 0,72% nas profundidades de 0-20 cm e 20-40 cm respectivamente. Possivelmente, estas maiores frações CAH e CAF encontradas na AP estão

associadas a menores perturbações oriundas de práticas de manejo, fazendo com que o processo erosivo seja minimizado proporcionando assim que este ambiente consiga manter um maior estoque de C nessas frações (Lima, 2008).

Em relação a condensação da matéria orgânica solúvel (C_{AH}/C_{AF}), não foi observado diferenças significativas entre as áreas estudadas de diferentes níveis de preservação tanto em profundidades de 0-20 cm quanto de 20-40 cm. De acordo com a interpretação de Labrador Moreno (1996), valores superiores a unidade (1,0) conforme foi encontrado neste trabalho são considerados normais e indicam uma boa evolução da matéria orgânica (Figura 9).

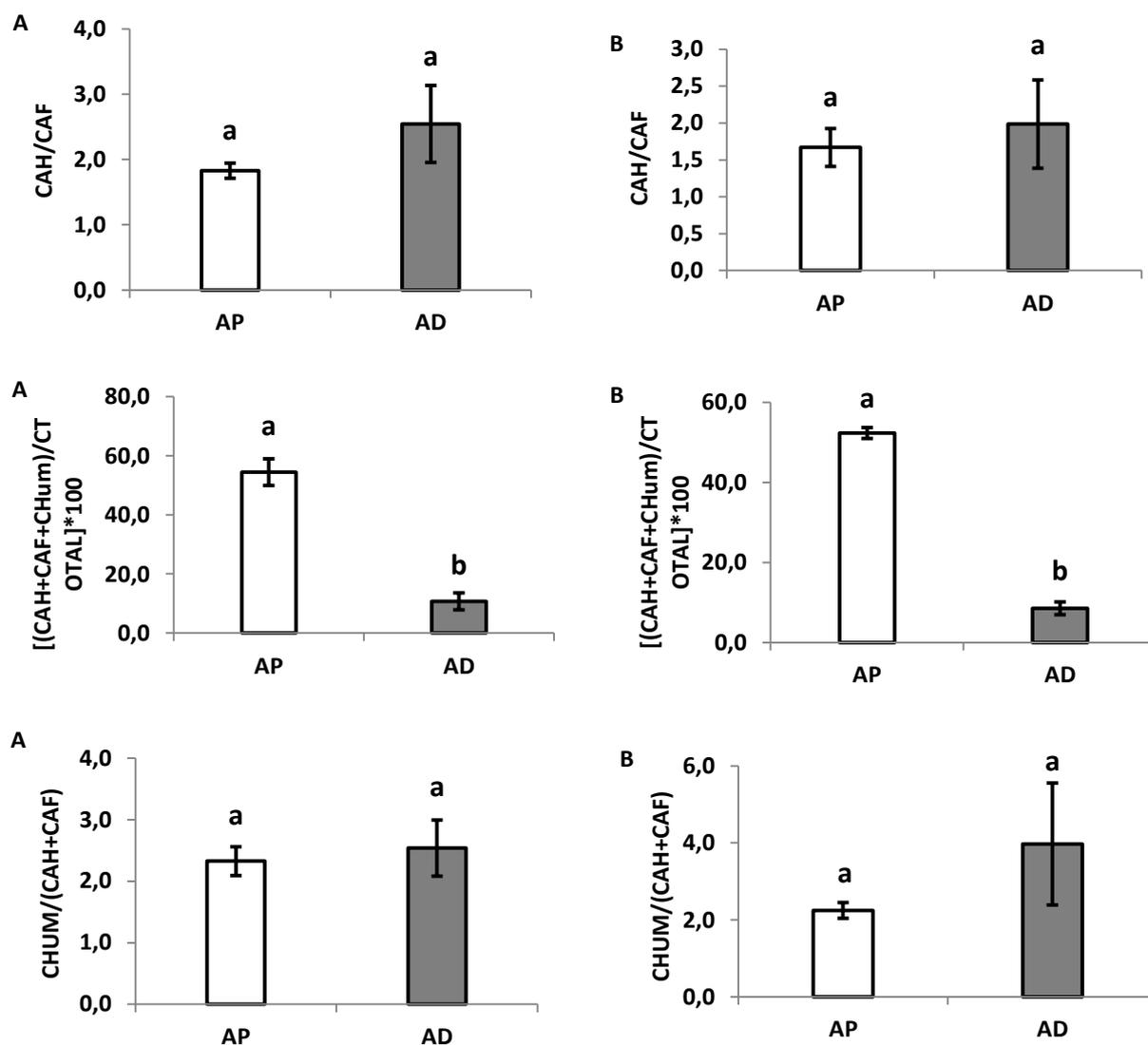


Figura 9: índices de qualidade da matéria orgânica. A Relação CAH/AF representa o grau de condensação da matéria orgânica, o índice CHUM/(CAH+CAF) a estabilidade estrutural da MO, e o [(CAH+CAF+CHum)/CTOTAL]*100 (Grau de humificação da MO). A letra A, indica profundidade de 0-20 cm, e B, profundidade de 20-40 cm. Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas indicam que há diferença significativa entre as médias pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao grau de humificação da matéria orgânica avaliado pelo índice $\left(\frac{[(CAH+CAF+CHum)]}{CTOTAL} \cdot 100\right)$, nota-se que existem diferenças significativas entre as duas áreas nas duas profundidades. A área degradada (AD) apresentou valores bastante inferiores quando comparado a área preservada (AP), isto se deve possivelmente por ser uma se tratar de uma área ainda em processo de recuperação, onde os resíduos orgânicos presentes no solo ainda não tiveram tempo de evoluir (Labrador Moreno, 1996) (Figura 9). Para estabilidade estrutural da matéria orgânica $CHUM/(CAH+CAF)$, não houve diferença significativa entre as áreas estudadas nas duas profundidades (0-20 e 20-40 cm). De acordo com Labrador Moreno (1996), quanto mais elevado o valor deste índice melhor, porém, é preciso avaliar mais sua evolução do que os valores absolutos propriamente ditos.

6.3. Análise química e espectroscópica dos AH

6.3.1. Composição elementar

Os resultados da análise de composição elementar dos AH e suas respectivas razões atômicas (C/N, H/C e O/C) calculadas estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Composição elementar e razões atômicas dos ácidos húmicos. Médias seguidas de minúsculas iguais indicam que não há diferença significativa entre as médias pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

AH	C	H	N	O	C/N	H/C	O/C
	%				Razão atômica		
AP1	49,69	4,61	6,00	67,72	9,66	1,11	1,02
AP2	44,33	4,65	6,33	69,74	8,17	1,26	1,18
AP3	45,80	6,17	6,39	60,27	8,36	1,62	0,99
AP4	44,91	7,08	6,19	65,55	8,46	1,89	1,09
MÉDIA AP	46,18 a	5,63 a	6,23 a	65,82 a	8,66 a	1,47 a	1,07 a
DP*	2,42	1,21	0,17	4,08	0,68	0,35	0,09
AD1	40,85	6,43	6,97	66,76	6,83	1,89	1,23
AD2	45,45	6,77	5,76	61,91	9,20	1,79	1,02
AD3	45,58	5,54	6,44	64,30	8,26	1,46	1,06
AD4	45,60	7,38	5,57	68,94	9,55	1,94	1,13
MÉDIA AD	44,37 a	6,53 a	6,19 a	65,48 a	8,46 a	1,77 a	1,11 a
DP*	2,35	0,77	0,64	3,04	1,21	0,22	0,09
AHV	50,98	6,81	5,85	58,60	10,18	1,60	0,86

*Desvio padrão da média

As razões atômicas tem sido utilizadas indiretamente para descrever o grau de condensação, a fonte de matéria orgânica e as condições ambientais sob as quais elas foram formadas (Rice e MacCarthy, 1991; Cunha et al., 2007). Além disso, também são consideradas um indicador simples do comportamento químico das SH (Canellas et al., 1999). A relação C/N indica o grau de incorporação de N na estrutura das SH, que influi diretamente no seu grau de humificação. A razão H/C é considerada como índice de aromaticidade, e a relação O/C permite estimar a abundância de oxigênio contido em grupamentos funcionais (Stevenson, 1994).

De uma maneira geral, a composição elementar dos AH expressa em %C, %H, %N e %O não mostrou padrões diferenciados entre os diferentes solos. Os valores do %C ficaram entre 44,37% e 50,98%, %H entre 5,63% e 6,81%, %N entre 5,85% e 6,23% e %O, entre 58,60% e 65,82%.

Stevenson (1994) sugeriu que quando a razão C/N está entre 10 e 12, é um indicativo de intensa estabilidade biológica. Nessa dissertação todos os AH estudados, com exceção do vermicomposto, apresentaram o valor desta relação abaixo da faixa sugerida, indicando material humificado disponível ao ataque biológico (Miranda et al., 2007). Em relação a razão atômica relacionado a H/C, valores superiores a 1, indicam maior contribuição de componentes alifáticos (alifaticidade) das SH (Steelink, 1985; Canellas et al., 2005) , indicando também a presença de material com característica apolar nos AH, típicos de SH pouco evoluídas estruturalmente. Neste estudo a natureza alifática foi bem evidente, já que para todas as amostras a razão H/C foram superiores a 1. Por sua vez, valores da relação O/C maiores que 0,5, conforme verificado para os AH deste trabalho, indicam a presença de maior quantidade de grupos funcionais oxigenados como COOH e carboidratos (Fontana, 2010 b). Em um trabalho realizado por Miranda et al., 2007, foi verificado resultados semelhantes ao encontrado nessa dissertação quanto às relações H/C e O/C. Para ambas as razões os valores foram superiores ao estipulado, independente da cobertura vegetal e da profundidade do solo.

6.3.2. Espectroscopia de infravermelho

Os diferentes grupamentos funcionais de uma mistura heterogênea de compostos químicos com predominância de grupamentos ácidos podem ser facilmente analisados por meio da espectroscopia na região do infravermelho com

transformada de Fourier (IV-TF), que é capaz de caracterizar vibrações de estiramento e deformações de ligações químicas entre átomos que apresentem momento dipolo diferente de zero (Coulthup et al., 1964). Portanto, a espectroscopia de IV-TF é especialmente útil para a observação de grupamentos funcionais oxigenados. A Figura 10 apresenta os espectros de IV-TF dos AH isolados de diferentes áreas do Bioma Mata atlântica e de vermicomposto.

Os espectros apresentaram perfil típico de ácidos orgânicos fracos e polipróticos (com mais de um hidrogênio ionizável) (Coulthup et al., 1964). De um modo geral, os espectros de AH apresentam aproximadamente nove bandas de absorção bem definidas e comum a todos: uma banda de absorção intensa e forte próximo a 3380 cm^{-1} (variando de 3346 a 3396 cm^{-1}), devido ao estiramento de ligações O-H de vários grupos hidroxilados, mas, principalmente, ácidos carboxílicos capazes de fazer ligações hidrogênio que alteram a frequência de estiramento, provocando o alargamento da banda de absorção, bastante evidente nas amostras da AP e de vermicomposto; uma banda pouco evidente aguda de absorção centrada em 2929 cm^{-1} devida ao estiramento simétrico de ligações C-H, principalmente de grupos metilas (CH_3); banda de absorção forte com centro em 1716 cm^{-1} (variando entre 1722 cm^{-1} e 1712 cm^{-1}), mais evidente nos AH isolados de AP e de vermicomposto, atribuída genericamente à presença de carbonilas ($\text{C}=\text{O}$) em cetonas e aldeídos; uma banda de absorção centrada em 1533 cm^{-1} , devido a estiramentos C-C de anéis aromáticos (indicador da presença de ligninas) e sistemas $\text{N}=\text{C}$ conjugados, principalmente na AD.

Uma banda com centro em 770 , indicando presença de anel aromático e grupos etila nas amostras de AD; outra pouco evidente com centro em 1390 ($1390 - 1370$) indicando presença de CH_3 , nas amostras de AD e V; e mais uma em 2960 presente em todos os AH, indicando presença de carbono alifático, possivelmente possuem influencia sobre a bioatividade dos AH uma vez que tais bandas tem uma relação positiva e direta com o grau de hidrofobicidade (bandas aromáticas mais bandas alifáticas) dos materiais húmicos, reconhecida como a principal característica química responsável pelo estímulo húmico sobre plantas (Dobbss et al., 2010; Canellas et al., 2010, Canellas et al., 2012).

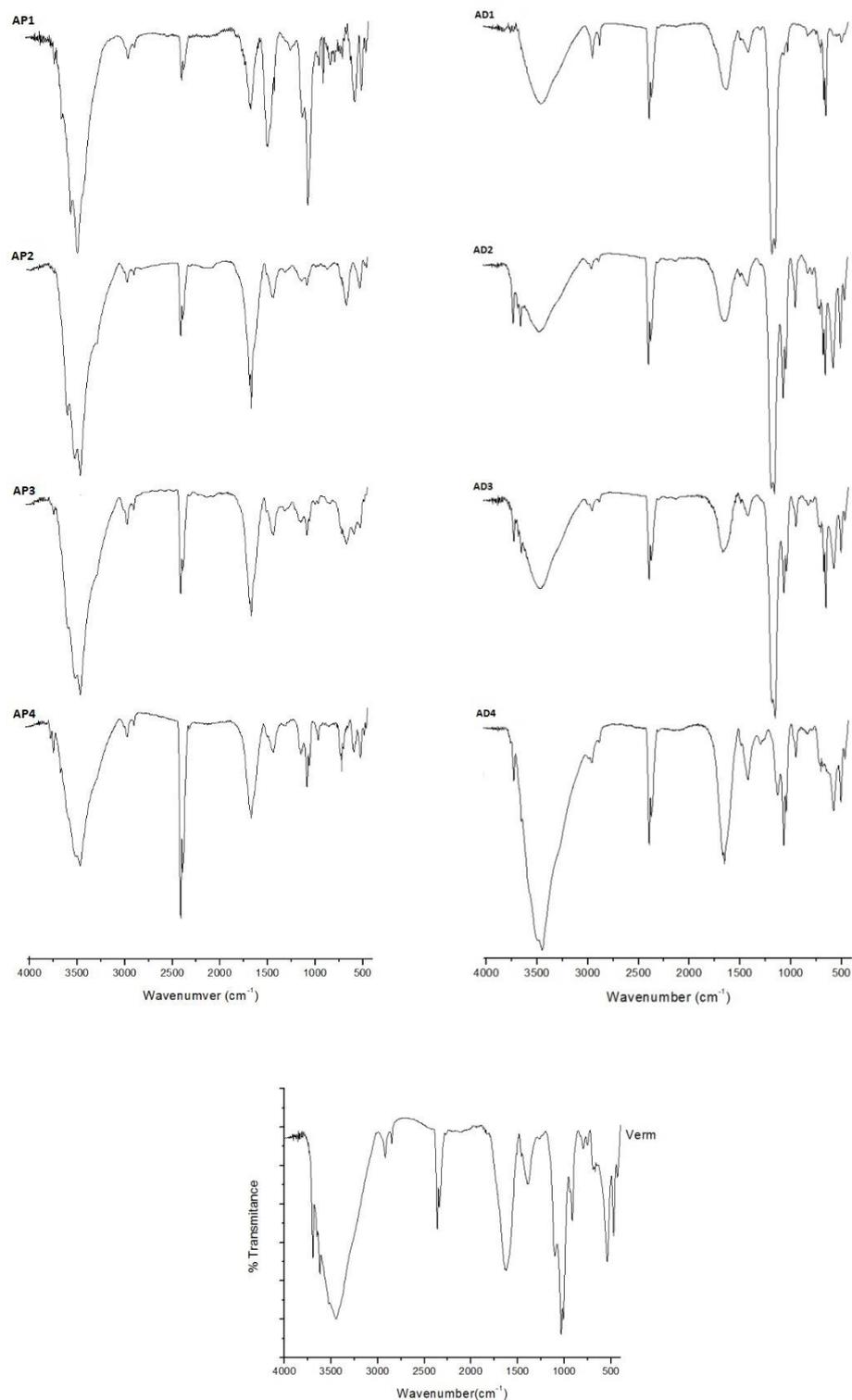


Figura 10: Espectros da região do infravermelho obtidos com transformada de Fourier dos ácidos húmicos (AH) isolados de áreas de diferentes níveis de preservação: área preservada (AP) e área degradada (AD), e de vermicomposto (VERM).

A análise da região de impressão digital (entre $1400\text{-}900\text{ cm}^{-1}$) revela uma diferença muito grande na funcionalidade dos espectros de IV, indicando a origem

distinta de cada tipo de AH (área preservada, degradada e vermicomposto) (Dobbss et al., 2009).

6.4. Atividade Biológica dos AH sobre plântulas de *Carica papaya*

Um modelo quadrático descreve os efeitos de diferentes concentrações de AH sobre a massa fresca e seca da parte aérea (PA), e raiz (R) de plântulas de mamoeiro (Tabela 5 e 6).

Tabela 5: Equações de regressão; coeficientes de determinação da regressão (R²); desvios padrão da regressão (DP), níveis de significância da regressão (valores-*p*) e doses ótimas para a média de massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR) em plântulas de *Carica papaya* (mamoeiro) após tratamento (Trat.) com diferentes doses de C (mM C L⁻¹) dos AH oriundo de uma área preservada do bioma mata atlântica.

Trat.	Atributo observado	Equações de regressão ($y = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	DP	P	R ²	Doses ótimas (dx/dy): $b_1 + 2(b_2)x = 0$
VERM	MFPA	$y = -0,0586x^2 + 0,5174x + 0,1887$	0,78	p<0,014	0,89	4,41
VERM	MFR	$y = -0,0096x^2 + 0,0848x + 0,07$	0,52	p<0,009	0,70	4,42
MÉDIA						4,42
AH2AR	MFPA	$y = -0,0934x^2 + 0,8108x - 0,0164$	0,66	p<0,012	0,91	4,34
AH2AR	MFR	$y = -0,0205x^2 + 0,1686x + 0,025$	0,74	p<0,019	0,87	4,11
MÉDIA						4,23
AH3AR	MFPA	$y = -0,0727x^2 + 0,6367x + 0,1966$	0,78	p<0,010	0,91	4,38
AH3AR	MFR	$y = -0,0134x^2 + 0,1502x - 0,0251$	0,67	p<0,014	0,97	5,60
MÉDIA						4,99
AH4AR	MFPA	$y = -0,0435x^2 + 0,3917x + 0,3827$	1,07	p<0,011	0,87	4,50
AH4AR	MFR	$y = -0,0091x^2 + 0,073x + 0,1369$	0,75	p<0,017	0,75	4,01
MÉDIA						4,26
AH5AR	MFPA	$y = -0,0251x^2 + 0,2455x + 0,4633$	0,42	p<0,008	0,70	4,89
AH5AR	MFR	$y = -0,0032x^2 + 0,0222x + 0,1586$	0,46	p<0,018	0,98	3,47
MÉDIA						4,18

Tabela 6: Equações de regressão; coeficientes de determinação da regressão (R²); desvios padrão da regressão (DP), níveis de significância da regressão (valores-*p*) e doses ótimas para a média de massa fresca da parte aérea (MFPA) e raiz (MFR) em plântulas de *Carica papaya* (mamoeiro) após tratamento (Trat.) com diferentes doses de C (mM C L⁻¹) dos AH oriundo de uma área degradada do bioma mata atlântica.

Trat.	Atributo observado	Equações de regressão ($y = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	DP	P	R ²	Doses ótimas (dx/dy): $b_1 + 2(b_2)x = 0$
AD1	MFPA	$y = -0,0072x^2 + 0,0763x + 0,556$	0,89	$p < 0,011$	0,85	5,30
AD1	MFR	$y = -0,0027x^2 + 0,0214x + 0,0901$	0,87	$p < 0,015$	0,79	3,96
MÉDIA						4,63
AD2	MFPA	$y = -0,0132x^2 + 0,1219x + 0,5774$	1,02	$p < 0,012$	0,81	4,62
AD2	MFR	$y = -0,0036x^2 + 0,0357x + 0,0855$	0,55	$p < 0,018$	0,90	4,96
MÉDIA						4,79
AD3	MFPA	$y = -0,0238x^2 + 0,2236x + 0,6226$	0,52	$p < 0,009$	0,79	4,70
AD3	MFR	$y = -0,0076x^2 + 0,0607x + 0,1146$	0,48	$p < 0,020$	0,83	3,99
MÉDIA						4,35
AD4	MFPA	$y = -0,057x^2 + 0,5287x + 0,5934$	0,39	$p < 0,007$	0,98	4,64
AD4	MFR	$y = -0,0111x^2 + 0,1068x + 0,1216$	0,61	$p < 0,020$	0,87	4,81
MÉDIA						4,72

Conforme pode ser observado na Tabela 5 e 6, os valores das médias das doses ótimas variaram de 4,18 mg L⁻¹ C de AH a 4,99 mg L⁻¹ C de AH na área preservada, e de 4,35 mg L⁻¹ C de AH a 4,79 mg L⁻¹ C de AH na área degradada. O AH de vermicomposto foi utilizado como controle positivo e sua dose ótima foi de 4,42 mg L⁻¹ C de AH. No trabalho de Pinheiro et al., (2010) para mudas de eucalipto, a melhor dose para estímulo de diâmetro foi de 4,3 mg L⁻¹ C de AH. Já para plantas ornamentais, Baldotto et al., 2014a verificaram doses que variaram de 15 a 20 mmol L⁻¹. Assim, é importante destacar que o sucesso da aplicação dos ácidos húmicos sobre vegetais, depende de estudos preliminares que definam a dose ótima para cada espécie (Baldotto e Baldotto, 2014b), tal como foi efetuado nesse trabalho.

Após a aplicação da melhor dose obtida para todos os ácidos húmicos foi possível observar que os materiais húmicos foram capazes de incrementar a massa fresca e seca das raízes de mamoeiro em comparação ao tratamento controle (Figura 11), pode-se afirmar também que sempre houve diferenças significativas em relação à área preservada e degradada, com destaque para a última. Com relação à massa fresca e seca da parte aérea, essa tendência se repetiu, porém sem diferença significativa entre as áreas estudadas para massa seca da parte aérea (Figura 11).

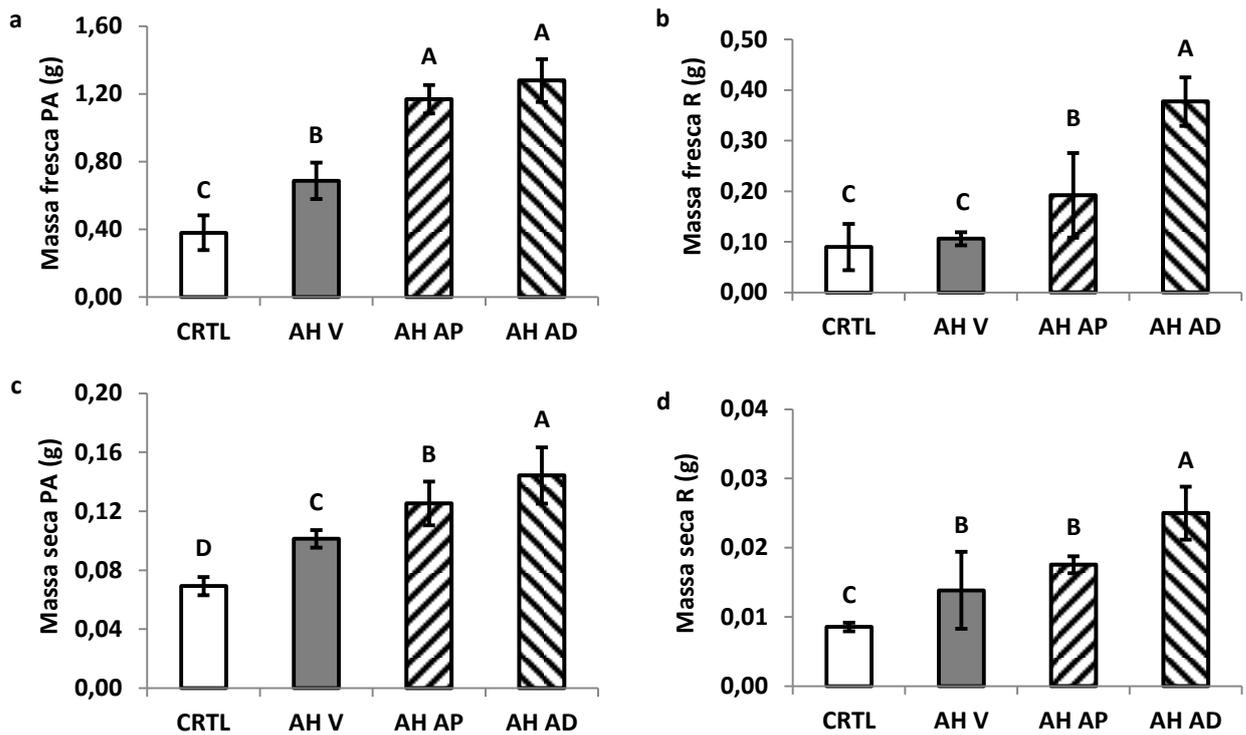


Figura 11: Teste de bioatividade em plântulas de *C. papaya*, com ácidos húmicos provenientes de vermicomposto, área preservada e área degradada. Sendo, a= massa fresca parte aérea (MFPA), b= massa fresca radicular (MFR); c= massa seca parte aérea (MSPA); e d= massa seca radicular (MSR).

Esta maior bioatividade do AH da AD principalmente sobre o sistema radicular em plântulas de mamoeiro, verificada pelo aumento da massa fresca e seca (Figura 11), e da área radicular (Figura 12 A), pode estar relacionada com os dados de pH e alumínio trocável da Tabela 1. Onde, a AP apresentou pH mais ácido e maior teor de alumínio trocável quando comparado a AD. Possivelmente este fator contribuiu para o menor estímulo do AH oriundo da AP (Cerri e Volkoff, 1988).

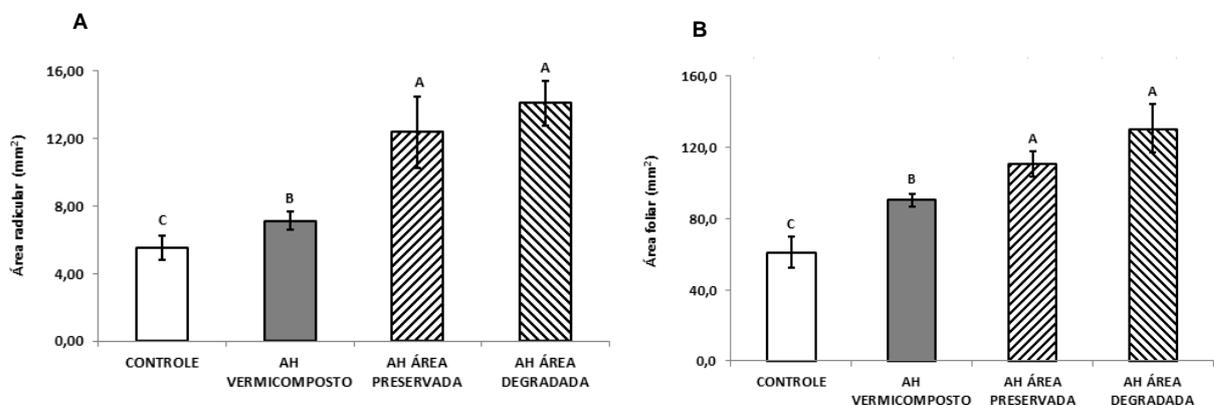


Figura 12 A e B: Efeito do tratamento de diferentes AH sobre a área radicular (A) e foliar (B).

Canellas et al. (2008a e 2009); Dobbss et al. (2010) e Canellas et al., (2012), mostraram que SH com maior grau de hidrofobicidade (C-aromático + C-alquílico) apresentam maior capacidade de estimular sistemas biológicos. Possivelmente a presença de alguns grupos funcionais relacionados a hidrofobicidade avaliados nos espectros de IV (presença de anel aromático e alifático, etil, CH₃) principalmente na AD, proporcionaram um maior estímulo à plântulas expostas a este tratamento. Conforme foi mostrado, houve diferenças significativas para massa fresca da parte aérea e massa fresca e seca das raízes quando comparado dos diferentes tratamentos (AP, V e controle) (Figura 11).

Da mesma maneira, é possível observar na Figura 12 A e B, que independentemente da área de coleta, todos os AH foram capazes de incrementar tanto área radicular quanto a área foliar de plântulas de mamoeiro. O efeito sobre a área radicular se deve ao fato dos AH agirem principalmente sobre as raízes das plantas, incrementando a emissão de raízes laterais e pelos absorventes (Canellas et al., 2002).

A maior área radicular promove aumento do volume que pode ser explorado pelas raízes representando uma vantagem significativa proporcionada pelo tratamento das plântulas com os ácidos húmicos. O aumento da emergência de raízes laterais colabora para a maior adaptação das plantas ao ambiente do solo sob condições adversas, bem como para o aumento da absorção de nutrientes (NIBAU et al., 2008). No trabalho realizado por Baldotto et al. (2009) com plantas de abacaxi, verificou-se um aumento significativo da área foliar de até 51,53% e da área radicular de até 39% em relação ao controle.

6.5. Análise nutricional de plântulas de *Carica papaya* L.

Foi verificado neste trabalho um aumento na absorção de nutrientes nas plântulas de *C. papaya* em tratamentos com AH, principalmente da AD (Figura 13 e 14). De uma maneira geral, este aumento foi mais bem identificado na parte aérea das plântulas de mamoeiro (Figura 13).

Partes aéreas de *Carica papaya*

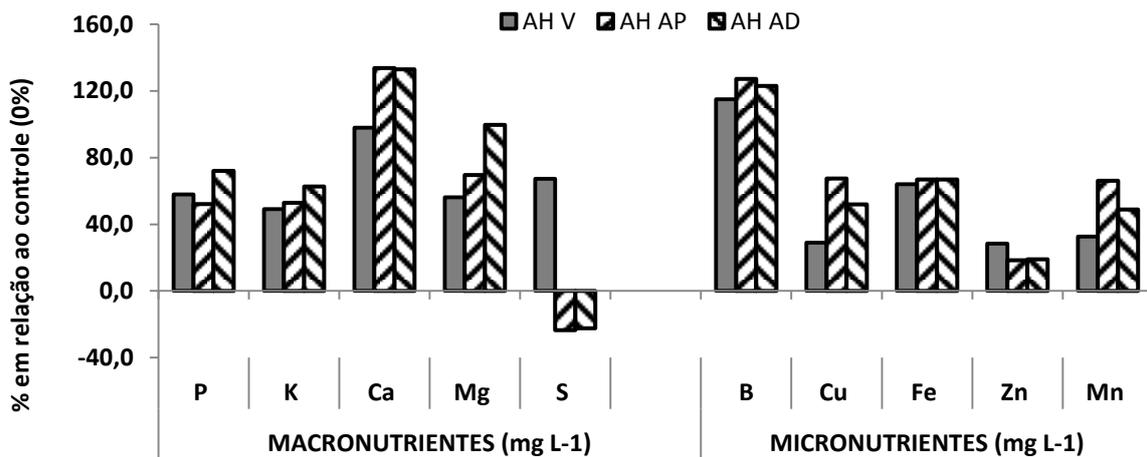


Figura 13: Absorção de nutrientes pela parte aérea de plântulas de mamoeiro em relação ao controle.

Raízes de *Carica papaya*

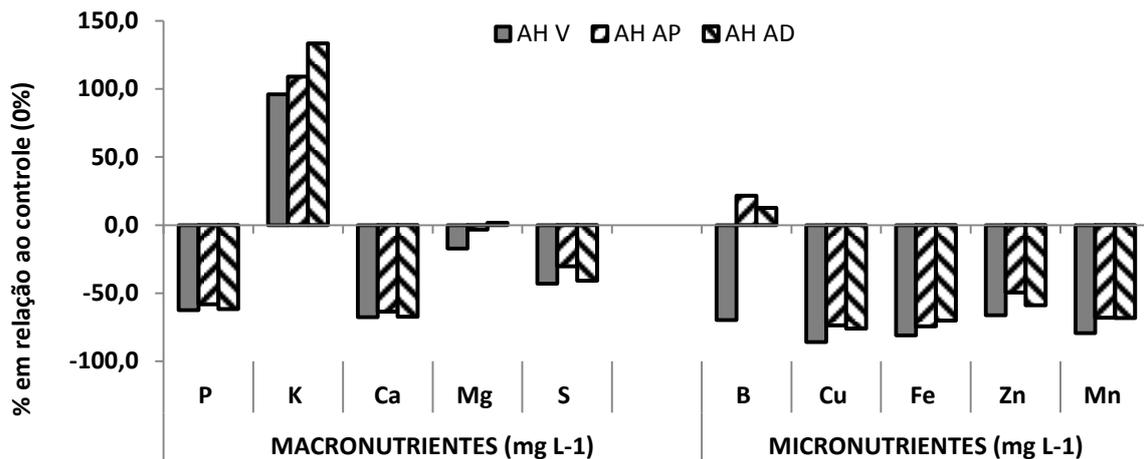


Figura 14: Absorção de nutrientes pela raiz de plântulas de mamoeiro em relação ao controle.

Um dos efeitos biológicos das SH sobre os vegetais é promover o aumento da absorção de nutrientes pelas plantas, já que reconhecidamente aumentam a atividade das bombas de prótons (H^+ -ATPases) e estimulam o desenvolvimento de raízes, resultando em uma maior absorção e transporte de nutrientes (Façanha et al., 2002).

Segundo Rosa et al. (2009), o controle da permeabilidade celular está intimamente relacionado à manutenção da seletividade da membrana plasmática (MP), fator fundamental para a manutenção da homeostase celular. O incremento da

absorção de nutrientes proporcionado pela presença de SH em solução, segundo estes mesmos autores, tem sido justificado por um aumento da permeabilidade da membrana plasmática (MP) por meio da ação surfactante ou detergente das SH em conjunto com a ativação da H⁺-ATPase (enzima chave do metabolismo energético vegetal).

De acordo com Façanha et al., (2002) as bombas de H⁺ são enzimas capazes de hidrolisar o ATP, gerando energia e um gradiente eletroquímico que está envolvido em dois mecanismos fundamentais para o desenvolvimento vegetal. O primeiro, energiza o sistema secundário de translocação de íons, o que é fundamental para absorção de macro e micronutrientes, e o segundo, está diretamente envolvido com a teoria do crescimento ácido que postula que um aumento da extrusão de prótons mediado pela H⁺-ATPase promove a acidificação do apoplasto, que por sua vez ativa enzimas específicas que atuam sobre a parede celular aumentando sua plasticidade e, conseqüentemente, permitindo o alongamento celular. Este fator, apesar de não ter sido mensurado nessa dissertação, pode estar relacionado tanto no incremento na absorção de nutrientes quanto no aumento de massa e área foliar e radicular. Além disso, outra possível justificativa para a maior bioatividade de um determinado AH, pode estar relacionado com a sua natureza química (Silva et al., 2011). Assim, é provável que os resultados químicos e espectroscópicos obtidos com essa dissertação, apresentem uma explicação direta com relação a maior bioatividade do AH da AD, sem relação com nível de preservação.

Estes fatores explicam o maior crescimento das plântulas tratadas com AH. (Figura 15). Dentro deste contexto é importante destacar que no tratamento com AH da AD, as plantas absorveram uma maior quantidade de macronutrientes (Figuras 13 e 14), logo, apresentaram uma maior área radicular e foliar (Figura 12 A e B) e possuíram maiores massas frescas e secas das partes aéreas e raízes, influenciando diretamente o crescimento das plântulas conforme pode ser observado na imagem representativa mostrada na Figura 15.

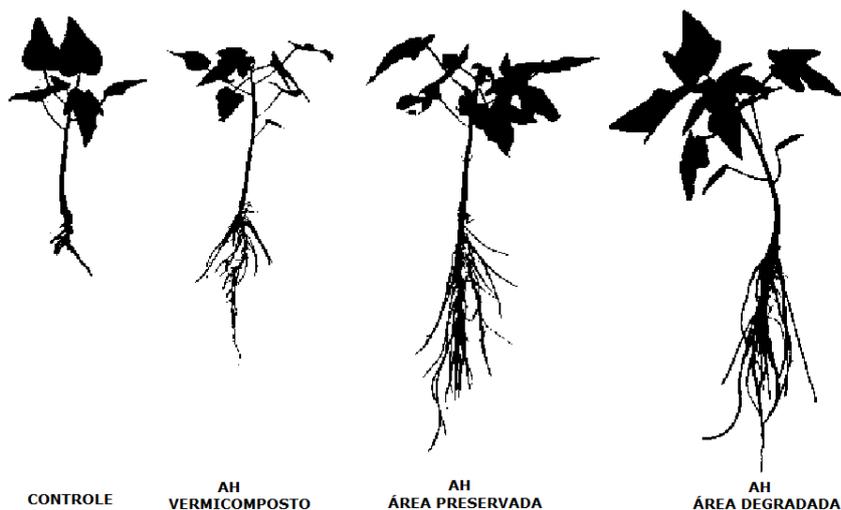


Figura 15: Imagem representativa das plântulas de *Carica papaya* (convertidas a preto e branco 1 bit para a determinação das áreas radiculares e das partes aéreas) crescidas nos diferentes tratamentos ao final do experimento.

Ao comparar as Figuras 13 e 14 é possível observar que grande parte dos nutrientes foi absorvida pela parte aérea das plântulas de mamoeiro, e paralelamente houve uma diminuição no teor de nutrientes na área radicular. Este fato parece estar relacionado com a translocação de nutrientes. A translocação se refere ao movimento ou a transferência do íon do local de absorção da raiz para outro destino, dentro ou fora da raiz. O movimento ou transferência de íons da raiz para a parte aérea é chamado de índice de translocação (Abichequer e Bohnen, 1998). A translocação pode ser influenciada principalmente pelo estado nutricional das células da raiz e pela taxa de transpiração (Bielecki, 1973; Marschner, 1986). Desta maneira, possivelmente um aumento da atividade das H^+ -ATPases em presença de ácido húmico, conforme observado por diferentes autores (Canellas et al., 2002; Zandonadi, et al., 2007; Dobbss et al., 2010 e Ramos et al., 2015); tenha ocasionado um aumento do metabolismo energético, influenciando a taxa de transpiração, favorecendo a translocação, o que pode explicar a maior quantidade de nutrientes presente na parte aérea das plântulas.

7. CONCLUSÕES

As evidências experimentais obtidas com esse trabalho de dissertação fez com que a hipótese anteriormente delimitada fosse parcialmente aceita, ou seja, os índices de qualidade da MO foram mais evidentes na AP, no entanto, os AH da AD foram os que apresentaram os maiores estímulos sobre o crescimento e a nutrição das plântulas de mamoeiro. Com isso é possível pressupor que mais que o nível de preservação, as características químicas e espectroscópicas dos AH são as que mais influenciaram sobre a atividade biológica dos mesmos.

A partir dos resultados as principais conclusões que puderam ser obtidas com a presente pesquisa foram:

- 1) Os solos estudados diferiram quanto as suas fertilidades, evidenciando as características diferentes dos ambientes de coleta (área preservada e degradada);
- 2) Os AH isolados da matéria orgânica dos diferentes solos apresentaram características químicas e espectroscópicas distintas;
- 3) Os AH oriundos da AD, apresentaram grupos funcionais relacionados a uma maior hidrofobicidade;
- 4) Todos os AH foram capazes de estimular o crescimento das plântulas de mamoeiro em relação ao tratamento controle, porém sempre o maior estímulo foi gerado pelos AH isolados da AD, demonstrando assim a forte influência desse material húmico sobre o crescimento vegetal (principalmente sobre o sistema radicular);
- 5) Os AH proporcionaram aumentos na absorção de nutrientes, que foram principalmente alocados na parte aérea das plântulas de mamoeiro, com destaque para os AH da AD.

8. REFERÊNCIAS

- ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. R. Bras. Ci. Solo, v. 22, n. 1, p. 21-26, 1998.
- AGUIAR, N.O.; CANELLAS, L.P.; DOBSS, L.B.; ZANDONADI, D.B.; OLIVARES, F.L. & FAÇANHA, A.R. Distribuição de massa molecular de ácidos húmicos e promoção do crescimento radicular. R. Bras. Ci. Solo, 33:1613-1623, 2009.
- AIKEN, G.R.; MCKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L. & MACCARTHY, P. Introductory remarks. Humic substances in soil, sediment and Waters. New York, John Wiley, 1985. p. 1-12.
- ASLI, S. & NEUMANN, P.M. Rhizosphere humic acid interacts with root cell walls to reduce hydraulic conductivity and plant development. Plant and Soil, 336: 313-322, 2010.
- ASSIS, C.P.; JUCKSCH, I.; MENDONÇA, E.S. & NEVES, J.C.L. Carbono e nitrogênio em agregados de Latossolo submetido a diferentes sistemas de uso e manejo. Pesq. Agropec. Bras., 41: 1541-1550, 2006.
- BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; GIRO, V.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, V.L. & SMITH, R.B. Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimação. Revista Brasileira Ciência Solo, v.33, p.979-990, 2009.
- BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; GONTIJO, J.B.; OLIVEIRA, F.M. & GONÇALVES J. Aclimatização de orquídea (*Cymbidium* sp.) em resposta à aplicação de ácidos húmicos. Ciência Rural, 44:830-833, 2014a.
- BALDOTTO, M.A.; & BALDOTTO, L.E.B. Humic acid. Rev. Ceres, vol.61, suppl., pp. 856-881, 20014b.
- BALIEIRO, F.C.; PEREIRA, M.G.; ALVES, B.J.R.; RESENDE, A.S. & FRANCO, A.A. Soil carbon and nitrogen in pasture soil reforested with eucalyptus and guachapele. R. Bras. Ci. Solo, 32: 1253-1260, 2006.
- BAYER, C. & MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P. & CAMARGO, F.A.O., eds. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. 2.ed. Porto Alegre, Metrópole, 2008. p.7-18.
- BRAGHIROLI, F.L.; SGROTT, A.F.; PESCADOR, R.; UHLMANN, A. & STURMER, S.L. Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. R. Bras. Ci. Solo, 36: 733-743, 2012.
- BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Ann. Rev. Plant Physiol., 24:225-252, 1973.

CAMPANILI, M. & SCHAFFER, W.B. 2010. Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros. MMA, Brasília.

CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A. & AMARAL-SOBRINHO; N.M.B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Eds). Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais. Porto Alegre, Gênese, 1999. p. 71-90.

CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; OKOROKOVA-FACANHA, A.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: 1951-1957, 2002.

CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X.; MARCIANO, C.R.; RAMALHO, J.F.G.P.; RUMJANEK, V.M.; REZENDE, C.E. & SANTOS, G.A. Propriedades químicas de um cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhicho e adição de vinhaça por longo tempo. *R. Bras. Ci. Solo*, 27: 935-944, 2003.

CANELLAS, L.P. & FACANHA, A. R. Chemical nature of soil humified fractions and their bioactivity. *Pes. Agr. Bras.*, 39: 233-240, 2004.

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

CANELLAS, L.P.; BALDOTTO, M.A.; BUSATO, J.C.; MARCIANO, C.R.; MENEZES, S.C.; SILVA, N.M.; RUMJANEK, V.M.; VELLOSO, A.C.X.; SIMÕES, M.L. & MARTINETO, L. Estoque e qualidade da matéria orgânica de um solo cultivado com cana-de-açúcar por longo tempo. *R. Bras. Ci. Solo*, 31: 331-340, 2007.

CANELLAS, L.P.; MENDONÇA, E.S.; DOBBSS, L.B.; BALDOTTO, M.A.; VELLOSO, A.C.X. & AMARALSOBRINHO, N.M.B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P. & CAMARGO, F.A.O. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e sub-tropicais. 2.ed. PortoAlegre, Metrópole, p.45-53, 2008.

CANELLAS, L.P., SPACCINI, R., PICCOLO, A. & DOBBSS, L.B., Okorokova-Facanha, A.L., 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.

CARDOSO, E.L.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.; FERREIRA, M.M. & FREITAS, D.A.F. Qualidade química e física do solo sob vegetação arbórea nativa e pastagens no Pantanal Sul-Mato-Grossense. *R. Bras. Ci. Solo*, 35: 613-622, 2011.

CARDOSO, E.L.; SILVA, M.L.N.; MOREIRA, F.M.S. & CURI, N. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em pastagem cultivada e nativa do pantanal. *Pesq. Agropec. Bras.*, 44: 631-637, 2009.

CERRI, C.C. & VOLKOFF, B. Matéria orgânica de três solos dos campos inundáveis da Ilha de Marajó (PA). Rev. Bras. Ci. Solo, 9: 93-100. 1988.

CHEN, Y. & AVIAD, T. Efeitos de substâncias húmicas no crescimento de plantas. ASA, SSA, Madison, 1990. 186p.

CONCEIÇÃO, P.C.; AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J. & SPAGNOLLO, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. R. Bras. Ci. Solo, 29: 777-788, 2005.

COSTA, F.S.; BAYER, C.; ZANATTA, J.A. & MIELNICZUK, J. Estoque de carbono orgânico no solo e emissões de dióxido de carbono influenciadas por sistemas de manejo no sul do Brasil. R. Bras. Ci. Solo, 32: 323-332, 2008.

COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. Introduction to infrared and raman spectroscopy. New York: Academic, 1964. 511 p.

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.; MADARI, B.E.; BENITES, V.M.; CANELLAS, L.P.; NOVOTNY, E.H.; MOUTTA, R.O.; TROMPOWSKY, P.M. & SANTOS, G.A. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da Amazônia (Terra Preta). Acta Amaz., 37: 91-98, 2007.

DOBBSS, L.B.; RUMJANECK, V.M.; BALDOTTO, M.A.; VELLOSO, A.C.X. & CANELLAS, L.P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. R. Bras. Ci. Solo, 33: 51-63, 2009.

DOBBSS, 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.

FAÇANHA, A.R.; FAÇANHA, A.L.O.; OLIVARES, F.L.; GURIDI, F.G.A.; VELLOSO, A.C.X.; RUMJANEK, V.M.R.; BRASIL, F.; SCHRIPSEMA, J.; BRAZFILHO, R.; OLIVEIRA, M.A. & CANELLAS, L.P.C. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. Pesquisa Agropecuária Brasileira 37: 1301-1310, 2002.

FAO. FAOSTAT. Disponível em:
<<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 15 dez. 2014.

FONTANA, A.; BRITO, R.J.; PEREIRA, M.G.; LOSS, A. & BENITES, V.M. Caracterização de substâncias húmicas da camada superficial do solo sob diferentes coberturas vegetais. Magistra, 22: 49-56, 2010.

FONTANA, A.; PEREIRA, M.G.; LOSS, A.; CUNHA, T.J.F. & SALTON, J.C. Atributos de fertilidade e frações húmicas de um Latossolo Vermelho no Cerrado. *Pesq. Agropec. Bras.*, 41: 847-853, 2006.

FONTES, R.V.; VIANA, A.P.; PEREIRA, M.G.; OLIVEIRA, J.G. & VIEIRA, H.D. Manejo da cultura do híbrido de mamoeiro (*Carica papaya* L.) do grupo 'formosa' UENF/CALIMAN – 01 para melhoria na qualidade do fruto com menor aplicação de adubação NPK. *Rev. Bras. Frut.*, 34: 143-151, 2012.

GATTO, A.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; SILVA, I.R.; LEITE, H.G.; LEITE, F.P. & VILLANI, E.M.A. Estoques de carbono no solo e na biomassa em plantações de eucalipto. *R. Bras. Ci. Solo*, 34: 1069-1079, 2010.

GIOVANELA, M. Caracterização química e morfológica de substâncias húmicas de ambientes aquáticos. 2003. p. 140. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

GUERRA, M.P.; DAL VESCO, L.L.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A.R. & NODARI, R.O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, 34:1557-1563, 1999.

IBAMA – Relatório Técnico, Disponível em < http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatorio_tcnico_mata_atlantica_2008_2009_72.pdf> Acesso em 04, jan.2015

INCAPER – Linhares (2011). Planejamento e programação de ações, Disponível em < <http://www.incaper.es.gov.br/proater/municipios/Nordeste/Linhares.pdf>> Acesso em 10 dez.2014.

LABRADOR-MORENO, J. La matéria orgânica e los agrossistemas. Madri, Ministeria Agricultura, 1996. 176p.

KONONOVA, M. 1968. Soil Organic Matter. PWRiL, Warszawa (in Polish).

KONOVA, M. M. Soil organic matter, its nature, its role in soil formation and soil fertility. Oxford: Pergamon Press, 1966. p. 124-151.

LIMA, A.M.N.; SILVA, I.R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; MENDONÇA, E.S.; DEMOLINARI, M.S.M. & LEITE, F.P. Frações da matéria orgânica do solo após três décadas de cultivo de eucalipto no vale do Rio Doce-MG. *R. Bras. Ci. Solo*, 32: 1053-1063, 2008.

LIMA, J.F.; PEIXOTO, C.P. & LEDO, C.A.S. Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. *Ciênc. Agrotec.*, 31: 1358-1363, 2007.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. New York, Academic Press, 1986. 674p.

MELO, V.F. & SCHAEFER, C.E.G.R. Matéria orgânica em solos desenvolvidos de rochas máficas no nordeste de Roraima. *Acta Amaz.*, 39: 53-60, 2009.

MIRANDA, C.C.; CANELLAS, L.P. & NASCIMENTO, M.T. Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de Mata Atlântica e em plantios abandonados de eucalipto. R. Bras. Ci. Solo, 31: 905-916, 2007.

MOREIRA, M.A.; CARVALHO, J.G.; CHRYSTIANE, B.F & PASQUAL, M. Resposta a adubação NPK de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola em fase de aclimação. Plant Cell Cult. Micropropag., 3:17-22, 2007.

NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; DELL'AGNOLA, G.; NARDI, S. Proprietà biochimiche e fisiologiche Del La sostanza organica. In: NANNIPIERI, P. (Ed.). Ciclo del la sostanza orgânica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici, ecologici & selviculturali. Bologna: Patron, 1993, p. 67-78.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; GESSA, C.; FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L. & CASADORO, G. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil Biology e Biochemistry*, 32: 415-419, 2000.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A. & VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol. Biochem.*, 34:1527-1536, 2002.

NEILL, C.; MELILLO, J.M.; STEUDLER, P.A.; CERRI, C.; MORAES, F.L.; PICCOLO, F.C. & BRITO, M. Soil carbono and nitrogen stocks following forest clearing for pasture in the southwestern Brazilian Amazon. *Ecol. Appl*, 7: 1216-1225, 1997.

NIBAU, C. et al. Branching out in new directions: the control of root architecture by lateral root formation. *New Phytologist*, v.179, p.595-614, 2008.

NOGUEIRA JUNIOR, L. R. Caracterização de solos degradados pela atividade agrícola e alterações biológicas após reflorestamento com diferentes associações de espécies da Mata Atlântica. 2010. 50p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

PAIXÃO, M.V.S.; SCHMILDT, E.R.; MATTIELLO, H.N.; FERREGUETTI, G.A. & ALEXANDRE, R.S. Frações orgânicas e mineral da produção de mudas de mamoeiro. *Ver. Bras. Frutic.*, 34: 1105-1112, 2012.

PICCOLO, A. The Supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of húmus chemistry and implications in soil Science. *Adv. Agron.*, 75: 57-134, 2002.

PICCOLO, A., NARDI, S. & CONCHERI, G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids. *Europ. J. Soil Sci.*, 47: 319-328, 1996.

PICCOLO, A.; SPACCINI, R.; HABERHAUER, G. & GERZABEK, M.H. Increased sequestration of organic carbon in soil by hydrophobic protection, *Naturwissenschaften*, 86: 496-499, 1999.

PINHEIRO, G.L.; SILVA, C.A. & FURTINI NETO, A.E. Crescimento e nutrição de clone de eucalipto em resposta à aplicação de concentrações de C-Ácido húmico. R. Bras. Ci. Solo, 34: 1217-1229, 2010.

PORTUGAL, A.F.; JUCKSCH, I.; SCHAEFER, C.E.G.R. & WENDLING, B. Determinação de estoques totais de carbono e nitrogênio e suas frações em sistemas agrícolas implantados em argissolo vermelho-amarelo. R. Bras. Ci. Solo, 32: 2091-2100, 2008.

PRIMO, D.C.; MENEZES, R.S.C. & SILVA, T.O. Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. Scientia Plena, 7: 1-13, 2011.

RAMOS, A. C.; DOBBSS, L. B.; SANTOS, L. A.; FERNANDES, M. F.; OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O. & CANELLAS, L. P. Humic matter elicits proton and calcium fluxes and signaling dependent on Ca²⁺-dependent protein kinase (CDPK) at early stages of lateral plant root development. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2:1-12, 2015.

RASHID, M.A. Geochemistry of marine humic compounds. New York: SpringerVerlag, 1985. p. 67-90.

REINERT, D.J.; ALBUQUERQUE, J.A.; REICHERT, J.M.; AITA, C. & ANDRADA, M.M.C. Limites críticos de densidade do solo para o crescimento de raízes de plantas de cobertura em argissolo vermelho. R. Bras. Ci. Solo, 32: 1805-1816, 2008.

RICE, J.A. & MACCARTHY, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. Org. Geochem, 17: 635-648, 1991.

RIBEIRO, C.A. A. S.; SOARES, V. P.; ANGELO MARCOS SANTOS OLIVEIRA, A. M. S. & GLERIANI, J. M. O desafio da delimitação de áreas de preservação permanente. r. árvore, 29:203-212, 2005.

RODRIGUES, L. S.; ALMEIDA, T. A.; MARINO, R. H.; BARRETO, M. C. V.; MARTINS, M. V. G. & PRATA, R. M. Qualidade dos solos cultivados com eucalipto em Itaporanga D'Ajud – Sergipe. Rev. Bras. Ci. Agr., 8:95-101, 2013.

ROSA, C.M.; CASTILHOS, R.M.V.; VAHL, L.C.; CASTILHOS, D.D.; PINTO, L.F.S.; OLIVEIRA, E.S. & LEAL, O.A. Efeito das substâncias húmicas na cinética de absorção de potássio, crescimento de plantas e concentração de nutrientes em *Phaseolus vulgaris* L. R. Bras. Ci. Solo, 33: 959-967, 2009.

ROSSI, C.Q.; PEREIRA, M.G.; GIACOMO, S.G.; BETTA, M. & POLIDORO, J.C. Frações húmicas da matéria orgânica do solo cultivado com soja sobre palhada de braquiária e sorgo. Bragantia, 70: 622-630, 2011.

RUGGIERO, C.; MARIN, S.L.D. & DURIGAN, J.F. Mamão, uma história de sucesso. Rev. Bras. Frutic., VE: 76-82, 2011.

SANTOS, S.A.; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G.; ALVES, E.; MACHADO, J.C.; BORÉM, F.M.; GUIMARÃES, R.M. & MARQUES, E.R. Estudos morfo-anatômicos de

sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). Ver. Bras. Sementes, 31: 116-122, 2009.

SERRANO, L. A. L. & CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. Rev. Bras. Frutic., 32:2-8, 2010.

SILVA, A.C.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; DOBSS, L.B.; AGUIAR, N.O.; FRADE, D.A.R.; REZENDE, C.E. & PERES, L.E.P. Promoção do crescimento radicular de plântulas de tomateiro por substâncias húmicas isoladas de turfeiras. R. Bras. Ci. Solo, 35: 1:609-1617, 2011.

SILVA NETO, S. P.; SANTOS, A.C.; LIMA LEITE, R. L.; DIM, V. P.; NEVES NETO, D. N. & DA CRUZ, R. S. Dependência espacial em levantamentos do estoque de carbono em áreas de pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Acta Amaz.42:4: 547-556, 2012.

SIMÕES, S. M. O.; ZILLI, J. E.; COSTA, M. C. G.; TONINI, H. & BALIEIRO, F. C. Carbono orgânico e biomassa microbiana do solo em plantios de *Acacia mangium* no Cerrado de Roraima. Acta Amaz. 40:23-30, 2010.

SCHNITZER, M. Humic substances: chemistry and reactions. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. (Eds.). Soil organic matter. Amsterdam: Elsevier Publishing Co., 1978. p. 1-64.

STEELINK, C. Implications of elemental characteristics of humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. Humic substances in soil, sediments and water. (Eds). New York: Wiley Interscience, 1985. p. 457-476.

STEVENSON, F.J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2. ed. New York, John Willey, 1994. 496 p.

TABARELLI, M. & MANTOVANI, W. A riqueza de espécies arbóreas na floresta atlântica de encosta no estado de São Paulo (Brasil). Revta. Brasil. Bot., 22: 217-223, 1999.

TATAGIBA, J. S.; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. & COSTA, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) do mamoeiro. Fitopatologia Brasileira. 27:186-192, 2002.

TAIZ, L; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TARRÉ, R.; MACEDO, R.; CANTARUTTI, R.B.; REZENDE, C.P.; PEREIRA, J.M.; FERREIRA, E.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. & BODDEY, R.M. The effects of the presence of a forage leguminous on nitrogen and carbono levels in soils under brachiaria pasture in the Atlantic Forest region of the South of Bahia, Brazil. Plant Soil, 234: 15-26, 2001.

VARANINI, Z.; PINTON, R.; DE BIASI, M.G.; ASTOLFI, S. & MAGGIONI, A. Low molecular weight humic substances stimulated H⁺-ATPase activity of plasma

membrane vesicles isolated from oat (*Avena sativa* L.) roots. *Plant Soil*, 153:61-69, 1993.

VAUGHAN, D., MALCOM, R.E., ORD, B.G., 1985. Influence of humic substances on biochemical processes in plants. In: Vaughan, D., Malcom, R.E. (Eds.), *Soil Organic Matter and Biological Activity*, Martinus Nijhoff/Junk W, Dordrecht, The Netherlands, pp. 77–108.

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.

ZIPPARRO, V.P.; GUILHERME, F.A.G.; ALMEIDA-SCABBIA, R.J. & MORELLATO, L.P.C. Levantamento florístico de floresta atlântica no sul do estado de São Paulo, Parque Estadual Intervales, Base Saibadela. *Biota Neotrop.*, 5: 1-24, 2005.

Obs.: As referências bibliográficas desta dissertação estão de acordo com a Revista Brasileira de Ciências do Solo.