

## 11779 - Efeitos dos ácidos húmicos e fúlvicos na microflora do solo e na concentração de clorofila em alface

*Effects of humic and fulvic acids in soil microflora and the concentration of chlorophyll in Lactuca sativa L. (Lettuce)*

MORAIS, Joacir<sup>1</sup>; OLIVEIRA NASCIMENTO, Ivaneide de<sup>2</sup>; NEVES DIAS, Vera Lúcia<sup>3</sup>; RODRIGUES, Antonia Alice Costa<sup>4</sup>; ALVES DE AZEVEDO, Sergio<sup>5</sup>; ANDRADE BEZERRA, Gustavo de<sup>6</sup>

<sup>1</sup>CESI/UEMA, joacir.agro@hotmail.com; <sup>2</sup>CESI/UEMA, ivaneide\_agro@yahoo.com.br; <sup>3</sup>CESI/UEMA, veraquim@bol.com.br; <sup>4</sup>CCAI/UEMA, aacr@hotmail.com; <sup>5</sup>CESI/UEMA, sergioquim09@hotmail.com; <sup>6</sup>CESI/UEMA, gutoandrade-@hotmail.com

**Resumo:** As substâncias húmicas, são naturalmente encontradas no solo, tendo papel fundamental na produção das culturas. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a ação dos ácidos húmico e fúlvico extraídos de esterco bovino, sobre a microflora do solo, (população fúngica), e na qualidade da alface. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições, utilizando vasos de 3 Kg para o cultivo dessa hortaliça. T1 – Substrato com somente solo; T2 – 0,5 Kg de esterco bovino + 2,5 Kg de solo; T3 – 50 mL de ácido fúlvico/ 3 Kg de solo; T4 – 100 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo; T5 – 150 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo; T6 – 50 mL de ácido húmico/ 3 Kg de solo; T7 – 100 mL de ácido húmico/3 Kg de solo; T8 – 150 mL de ácido húmico/3 Kg de solo. As dosagens de ácidos fúlvicos e húmicos foram aplicadas aos 5, 15 e 25 dias após o transplântio da hortaliça estudada. Tanto os teores de clorofila a e b, como a microflora fúngica analisada, não apresentaram diferenças significativas.

**Palavras - chave:** esterco. substancias húmicas. fungo.

**Abstract:** Humic substances are naturally found in soil, plays a fundamental role in crop production. This study aims to evaluate the effect of humic and fulvic acids extracted from cattle manure on soil microflora (fungal population), and quality of lettuce. The experimental design was completely randomized design with eight treatments and four repetitions, in pots of 3 kg for the cultivation of this vegetable. T1 - Substrate with only soil, T2 - 0.5 kg of cattle manure + 2.5 kg of soil, T3 - 50 mL of fulvic acid / 3 kg soil, T4 -100 ml fulvic acid / 3 kg of soil; T5 - 150 ml fulvic acid / 3 kg soil, T6 - 50 mL of humic acid / 3 kg soil, T7 - 100 mL of humic acid / 3 kgsoil; T8 - 150 mL of humic acid / kg 3 soil. Dosages of fulvic and humic acids were applied at 5, 15 and 25 days after transplanting the vegetables studied. Both levels of chlorophyll a and b, as the fungal microflora analyzed, no significant differences.

### Introdução

A crescente utilização de insumos na agricultura, nas últimas décadas, vem provocando a degradação dos solos, matas e recursos hídricos. A degradação gerada por esse modelo de exploração do solo demanda a geração de alternativas tecnológicas, baseadas em processos ecológicos e sustentáveis (TAVARES FILHO; TESSIER, et al., 2009). Na matéria orgânica do solo estão presentes substâncias capazes de promover efeitos diretos sobre o crescimento das plantas, denominadas substâncias húmicas.

As substâncias húmicas compreendem um grupo de compostos de carbono gerados na decomposição dos resíduos orgânicos que sofrem ressíntese, formando um material denominado de húmus (STEVENSON, 1994). Esta fração apresenta tamanho coloidal e corresponde entre 80 a 90% do carbono do solo, dependendo do uso e manejo adotado (SANTOS, 2005).

Pela grande importância da microflora na qualidade do solo e no desenvolvimento do vegetal, optou-se por avaliar a ação dos ácidos húmico e fúlvico extraídos de esterco bovino sobre a microflora do solo através do levantamento da população fúngica no solo com e sem aplicação desses ácidos, e a qualidade da *Lactuca sativa* L.(alface), considerando as concentrações de clorofila a e b.

## Metodologia

Realizou-se a coleta de solo na área de Centro de Difusão Tecnológica, pertencente a Infraero, para análise química (IAC, 1997) e utilização no experimento. Para a extração dos ácidos húmicos e fúlvicos e determinação de carbono orgânico total adotou-se a metodologia de Benites et al. (2003), que consiste em pesar uma amostra de 0,25 gramas do esterco bovino, seco e peneirado. A amostra pesada foi transferida para tubo de centrífuga de 50 ml com tampa e adicionado 20 ml de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Em seguida foi agitado manualmente e deixado em repouso por 24 h. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 5.000 g por 30 min. O sobrenadante em cada tubo da centrífuga foi recolhido em copo plástico descartável de 50 mL, este foi reservado. Este procedimento foi repetido onde o sobrenadante foi recolhido junto ao que havia sido reservado. O sobrenadante teve o seu pH ajustado para pH 1,0, deixou-se decantar por 18 horas. Este foi filtrado sob vácuo, recolhido e aferido o volume para 50 mL e adicionado NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> sobre o precipitado até a lavagem completa do filtro e aferido seu volume para 50 mL.

Os ácidos fúlvicos e húmicos extraídos do esterco bovino foram aplicados aos 5, 15 e 20 dias após o transplântio da alface. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com os seguintes tratamentos: T<sub>1</sub> - substrato com solo; T<sub>2</sub> – 0,5 Kg de esterco bovino + 2,5 Kg de solo; T<sub>3</sub> – 50 mL de ácido fúlvico/ 3 Kg de solo; T<sub>4</sub> – 100 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo; T<sub>5</sub> – 150 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo; T<sub>6</sub> – 50 mL de ácido húmico/ 3 Kg de solo; T<sub>7</sub> – 100 mL de ácido húmico/3 Kg de solo; T<sub>8</sub> – 150 mL de ácido húmico/3 Kg de solo. Após 35 dias do transplântio da alface, parte do vegetal foi colhido para a realização das análises.

A metodologia adotada para extração de pigmentos e estimativa do teor de clorofila baseou-se no uso de discos foliares recém-destacados (PASSOS, 1996), na qual foram retirados 5 discos foliares de cada folha. Estes foram coletados com um perfurador de disco foliar da parte central das folhas, entre a nervura e o limbo, completamente expandidos, seguindo a metodologia para a estimativa do teor de clorofilas a e b, desenvolvida por Arnon (1949), a qual consiste na filtração do material, extração do material com acetona 90% ou metanol 80% a quente, leitura em espectrofotômetro em cubetas de 1,5 a 10 ml e cálculos para determinação da concentração de pigmentos em mg/m<sup>-3</sup>.

A microflora do solo, considerando neste trabalho somente a população fúngica, foi avaliada utilizando a metodologia de diluição em placa proposta por Menezes e Assis (2004). Foram coletadas cinco amostras de solo de cada vaso equivalente aos tratamentos para formar uma amostra composta, a qual foi misturada e peneirada. De cada amostra composta, foi colocado 25 ml do solo seco ao ar em um erlenmeyer de 1000 ml e, em seguida, foi adicionado 250 ml de água estéril. Este foi mantido sob agitação mecânica durante 30 minutos. Após esse período, foi transferido 10 ml dessa suspensão para 90 ml de água estéril e agitada brevemente. Da diluição 1:10.000, transferiu-se 0,5 ml para cada placa de Petri contendo meio solidificado, espalhou-se a suspensão através de movimentos rotatórios da placa. Em seguida estas foram incubadas por três dias, em condições de alternância luminosa e temperatura de 25 °C. A quantificação dos fungos foi realizada multiplicando o número médio de colônias pelo fator de diluição, obtendo-se o número por grama da amostra de solo original.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as comparações de médias foram feitas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## Resultados e discussão

Nos teores de clorofila a e b houve pouca variação tanto quando comparados os tratamentos como quando se compara os teores de clorofila a com os teores de clorofila b, não apresentando contrastes significativos (Tabela 1).

TABELA 1 Teor de clorofila a e b, em folhas de alface submetidas ao cultivo com ácidos húmico e fúlvico.

Tratamentos	Clorofila a	Clorofila b
T1=Testemunha	0.65305 a	0.98750 a
T2=0,5 Kg de esterco bovino + 2,5 Kg de solo	1.16245 a	1.04350 a
T3=50 mL de ácido fúlvico/ 3 Kg de solo	1.29068 a	2.04640 a
T4=100 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo	1.79600 a	1.36748 a
T5=150 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo	1.75320 a	1.32228 a
T6=50 mL de ácido húmico/ 3 Kg de solo	1.41578 a	1.42015 a
T7=100 mL de ácido húmico/3 Kg de solo	1.10805 a	1.52263 a
T8=150 mL de ácido húmico/3 Kg de solo	1.63413 a	3.10653 a
F	1.1834 ns	1.0660 ns
CV%	52.16301	83.31194
DMS	1.64986	3.12321

F = Estatística do teste F; CV% = Coeficiente de variação em 5%; DMS = Diferença mínima significativo; ns não significativo ( $p \geq 0.05$ ). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ ).

Resultados similares foram obtidos por Liu et al. (1998), os quais verificaram que a aplicação de ácidos húmicos (0, 100, 200, 400 mg L<sup>-1</sup>) na gramínea *Agrostis stolonifera* não alterou o teor de clorofila, apesar de ter afetado o processo fotossintético. Conforto e Andreoli (2005) verificaram não haver diferença significativa no teor de clorofila total em folhas de sol e folhas de sombra de seringueira nas cultivares RRIM 600, exceto para os clones de Fx 3864. Resultado diferente foi encontrado por Costa (1994), que estudando a

ação de composto orgânico na alface, concluiu que a fertilização dos solos com composto orgânico promoveu significativo aumento na área foliar do vegetal e no teor de clorofila. Tais adubos tornam disponíveis ao solo os minerais que são absorvidos pelas raízes das plantas, alguns dos quais fazem parte da estrutura química da clorofila, tais como Ca, Mg, Fe e P, e estes podem alterar na sua formação quando não disponíveis em quantidades suficientes na planta.

Quanto à população fúngica do solo, não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados no experimento (Tabela 2). No entanto, percebeu-se que todos os tratamentos apresentaram maior quantidade de colônia de fungos quando comparados com a testemunha, indicando possível benefício das substâncias húmicas sobre os fungos. Nuernberg et al. (1984), testando adubações orgânicas, organomineral e mineral em diferentes sucessões de culturas, constataram alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo. Os autores verificaram aumento da população de fungos nas áreas que receberam adubações orgânicas e organomineral e aumento de bactérias e actinomicetos nas que receberam adubação mineral.

TABELA 2 – Quantidade de fungo (g/solo) nas amostras de solo tratadas com ácidos húmicos ou fúlvicos.

Tratamentos		Médias
T1=Testemunha	10.00000 a	
T2=0,5 Kg de esterco bovino + 2,5 Kg de solo	33.00000 a	
T3=50 mL de ácido fúlvico/ 3 Kg de solo	15.25000 a	
T4=100 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo	34.50000 a	
T5=150 mL de ácido fúlvico/3 Kg de solo	9.00000 a	
T6=50 mL de ácido húmico/ 3 Kg de solo	31.25000 a	
T7=100 mL de ácido húmico/3 Kg de solo	42.25000 a	
T8=150 mL de ácido húmico/3 Kg de solo	39.25000 a	
F	0.8226 ns	
CV%	109.62751	
DMS		68.78167

F = Estatística do teste F; CV% = Coeficiente de variação em %; DMS = Diferença mínima significativa); ns não significativo ( $p \geq .05$ ). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ ).

Comparando-se os ácidos húmicos com os ácidos fúlvicos, os tratamentos com ácidos húmicos apresentam maiores quantidades de colônia. O aumento da população de microorganismos totais (bactérias e fungos) é favorável às plantas, através de seus efeitos diretos ou indiretos, controlando a transformação, a ciclagem e a disponibilidade de nutrientes para o solo e a planta (SIQUEIRA; MOREIRA, 2002). Portanto, tratamentos que venham favorecer aumento na população desses microorganismos contribuirão para a prática da agricultura mais harmônica com o meio ambiente.

### Agradecimentos

À FAPEMA, pela concessão da bolsa e financiamento do projeto, à UEMA-CESI, ao laboratório FMA, INFRAERO, Thatyane Pereira de Sousa, Silvany Alves de Sousa, Jorge

Diniz de Oliveira, Davi Sales Silva e Neidilane Alencar.

### **Bibliografias citadas**

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase *in Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949.

BENITES, V. M et. al. **Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2003. Comunicado Técnico.

CONFORTO, E.C.; ANDREOLI, R.P. Trocas gasosas e teor de clorofila em folhas autosombreadas de plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.) cultivares RRIM 600 e FX 3864, In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, E XXII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL. **Resumo expandido**. Recife, 2005.

COSTA, C. A. **Crescimento e teores de sódio e de metais pesados da alface e da cenoura adubadas com composto orgânico de lixo urbano**. 1994. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS(IAC). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. São Paulo: IAC, 1997.(Boletim Técnico).

LIU, C.H.; COOPER, R.J.; BOWMAN, D.C. **Humic acid application affects photosynthesis, root development, and nutrient content of creeping bentgrass**. **HortScience**, v.33, p.1023-1025, 1998.

MENEZES, M.; ASSIS, S. M. P. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. 2. ed. Ver. E ampl. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2004.

NUERNBERG, N.J.; VIDOR, C.; STAMMEL, J.G. Efeito de sucessões de culturas e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 8, p. 197-203, 1984.

PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em Fisiologia Vegetal**. Embrapa – CNPGL, 1996.p. 67 – 71.

SANTOS, C. A. A. **Matéria orgânica de Argissolo vermelho e Latossolo Bruno sob diferentes sistemas de manejo e sob vegetação nativa: distribuição em frações físicas, qualidade e sorção do herbicida atrazina**. 2005. 196 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. **Biologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFVA/FAEPE, 2002. 626 p.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2nd ed. New York: J. Wiley, 1994. 496 p.

TAVARES FILHO, J.; TESSIER, D. Characterization of soil structure and porosity under long-term conventional tillage and no-tillage systems. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 33, p. 1006-1012, 2009.