



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CAROLINE MOREIRA DE CARVALHO**

**INFLUÊNCIA DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DE  
RESÍDUOS DE PISCICULTURA SOBRE O CRESCIMENTO DE ALFACE**

*(Lactuca sativa L.)*

**Brasília – DF**

**Dezembro de 2016**

CAROLINE MOREIRA DE CARVALHO

**INFLUÊNCIA DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DE  
RESÍDUOS DE PISCICULTURA SOBRE O CRESCIMENTO DE ALFACE**

*(Lactuca sativa L.)*

Monografia apresentada ao curso de agronomia da Universidade de Brasília, como parte das exigências para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Dr. Jader Galba Busato

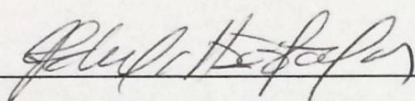
**Brasília – DF**

**Dezembro de 2016**

CAROLINE MOREIRA DE CARVALHO

**EFEITO DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO DE  
RESÍDUOS DA PISCICULTURA SOBRE O CRESCIMENTO DE ALFACE  
(*Lactuca sativa* L.)**

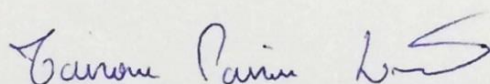
COMISSÃO EXAMINADORA



---

Orientador: Professor Dr. Jader Galba Busato

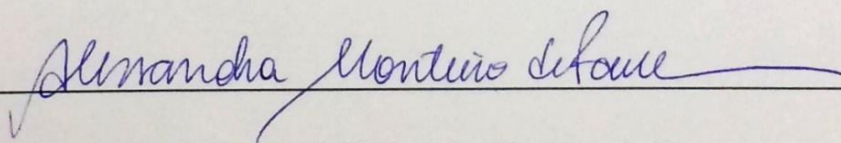
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília



---

Professor Dr. Tairone Paiva Leão

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília



---

Professora Dra. Alessandra Monteiro de Paula

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília

**Brasília – DF**

**Dezembro de 2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M C331i Moreira de Carvalho, Caroline  
INFLUÊNCIA DE ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE COMPOSTO  
DE RESÍDUOS DE PISCICULTURA SOBRE O CRESCIMENTO DE  
ALFACE (*Lactuca sativa* L.) / Caroline Moreira de  
Carvalho; orientador Jader Galba Busato. -- Brasília,  
2016.  
43 p.

Monografia (Graduação - Agronomia) -- Universidade  
de Brasília, 2016.

1. Bioestimulantes. 2. Produção aquícola. 3.  
Eficiência no uso da água. I. Galba Busato, Jader,  
orient. II. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

- A Deus primeiramente, por ter me dado forças para seguir meu caminho, apesar de todas as dificuldades, me permitiu estar aqui hoje, concluindo este trabalho;
- Ao meu professor e orientador, Jader Galba Busato, pela paciência, por estar sempre disponível para esclarecer dúvidas, por ter acreditado em mim e em meu potencial;
- Aos meus colegas e amigos, Eduardo Barros, Lucas Machado, Alan Mól, Marcelo Rodrigues e Luiz Fernando, por me acompanharem e por me darem suporte durante a realização dos experimentos;
- À minha querida amiga Danusa Lisboa, por estar sempre ao meu lado e por ser o meu melhor exemplo de que não devemos desanimar independente da situação que estejamos passando;
- À minha mãe Denair Carvalho, meu irmão Edison Júnior e minha irmã Camilla Carvalho, porque sem eles, nada disso seria possível.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	2
2.1. Origem e importância econômica da alface .....	2
2.2. Eficiência no uso da água.....	3
2.3. Potencial hídrico.....	4
2.4. Produção de pescado .....	5
2.5. Resíduos do pescado na produção de bioestimulantes do crescimento vegetal ..	6
2.6. Objetivo geral .....	8
2.7. Objetivos específicos.....	8
2.8. Hipótese.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Confeção das pilhas de compostagem.....	9
3.2. Análise química do composto produzido .....	9
3.3. Dosagem de carbono nas frações humificadas do composto .....	10
3.4. Extração de ácidos húmicos do composto para caracterização e teste com plantas.....	11
3.5. Composição elementar, acidez carboxílica, fenólica e total dos AH .....	11
3.6. Testes com plantas: ensaio inicial .....	12
3.7. Teste com plantas parte 2: ensaio com a dose de maior eficiência .....	13
3.7.1. Determinações do pH rizosférico e extrusão de prótons.....	14
3.7.2. Taxas de fotossíntese, condutância estomática e eficiência do uso de água	14
3.8. Análises estatísticas .....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
4.1. Caracterização do composto e dos ácidos húmicos.....	16
4.2. Ensaio inicial de doses de ácidos húmicos e crescimento de alface.....	19
4.3. Efeito da adição de soluções (0 e 20 mg L <sup>-1</sup> de ácidos húmicos) sobre a biometria e fisiologia de plantas de alface .....	24
5. CONCLUSÕES .....	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32

Carvalho, C.M., Influência de ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos da piscicultura sobre o crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.). 2016. Monografia (Bacharelado em Agronomia). Universidade de Brasília-UnB.

RESUMO - A pesca é uma atividade em ascensão no mercado Brasileiro. O resultado desse aumento é refletido também na geração de quantidade de resíduos, descartados como produto não comercializável. Em média, apenas 60% da produção é aproveitada. Existe no mercado especializado uma grande diversidade de produtos bioestimulantes vegetais produzidos a partir de substâncias húmicas extraídas de resíduos agroindustriais, matéria orgânica natural e materiais minerais. Resíduos da produção aquícola, têm sido pouco estudados e utilizados para esta finalidade. Neste trabalho, ácidos húmicos (AH) extraídos de composto de resíduos do processamento do pirarucu (*Arapaima gigas*) associados a material vegetal foram empregados como estimulantes visando determinar seu potencial como promotor do crescimento de alface. Observou-se que a dose de 20 mg L<sup>-1</sup> de AH promoveu maiores valores para a matéria seca e fresca radiculares. Também, a adição da dose 20 mg L<sup>-1</sup> de AH resultou em 25% maior extrusão de H<sup>+</sup> pelas raízes em relação ao tratamento sem adição de AH. Houve maior eficiência no uso da água, o que pode contribuir de maneira representativa para o manejo desse recurso imprescindível à agricultura. Desta forma, conclui-se que a compostagem de resíduos de pirarucu associado a material vegetal é uma fonte de AH que estimulam o crescimento de alface na dose de 20 mg L<sup>-1</sup>.

**Palavras-chaves:** bioestimulantes vegetais; produção aquícola; eficiência no uso de água.

Carvalho, C.M., Influence of humic acids extracted from fish farming residues on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth. 2016. Monograph (Bachelor of Agronomy). University of Brasília-UnB.

**ABSTRACT** - Fishing is a growing activity in the Brazilian market. The result of this increase is also reflected in the generation of quantity of waste, discarded as non-tradable product. On average, only 60% of production is used. There exists in the specialized market a great diversity of vegetal biostimulating products produced from humic substances extracted from agroindustrial residues, natural organic matter and mineral materials. Waste from aquaculture production has been little studied and used for this purpose. In this work, humic acids (HA) extracted from residues from the processing of pirarucu (*Arapaima gigas*) associated with plant material were used as stimulants to determine its potential as a promoter of lettuce growth. It was observed that the dose of 20 mg L<sup>-1</sup> of AH promoted higher values for dry and fresh root matter. Also, the addition of the 20 mg L<sup>-1</sup> dose of HA resulted in 25% higher H<sup>+</sup> extrusion by the roots compared to the treatment without addition of HA. There was greater efficiency in the use of water, which can contribute in a representative way to the management of this resource essential to agriculture. Thus, it is concluded that the composting of pirarucu residues associated with plant material is a source of HA that stimulates the growth of lettuce at a dose of 20 mg L<sup>-1</sup>.

**Key-words:** plant biostimulants; Aquaculture production; Efficiency in water use.



## **1. INTRODUÇÃO**

A aquicultura tem grande potencial para a geração de lucros e oportunidades para pessoas que necessitam de alguma fonte de renda utilizando aquilo que podem explorar. O Brasil, devido à condição de disponibilidade de recursos hídricos, apresenta potencial para o desenvolvimento desta atividade. Entretanto, aspectos associados à atenção quanto à geração e tratamento dos resíduos não comercializáveis devem ser priorizados. Um dos problemas relacionados à atividade está diretamente ligado ao descarte indevido desses resíduos, potencializando a poluição do ambiente, contribuindo para a ocorrência de impactos ambientais negativos (KOTZAMANIS et al., 2001).

Uma das formas de utilização de resíduos obtidos na atividade da aquicultura é a fabricação de ração animal, já que o produto contém alto valor nutritivo (ARRUDA et al., 2004). As tecnologias empregadas para este fim, entretanto, não está acessível aos pequenos produtores de pescado devido ao seu elevado custo. Como a maior parte de resíduos de peixe é formada por proteínas e gorduras (GHALY et al., 2013), a sua reciclagem pelo processo de compostagem constitui uma fonte potencial e de baixo custo de ácidos húmicos (AH), que é a fração estabilizada da matéria orgânica apontada como potencial estimulante do crescimento de plantas. Entretanto, estudos nesse aspecto são ainda raros. Assim, atuando em acordo com tendência de máximo aproveitamento das fontes de matéria e energia em propriedades rurais, a reutilização de resíduos de pescado pode ser uma prática importante na geração de bioestimulantes vegetais.

As substâncias húmicas (SH) formam a maior parte da matéria orgânica estabilizada e estão distribuídas nos ambientes terrestre e aquático, apresentando diversas funções ecológicas (STEVEYSON, 1994; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Elas são formadas por meio de transformações químicas, físicas e bioquímicas de

moléculas como proteínas, ligninas e carboidratos provenientes de resíduos animais e vegetais (STEVEYSON, 1994). Piccolo (2002) definiu ácidos fúlvicos (AF) como a fração das SH formada por associações de moléculas hidrofílicas, as quais são solúveis em qualquer valor de pH. Já os AH são componentes hidrofóbicos estabilizados a pH neutro, sendo solúveis somente em pH extremamente ácido. Diversas atividades geram resíduos orgânicos que podem ser empregados em processo de compostagem. A aquicultura é uma delas, sendo constante o uso de carne de peixe na alimentação humana (ARAÚJO et al., 2011).

Um grande número de trabalhos demonstrou que AH possuem ação direta no desenvolvimento de plantas. Os resultados mostram principalmente efeitos sobre o desenvolvimento radicular dos vegetais, agindo como promotor do crescimento, tais como incremento do número de raízes laterais (ZANDONADI et al., 2007; CANELLAS e OLIVARES, 2014). Além disso, AH podem aumentar a absorção de nutrientes (BACHMAN et al., 2008). Esse aumento tem sido relacionado ao maior estímulo de enzimas como a  $H^+$ -ATPase (PM  $H^+$ -ATPase) (CANELLAS et al., 2002; ZANDONADI et al., 2007) existentes nas membranas das plantas. Além disso, é possível que os AH influenciem na respiração celular, na taxa fotossintética e no conteúdo de clorofila das plantas (ATIYEH et al., 2005; XU et al., 2012; OLIVARES et al., 2015).

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### ***2.1. Origem e importância da alface***

Cultura nativa da região do Mediterrâneo Oriental e da Ásia ocidental, a alface (*Lactuca Sativa* L.) já era empregada para alimentação e uso medicinal na Grécia antiga e também pelos romanos, que acreditavam nas propriedades terapêuticas da planta

(LINDQUIST, 1960). Também foram encontradas representações em antigos túmulos egípcios, indicando ser cultivada há pelo menos 4.500 anos a.c. No Brasil, a cultura chegou no século XVI, trazida pelos portugueses.

A alface é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil. Segundo dados da EMATER-DF (2015), a produção de alface no Distrito Federal chegou a 30.118,85 toneladas no ano de 2015, tendo como maiores produtoras as regiões administrativas Brazlândia e Ceilândia, com uma área de 642,75 e 259,79 hectares, respectivamente. Em 2014, a alface movimentou um montante de R\$ 8 bilhões (ABCSEM, 2014), com uma produção de mais de 1,5 milhão de toneladas ao ano (FAEMG, 2015). A cultura é tradicionalmente cultivada por pequenos produtores familiares, mas veio se expandindo já sendo abrangente o cultivo em grande escala. O plantio ocorre diversas vezes ao ano, por ser uma cultura de rápido desenvolvimento do plantio à colheita (50-75 dias) e passa por dois períodos não favoráveis, de acordo com as condições meteorológicas (EMBRAPA, 2009). O primeiro período ocorre nos meses de inverno, consequência das temperaturas baixas (inferiores a 10 °C) e chuvas prolongadas, causando crescimento irregular das plantas, mostrando-se pouco desenvolvidas e também danificadas (EMBRAPA, 2009). O segundo período ocorre durante o verão, quando a temperatura do ar alcança valores superiores a 20°C e a radiação solar é elevada, favorecendo pendoamento precoce das plantas (FILGUEIRA et al., 2008).

## ***2.2. Eficiência no uso da água***

O uso de água para irrigação é um fator de total importância na agricultura, que é responsável por utilizar grande parte da água doce do planeta. Um dos grandes problemas relacionados à utilização da água na agricultura é o seu uso indiscriminado, resultando em desperdícios e gastos desnecessários. Para potencializar o uso deste

recurso, deve-se ter o conhecimento da necessidade de irrigação de cada cultura e aplicar da melhor e mais econômica forma possível.

A eficiência no uso da água (EUA) está relacionada com a produção de biomassa de acordo com a quantidade de água aplicada, tendo grande importância para a agricultura irrigada, auxiliando na otimização do uso da água, além de evitar déficits prejudiciais à demanda requerida pela sociedade em relação ao recurso. Uma forma de aumentar a eficiência da água na agricultura e que vem demonstrando resultados positivos é a regulação de frequência e volume de irrigação, balanceando de forma que haja maior frequência com baixo volume de aplicação (TOPAK et al., 2010).

A EUA pode ser interpretada de várias formas. De acordo com ODHIAMBO e KRANZ (2011), a EUA da folha é expressa como a razão entre a quantidade de carbono fixado na fotossíntese por unidade de água transpirada para redução de 1 kPa de déficit de pressão de vapor e a EUA da planta corresponde à razão entre a massa seca produzida e a lâmina de água que transpirada.

### ***2.3. Potencial hídrico***

O processo de abertura e fechamento dos estômatos está relacionado principalmente com a intensidade de luz e o estado de hidratação da folha (COSTA e MARENCO, 2007). Dessa forma, o funcionamento dos estômatos e a área foliar influenciam a produtividade do vegetal. O primeiro fator é porque controla a absorção de CO<sub>2</sub> e o segundo porque determina a interceptação de luz (COSTA e MARENCO, 2007). A intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO<sub>2</sub>, o teor de nitrogênio da folha e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2013). O potencial hídrico da folha é um dos fatores mais importantes que afetam o funcionamento dos estômatos e

consequentemente a captura de CO<sub>2</sub> para o metabolismo de carbono nas plantas (MARENCO e LOPES, 2005).

Estômatos são identificados como estruturas presentes na epiderme, predominantemente nas folhas, podendo também ser encontradas em frutos, flores e caules (VANNUCCI e REZENDE, 2003). Existem dois tipos de células estomáticas (células guardas), as que delimitam uma fenda (ostíolo), células anexas adjacentes e uma câmara subestomática, que está em conexão com espaços intercelulares, sendo responsáveis pela comunicação entre o interior da planta e o ambiente (KERBAUY, 2009; TAIZ e ZEIGER, 2013).

A redução da condutância estomática pode interferir em uma série de interações entre a planta e o ambiente, considerando que os estômatos são responsáveis pelo controle de vapor d'água e o balanço de energia (BRUNINI e CARDOSO, 1998). O fechamento dos estômatos representa um mecanismo de proteção da planta em situações de estresse, como déficit de água (OREN et al., 1999). No entanto, este fechamento pode impedir a entrada de CO<sub>2</sub> na planta, fator responsável pela realização da fotossíntese e quando ocorre por períodos prolongados, ocasiona queda na produção de fitomassa (BRUNINI e CARDOSO, 1998).

#### ***2.4. Produção de pescado***

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe nativo da bacia Amazônica pertencente à família *Arapaimida* que apresenta respiração aérea obrigatória, facilitando sua criação em ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio (SALVO-SOUZA e VAL, 1990). A carne do pirarucu tem ótima aceitação no mercado, o que permite alcançar bom preço de venda (PEREIRA-FILHO et al., 2003). Possui alta taxa de crescimento, podendo alcançar de 7 a 10 kg no primeiro ano de criação (IMBIRIBA, 2001). A criação desse

peixe pode se converter numa importante atividade econômica para pequenos e médios produtores, com possibilidade de geração de emprego e renda. Porém, um dos problemas enfrentados pela atividade é a grande geração de resíduos, os quais necessitam de tratamento e destinação adequados para evitar riscos de contaminação do ambiente (ARRUDA, 2004).

Em aquicultura, o termo resíduo refere-se às partes retiradas no processamento de alimentos que são de valor relativamente baixo. São compostos pela cabeça, nadadeiras, pele, escamas e vísceras dos animais que, dependendo da espécie, chegam a 66% em relação ao peso total inicial (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). Para a tilápia, a cabeça, carcaça e vísceras constituem 54% dos resíduos, a pele 10%, escamas 1% e as aparas dorsais e ventrais e do corte em “v” do filé 5% (VIDOTTI e BORINI, 2006). A produção de farinha e óleo de peixe requer grandes quantidades de resíduos, sendo uma atividade onerosa para pequenos produtores (ARRUDA, 2004). Já as elaborações de composto orgânico e silagem apresentam características de produção que permitem, desde uma pequena até uma grande unidade produtora, o aproveitamento do resíduo (RISTIC et al., 2002).

### ***2.5. Resíduos do pescado na produção de bioestimulantes do crescimento vegetal***

Resíduos provenientes da atividade de produção de pescado podem apresentar potencial de reutilização como fertilizantes orgânicos ou bioestimulantes do crescimento vegetal, desde que sejam devidamente tratados e que não apresentem agentes contaminantes (ILLERA-VIVES et al., 2013; VALENTE et al., 2014; SANES et al., 2015). A reutilização desses resíduos em áreas agrícolas necessita, entretanto, da sua prévia caracterização e avaliação. O método de compostagem aeróbia pode ser uma ferramenta importante para eliminação de possíveis patógenos, bem como

para transformar os resíduos em matéria orgânica estabilizada. Entretanto, a utilização de resíduos provenientes da aquicultura tem sido pouco estudada no meio acadêmico.

A matéria orgânica presente em resíduos é formada por uma vasta gama de compostos cuja identificação e caracterização tem sido objeto de estudo ao longo de mais de um século. A parcela desses compostos que não apresenta identificação bioquímica definida tem sido denominada como substâncias húmicas (SH) (STEVENSON, 1994). A comprovação do papel das SH como agente de incentivo ao crescimento vegetal aumentou nas últimas décadas, resultando na obtenção de produtos que já fazem parte do cotidiano dos agricultores. A atuação é atribuída a efeitos hormonais quando as SH entram em contato com plantas (CANELLAS et al., 2002; ZANDONADI et al., 2007; BUSATO et al., 2010).

A eficiência das SH obtidas de diferentes resíduos orgânicos como agente promotor de crescimento vegetal já foi comprovada por diferentes autores, empregando plantas diferentes (CANELLAS et al., 2002; NARDI et al., 2002; RODDA et al., 2006; ZANDONADI et al., 2007; BALDOTTO et al. 2009; DOBBSS et al., 2010; SILVA et al. 2011). Esse estímulo tem sido associado ao aumento da atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase presente na membrana plasmática (CANELLAS et al., 2002; ZANDONADI et al., 2010; ZANDONADI e BUSATO, 2012). Até o momento desta revisão, entretanto, não foram encontrados trabalhos que abordam o uso de resíduos provenientes da atividade de produção de pescado como possível matéria-prima fornecedora de SH capazes de estimular o desenvolvimento das plantas.

Esta abordagem faz parte de um esforço tecnológico que prevê a redução do uso de materiais de origem não renovável como fornecedores de nutrientes, bem como um esforço ambiental para direcionar de maneira racional, diferentes resíduos orgânicos já que o descarte *in natura* desses resíduos no ambiente apresenta elevado potencial

contaminante para o solo e cursos d'água. Para reduzir esses riscos, tratamentos para eliminar possíveis patógenos e outras substâncias são preconizados. A atividade da compostagem constitui um tratamento eficiente, capaz de gerar um produto final seguro e enriquecido em SH e nutrientes.

## **2.6. Objetivo geral**

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar se AH extraídos de composto produzido a partir de resíduos não comercializados de *Arapaima gigas* (pirarucu) associado a material vegetal atuam como bioestimulante de crescimento para alface (*Lactuca sativa* L.).

## **2.7. Objetivos específicos**

- Caracterizar quimicamente o composto de pirarucu associado a material vegetal;
- Avaliar a aplicação de diferentes doses do AH sobre parâmetros de crescimento vegetativo da alface, determinando uma possível dose mais eficiente;
- Conduzir experimento empregando a dose mais eficiente potencialmente determinada sobre parâmetros biométricos e fisiológicos das plantas de alface.

## **2.8. Hipótese**

Ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos do processamento do pirarucu em associação com material vegetal promovem maior desenvolvimento do sistema radicular de plantas de alface, podendo também influenciar na taxa de fotossíntese, na condutância estomática e na eficiência no uso de água.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### ***3.1. Confeção das pilhas de compostagem***

Inicialmente, foram obtidos os resíduos não comercializados após o beneficiamento de pirarucu e também capim brachiaria para formar pilhas de compostagem, em uma proporção de 3 partes de resíduo de pescado para cada parte de capim (v:v). As pilhas foram confeccionadas na Universidade de Brasília, campus Darcy Ribeiro, em local apropriado e protegido ao abrigo da chuva. Material vegetal e resíduo de pescado foram dispostos em camadas de 15 cm de altura, alternativamente, até que a pilha apresentasse aproximadamente 1 metro. Sobre a pilha, foi acondicionou-se uma camada de palha seca para evitar que o resíduo do peixe atraísse possíveis vetores, bem como para evitar odor desagradável. Esta camada também teve a finalidade de evitar a perda excessiva de água, reduzindo a necessidade de regas durante o processo. A pilha foi umedecida e revirada semanalmente até o período de 30 dias. Após, o material previamente compostado foi condicionado em vasos de cerâmica com capacidade para 40 dm<sup>3</sup> e o processo foi conduzido por um período de 90 dias, totalizando 120 dias de processo. As amostras foram então obtidas para determinação das características químicas e testes com plantas após os 120 dias.

#### ***3.2. Análise química do composto produzido***

Os teores totais de potássio, cálcio, magnésio, ferro, zinco, níquel, molibdênio, manganês, cobre, sódio, cromo e cádmio foram determinados no composto após digestão nítro-clorídrica. A determinação desses elementos ocorreu utilizando-se um espectrômetro de emissão atômica com plasma por micro-ondas (AGILENT TECHNOLOGIES 4200). O teor de carbono total foi obtido por dicromatometria, após oxidação do carbono orgânico por Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> e determinação do excesso deste por titulação

com sulfato ferroso amoniacal. Os valores de pH e condutividade elétrica foram obtidos, respectivamente, em pHmetro e condutivímetro utilizando-se água como extrato (1:5, v:v). O P total foi determinado após digestão sulfúrica de amostra a 350°C, com leitura do P extraído em espectrofotômetro (660 nm) após formação de complexo fósforo-molibdênio em presença de ácido ascórbico como solução redutora. O N total foi determinado após digestão sulfúrica seguida de destilação com NaOH 13 mol L<sup>-1</sup> e titulação com ácido clorídrico. Todos os procedimentos estão detalhadamente descritos em MAPA (2014).

### ***3.3. Dosagem de carbono nas frações humificadas do composto***

Foi realizada utilizando uma adaptação do método da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas-IHSS, empregando-se NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> como extrator, na relação 1:20 (p:v) e tempo de contato de 12 h. A separação do extrato alcalino obtido foi feita por centrifugação (3000 G, 20 min). O resíduo insolúvel foi recolhido e reservado para determinação do carbono na forma de huminas. O extrato alcalino teve o pH ajustado para 1,5-2,0 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6,0 mol L<sup>-1</sup>. O precipitado desta reação de acidificação, fração ácidos húmicos (AH), foi separado da fração solúvel por centrifugação (3000 G, 10 min), rediluído em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> sendo o seu volume aferido para 50 mL. A porção solúvel no extrato acidificado, fração ácidos fúlvicos (AF), foi aferida para 50 mL. A determinação quantitativa de carbono em cada fração foi feita por meio da oxidação do C com Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> e titulação com sulfato ferroso amoniacal, método detalhadamente descrito em CANELLAS e SANTOS (2005).

### ***3.4. Extração de ácidos húmicos do composto para caracterização e teste com plantas***

Após a estabilização do resíduo (120 dias), o material foi coletado para a extração das SH. Amostras do resíduo foram agitadas com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, na proporção 1:20, por 12 horas. Após, a solução de sobrenadante foi separada da fração residual por centrifugação (3000 G, 20 min.). O resíduo insolúvel foi ressuspenso em igual volume de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, com nova agitação durante 4 h. A solução foi centrifugada e o sobrenadante adicionado ao anteriormente recolhido. O procedimento foi repetido até obtenção de solução límpida. A solução obtida foi acidificada a pH 1,0-1,5 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado para precipitação dos AH e separados dos AF após centrifugação. Os AH extraídos foram tratados com 100 mL de uma solução de HF - HCl [5 mL de HF e 5 mL de HCl concentrados, com volume da solução completado para 1 L com água destilada] para remoção de impurezas minerais. Após, o material foi novamente centrifugado. Os AH foram então repetidamente lavados com água destilada até teste negativo com AgNO<sub>3</sub>, dialisados em membrana contra água destilada (12 a 14-kDa de exclusão) e secos por liofilização visando posteriores análises.

### ***3.5. Composição elementar, acidez carboxílica, fenólica e total dos ácidos húmicos***

Os teores de C, N e H nos AH foram obtidos por combustão em via seca, num analisador elementar automático (PERKIN ELMER 2400). A acidez fenólica e a carboxílica foram determinadas por titulação com presença de Ca(COO)<sub>2</sub> ou Ba(OH)<sub>2</sub> (SCHNITZER e GUPTA, 1965). Para acidez fenólica, 50 mg de AH foram colocados em erlenmeyer de 250 mL com 50 mL de solução de Ca(COO)<sub>2</sub> 0,2 mol L<sup>-1</sup> em água livre de CO<sub>2</sub>. O material foi agitado por 24 h, filtrado em papel faixa azul e o resíduo lavado com água ultrapura. A mistura (filtrado + água de lavagem) foi titulada com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A variação do pH foi acompanhada em pHmetro até pH = 9,8±0,2.

Para acidez total, 50 mg de AH contidos em erlenmeyer de 250 mL, adicionando-se  $\text{Ba}(\text{OH})_2$   $0,125 \text{ mol L}^{-1}$  e agitando-se por 24 h. A suspensão foi filtrada em papel faixa azul, sendo o resíduo lavado com água ultrapura. A mistura (filtrado + água de lavagem) foi titulada com  $\text{HCl}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ . A titulação foi acompanhada com pHmetro até pH  $8,4 \pm 0,1$ . A acidez carboxílica foi determinada pela diferença entre a acidez total e a fenólica.

### ***3.6. Testes com plantas: ensaio inicial***

O crescimento de alface a partir da aplicação de diferentes doses de AH foi avaliada utilizando-se um experimento de cultivo em vasos conduzido em casa de vegetação, na estação biológica da UnB (Figura 1). Para isto, um substrato produzido a partir de cama de frango, capim triturado e fosfato natural foi produzido (5:20:1, v:v:v). Para o cultivo, misturaram-se duas partes do substrato para uma de solo (relação 2:1, v:v). Sementes da cultivar solta crespa foram germinadas utilizando-se papel de germinação autoclavado, em câmara de germinação (12 h de luz,  $18^\circ\text{C}$ ) e posteriormente transplantadas para vasos com capacidade para  $7 \text{ dm}^3$ . O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 10 repetições, e foi empregado para a determinação de uma dose mais eficiente para o tratamento de alface.

Os tratamentos consistiram na aplicação de 10 ml, na base da planta, a cada 7 dias, de soluções contendo 0, 10, 20, 40 e  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de AH. No preparo das soluções, os AH foram diluídos em  $\text{KOH}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , completando-se o volume com água destilada. O pH das soluções foi ajustado para 6,0 empregando-se  $\text{HCl}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Após 45 dias de cultivo, as plantas foram coletadas para as seguintes determinações: número de folhas, por contagem manual; comprimento da raiz principal e diâmetro do

caule, utilizando-se régua graduada; matéria fresca radicular e aérea, por pesagem em balança analítica; matéria seca radicular e aérea, por pesagem em balança analítica após secagem por 72 h em estufa de circulação de ar, a 65°C; área foliar, após processamento de imagem das folhas utilizando-se o programa IMAGEJ®; estimativa do teor de clorofila, utilizando-se medidor portátil de clorofila SPAD-502.



**FIGURA 1** – Produção de alface (*Lactuca sativa* L. cultivar solta crespa) sob adição de diferentes doses de ácidos húmicos extraídos de composto produzido a partir de resíduos de pescado e material vegetal.

### ***3.7. Teste com plantas parte 2: ensaio com a dose de maior eficiência.***

Sementes de alface foram germinadas novamente sob as mesmas condições apresentadas em 3.6. Entretanto, não foi utilizada água para umedecimento do papel de germinação, mas soluções contendo 0 e 20 mg L<sup>-1</sup> de AH esta dose de AH foi estabelecida como aquela com maior estímulo ao crescimento observada no experimento conduzido em 3.6. Após, as plântulas foram transferidas para vasos plásticos preenchidos com a mesma mistura já descrita anteriormente. Semanalmente, as plantas receberam adição de 5 mL de cada solução contendo AH (0 e 20 mg L<sup>-1</sup> de AH) e após 45 dias foram colhidas para análises.

### ***3.7.1. Determinações do pH rizosférico e extrusão de prótons***

Foram determinados em plântulas, após 7 dias de tratamento. Raízes das plantas foram colocadas sobre 5 mm de gel ágar 0,8% contendo 10 mmol de CaSO<sub>4</sub> e 0,03% do indicador de pH púrpura de bromocresol, em pH 6,5, em placas de Petri. A mudança da cor do meio de púrpura para amarelo demonstra a acidificação da raiz. As placas foram fotografadas nos tempos 0, 12, 24 e 48 h de incubação e as imagens foram analisadas no software ImageJ<sup>®</sup>, para estimativa da acidificação.

### ***3.7.2. Taxas de fotossíntese, condutância estomática e eficiência do uso de água***

Foram avaliadas características associadas às taxas de fotossíntese, condutância estomática e eficiência do uso de água, dentro da câmara subestomática. Para tais variáveis foi utilizado um analisador de gás infravermelho (IRGA - Infra-Red Gas Analyser) portátil, de sistema aberto, modelo LICOR 6400 XT. A EUA da folha é expressa como a razão entre a quantidade de carbono fixado na fotossíntese por unidade de água transpirada para redução de 1 kPa de déficit de pressão de vapor e a EUA da planta corresponde à razão entre a massa seca produzida e a lâmina de água que transpirada (ODHIAMBO e KRANZ, 2011).

### ***3.7.3. Contagem de raízes laterais***

Para a contagem das raízes laterais, as sementes de alface foram novamente germinadas em caixas de acrílico tipo germitest e papel de germinação esterilizados em autoclave, em câmara de crescimento de plantas do tipo BOD, numa temperatura constante de 20°C, intensidade de luz de 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 12 h. Posteriormente, foram aplicados os tratamentos que consistiram na adição de 10 mL de soluções contendo 0 e 20 mg L<sup>-1</sup> de AH, obtidas sob as mesmas condições já

apresentadas. Duas caixas gerbox contendo 30 sementes para cada tratamento foram acondicionadas em câmara BOD e, após 14 dias, realizou-se a contagem do número de raízes laterais nas plantas.

### ***3.8. Análise estatística***

O experimento inicial apresentado em 3.6. foi conduzido segundo um delineamento inteiramente casualizado, contando com 5 tratamentos (doses de 0, 10, 20, 40 e 80 mg L<sup>-1</sup> de AH) e 10 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e para as características significativas realizou-se teste de médias (Tukey,  $p < 0,05$ ), empregando-se o software R. Com a determinação da dose mais eficiente, o segundo experimento foi analisado por teste de F e análise descritiva. Similarmente, as características do composto e AH foi analisada descritivamente.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***4.1. Caracterização do composto e dos ácidos húmicos***

A Tabela 1 apresenta os resultados da caracterização química do composto produzido a partir de resíduos de pescado e material vegetal. O valor da condutividade elétrica foi de 1617,00  $\mu\text{s cm}^{-1}$ , valor inferior ao observado por ILLERA et al. (2013) e dentro dos limites estabelecidos como material seguro para uso agrícola (SHARMA et al., 2007). A condutividade reflete a salinidade de materiais orgânicos e inorgânicos, sendo que elevados valores representam potenciais problemas de fitotoxidez aos cultivos, especialmente devido à elevação da pressão osmótica e de sódio no solo. O processo de compostagem foi, portanto, eficiente para produzir um produto final cuja condutividade elétrica não oferece riscos às plantas.

O pH do resíduo após compostagem foi ligeiramente alcalino (7,57), apresentando-se superior aos valores determinados por SANES et al. (2015) que estudaram as características químicas de resíduos de outros tipos de pescado. A acidificação de materiais ao longo do processo de compostagem tem sido atribuída à mineralização de compostos fosfatados e nitrogenados, à liberação de  $\text{CO}_2$  proveniente da atividade microbiana e à produção de SH (BUSATO et al., 2015). O valor alcalino determinado no presente trabalho sugere recalcitrância do material original, reduzindo a atividade microbiana e consequentemente a produção de materiais humificados e  $\text{CO}_2$ . Além disso, o teor de nitrogênio determinado foi relativamente baixo (22,6  $\text{mg g}^{-1}$ , Tabela 1), reduzindo a probabilidade de mineralização de formas orgânicas e consequentemente menor acidificação do meio.

Os teores totais de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio no composto foram de 22,6; 180,30; 3,81; 110,04 e 3,95  $\text{mg g}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 1).



**TABELA 1** – Teores totais de nutrientes, pH, condutividade elétrica, capacidade de troca de cátions e distribuição do carbono humificado em composto produzido a partir de resíduos de pescado e material vegetal.

	<b>Presente trabalho</b>	<b>SANES et al. (2015)</b>	<b>ILLERAS-VIVES et al. (2013)</b>
CE ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )	1617,20	-	2210,00-2780,00
pH	7,57 ( $\pm 0,10$ )	6,30-7,20	6,72-6,83
Carbono ( $\text{mg g}^{-1}$ )	175,80 ( $\pm 14,14$ )	410,00-460,00	435,3-480,8
Nitrogênio ( $\text{mg g}^{-1}$ )	22,60 ( $\pm 1,12$ )	9,00-40,00	20,80-21,60
Relação C/N	7,78	30,00-128,10	20,97-22,88
Fosforo ( $\text{mg g}^{-1}$ )	180,30( $\pm 8,06$ )	14,00-29,00	5,70-6,60
Potássio ( $\text{mg g}^{-1}$ )	3,81 ( $\pm 0,06$ )	2,50-2,60	6,70-7,70
Cálcio ( $\text{mg g}^{-1}$ )	110,04 ( $\pm 0,64$ )	29,00-68,00	8,00-11,6
Magnésio ( $\text{mg g}^{-1}$ )	3,95 ( $\pm 0,14$ )	1,00-2,00	2,60-3,10
Zinco ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,23 ( $\pm 0,01$ )	0,02-0,07	0,03
Ferro ( $\text{mg g}^{-1}$ )	1,71 ( $\pm 0,22$ )	0,33-0,50	0,79-1,05
Molibdênio ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,04 ( $\pm 0,01$ )	-	-
Manganês ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,09 ( $\pm 0,01$ )	0,03	0,08-1,00
Cobre ( $\text{mg g}^{-1}$ )	0,03 ( $\pm 0,00$ )	0,004	0,005-0,006
CTC ( $\text{mmol}_c \text{Kg}^{-1}$ )	410,00 ( $\pm 6,40$ )	-	-
$C_{\text{AH}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	14,76 ( $\pm 0,41$ )	-	-
$C_{\text{AF}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	10,21 ( $\pm 0,65$ )	-	-
$C_{\text{H}}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	72,47 ( $\pm 3,12$ )	-	-

Valores entre parênteses representam o erro padrão da média (EPM = desvio padrão/ $\sqrt{n}$ ), sendo n = número de repetições.

Esses valores sugerem que o resíduo pode ser empregado principalmente como fonte de fósforo e cálcio para as plantas, devido aos elevados teores desses nutrientes no produto final. Dentre os micronutrientes vegetais avaliados, especial atenção merece ser dada ao teor de ferro, que apresentou elevado valor ( $1,71 \text{ mg g}^{-1}$ ).

A elevada CTC do composto ( $410,00 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ) sugere que a sua utilização direta no solo pode beneficiar a retenção de nutrientes provenientes de adubações, reduzindo a possibilidade de perdas por processo de lixiviação.

A maior parte do carbono armazenado nas frações humificadas esteve presente na fração huminas ( $72,47 \text{ mg g}^{-1}$ ), seguida da fração AH ( $14,76 \text{ mg g}^{-1}$ ) e

AF (10,21 mg g<sup>-1</sup>). A maior participação das huminas é compatível com diversos outros trabalhos que demonstram predominância do carbono armazenado nesta fração ao longo da degradação de materiais orgânicos (FONTANA, 2009; ROSSI et al., 2011; CARDOSO et al., 2013). Em geral, os teores de huminas tendem a se estabilizar após 60 dias de compostagem, apresentando valores finais próximos a 60 mg g<sup>-1</sup> (FOURTI et al., 2010). Esses autores também observaram que os teores elevados de AF no início de compostagem são reduzidos ao longo do processo, estabilizando-se em valores próximos a 10 mg g<sup>-1</sup>, muito próximo ao teor observado ao final da estabilização do resíduo do pirarucu e material vegetal (10,21 mg g<sup>-1</sup>, Tabela 1).

A estabilização de resíduos orgânicos por processos bio-oxidativos como a compostagem resulta em um incremento gradual e linear de AH (ALBRECHT et al., 2010; FOURTI et al., 2010; BUSATO et al., 2012; BUSATO et al., 2015). É possível sugerir que parte do carbono decomposto na fração AF e outras formas de carbono do resíduo original tenha sido estabilizado na forma de AH, resultando num valor final de 14,76 mg g<sup>-1</sup>.

Os resultados da determinação da acidez total, fenólica e carboxílica dos AH extraídos do composto, assim como sua composição elementar, são apresentados na Tabela 2. Os resultados demonstram baixos teores de C e N e elevado valor para o conteúdo de O quando comparado à composição média usualmente encontrada para AH extraídos de solos (RICE e MACCARTHY, 1991). O alto conteúdo de O sugere um elevado nível de oxidação dos AH, apontando para uma elevada acidez total e capacidade de troca de cátions. De fato, a investigação dos grupos funcionais ácidos revelou a presença de elevada acidez total nos AH, semelhante ao já observado para outros resíduos orgânicos, tal como aqueles extraídos de torta de filtro compostada

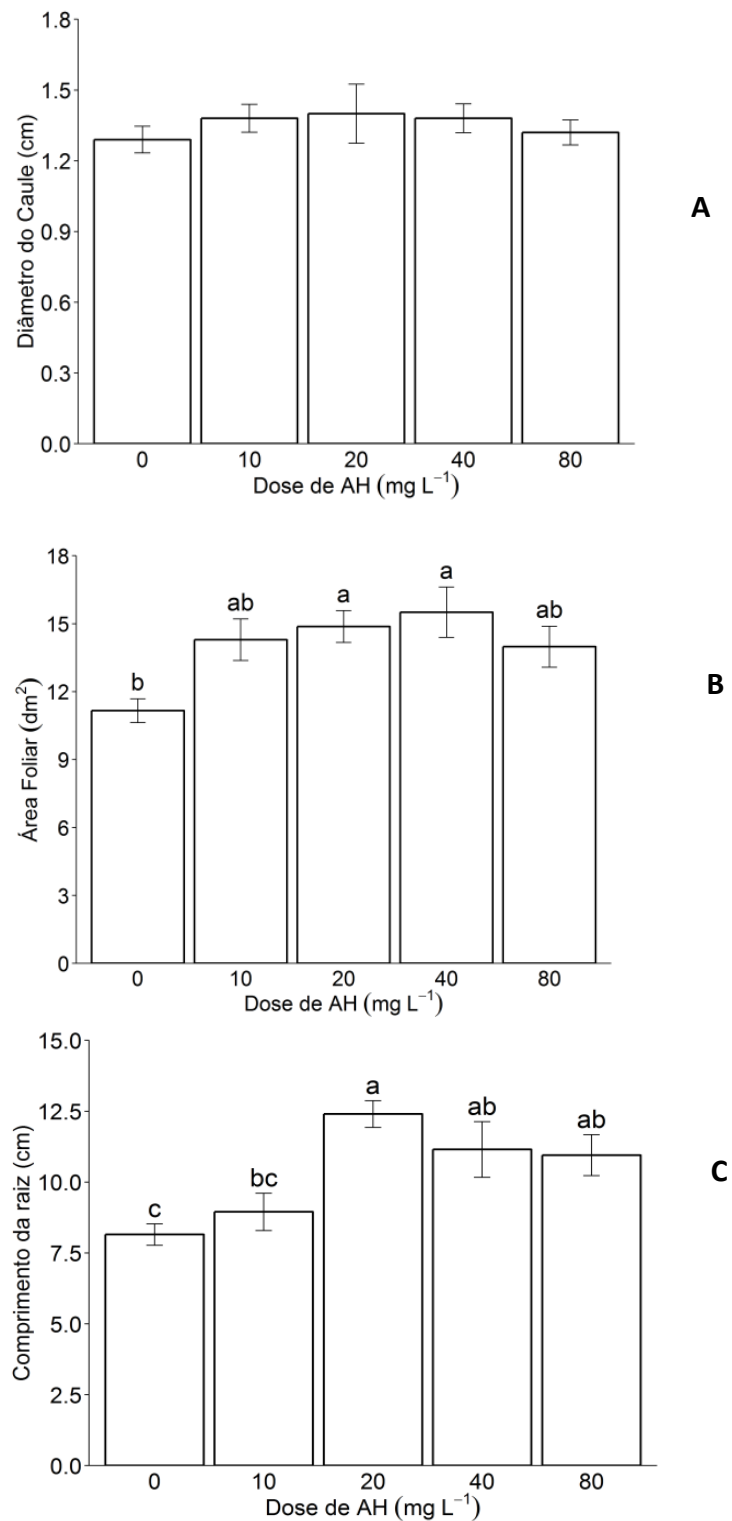
(BUSATO et al., 2010). É interessante notar que a maior parte da acidez determinada (81,5%) é devida à acidez fenólica, dando suporte ao elevado conteúdo de O nos AH.

**TABELA 2** – Acidez total, fenólica e carboxílica e composição elementar de ácidos húmicos extraídos do composto extraído de resíduos de pescado e material vegetal.

	Acidez total	Acidez fenólica	Acidez carboxílica	C	H	N	O
	.....mmol <sub>c</sub> g <sup>-1</sup> .....			.....mg g <sup>-1</sup> .....			
Ácidos húmicos	7,58	6,18	1,39	472,70	63,97	57,10	451,23

#### **4.2. Ensaio inicial de doses de ácidos húmicos e crescimento de alface**

Os resultados para o diâmetro do caule, área foliar e comprimento da raiz medidos em plantas de alface submetidas à aplicação das diferentes doses de AH são apresentados nas Figuras 2 a 6. Dentre essas avaliações, somente o diâmetro do caule não apresentou significância estatística (Figura 2A).

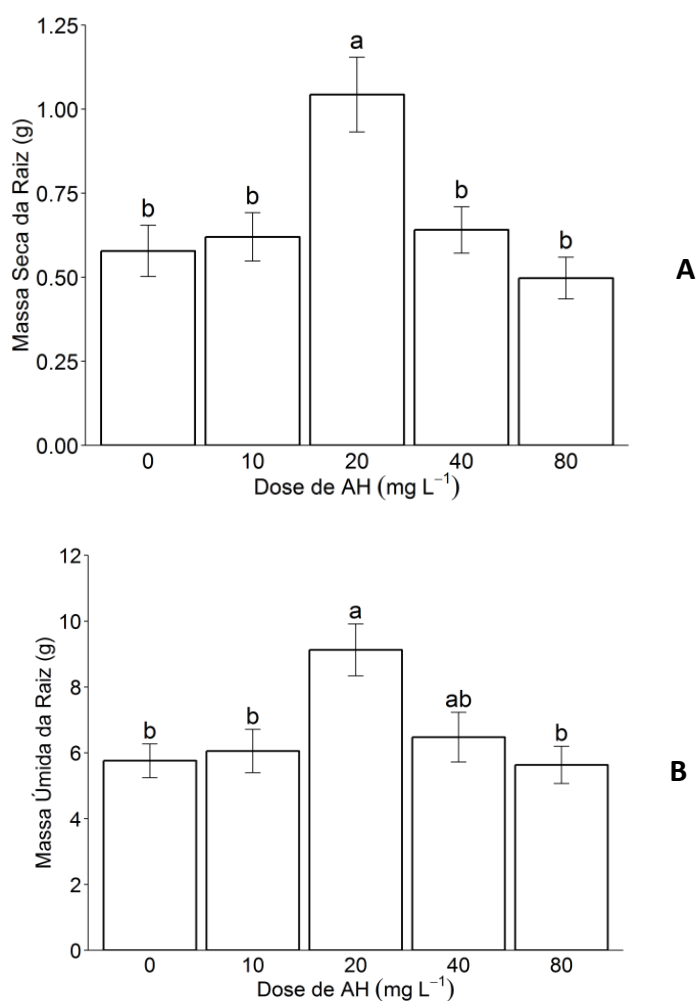


**FIGURA 2** – Diâmetro do caule (A), área foliar (B) e comprimento da raiz (C) de *Lactuca sativa* L. (cultivar solta crespa) cultivada com adição de soluções de ácidos húmicos extraídos de composto produzido a partir de resíduos de pescado e material vegetal. Barras representam o erro padrão da média e as médias seguidas pela mesma letra não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os efeitos benéficos da adição de soluções no contendo SH ou suas frações sobre o crescimento de plantas podem ser indiretos, tais como aqueles associados ao aumento da eficiência de fertilizantes ou a redução da compactação dos solos, aumentando o teor de carbono orgânico e a porosidade, ou diretos, resultantes do aumento da biomassa vegetal promovido por processos metabólicos e fisiológicos incentivados por essas substâncias (NARDI et al., 2002). Em particular, o estímulo ao crescimento das raízes é mais reportado que o desenvolvimento de outras estruturas vegetais (VAUGHAN e MALCOM, 1985; CANELLAS et al., 2002; ZANDONADI et al., 2007). Isto poderia explicar a ausência de efeito dos AH sobre o aumento do diâmetro do caule nas plantas de alface. Entretanto, além do sistema radicular, a área foliar foi aumentada em 38,0% em relação ao controle quando as doses 20 e 40 mg AH L<sup>-1</sup> foram aplicadas (Figura 2B). Isto representa maior potencial de captura de CO<sub>2</sub> atmosférico, favorecendo a fotossíntese.

Acréscimo expressivo de 52,1% no comprimento da raiz principal em relação ao controle foi observado com a aplicação da dose 20 mg L<sup>-1</sup> de AH (Figura 2C). Uma vasta série de trabalhos tem reportado ao longo de quase 100 anos de pesquisa que as SH podem afetar o crescimento de plantas por um efeito hormonal (BOTTOMLEY, 1914; 1917; 1920; HILLITZER, 1932; CACCO e DELL'AGNOLA, 1984; DELL'AGNOLA e NARDI, 1987; NARDI et al., 1988; PICCOLO et al., 1992; CANELLAS et al., 2002), com especial efeito sobre o sistema radicular.

Além disso, as matérias seca e úmida das raízes (Figuras 3A e B) foram significativamente aumentadas com a adição desta mesma dose de AH.



**FIGURA 3** – Matéria seca (A) e úmida (B) do sistema radicular de *Lactuca sativa* L. (cultivar solta crespa) cultivada com adição de soluções de ácidos húmicos extraídos de composto produzido a partir de resíduos de pescado e material vegetal. Barras representam o erro padrão da média e as médias seguidas pela mesma letra não se diferenciam estatisticamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

A Figura 4 ilustra o crescimento das raízes das plantas tratadas com AH (20 mg L<sup>-1</sup> de AH) em relação ao controle. Visualmente, observou-se maior crescimento do sistema radicular das plantas tratadas com os AH, o que foi confirmado pelos valores aumentados de matéria seca e fresca. Com isso, é possível que esses vegetais possam

apresentar maior eficiência na absorção de água e nutrientes, podendo atuar de maneira ainda mais marcante na modificação da rizosfera visando seu benefício próprio.

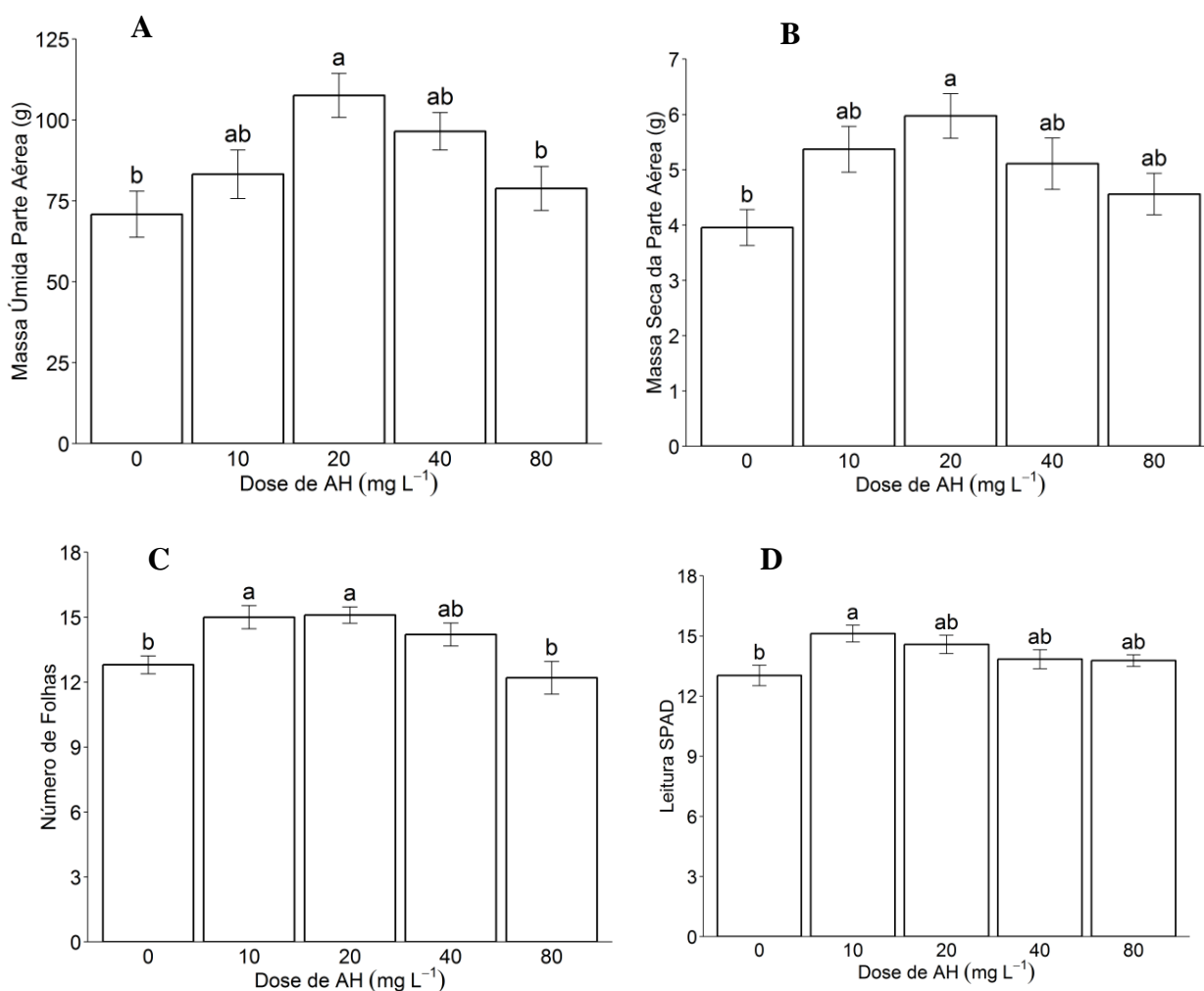


**FIGURA 4** – Sistema radicular de *Lactuca sativa* L. (cultivar solta crespa) crescida após adição de soluções contendo dose 0 e 20 mg L<sup>-1</sup> de ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos de pescado e material vegetal.

Tanto a matéria úmida quanto a seca da parte aérea (Figuras 5A e B, respectivamente) tiveram acréscimo em relação ao controle quando dose relativa a 20 mg L<sup>-1</sup> de AH foi aplicada. Este efeito pode estar associado ao aumento da absorção de nutrientes, o que favorece a síntese de compostos nas folhas e concomitante redistribuição destes nas plantas. Isto apresentou reflexo no número de folhas das plantas, que teve seu quantitativo aumentado significativamente na aplicação da dose 20 mg L<sup>-1</sup> de AH em comparação ao controle (Fig. 5C).

Os teores de clorofila nas plantas que receberam a adição de solução contendo 10 mg L<sup>-1</sup> de AH foram superiores ao controle (Figura 5D). Aumentos nos teores de

pigmentos fotossintéticos na cultura de abacaxi (BALDOTTO et al., 2009), uva (FERRARA e BRUNETTI, 2008) e crisântemo (FAN et al., 2014) em resposta a substâncias húmicas já foram reportados. Isso pode estar associado à maior estruturação dos tilacóides, acelerando a razão de fótons absorvidos e convertidos no cloroplasto, promovendo a fotossíntese (FAN et al., 2014). Espécies agrícolas usualmente apresentam correlação direta entre área foliar e a área da superfície fotossintetizante útil (TATAGIBA et al., 2010) e, assim, quanto maior a área foliar maior a taxa fotossintética. Nesse sentido, mais uma vez, o efeito benéfico da adição de AH extraídos do composto de resíduo de pescado pode ser apontado.



**FIGURA 5** – Variáveis de crescimento e leitura SPAD (D) de *Lactuca sativa* L. (cultivar solta crespa) cultivada com adição de soluções de ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos de pescado e material vegetal. Barras representam o erro padrão

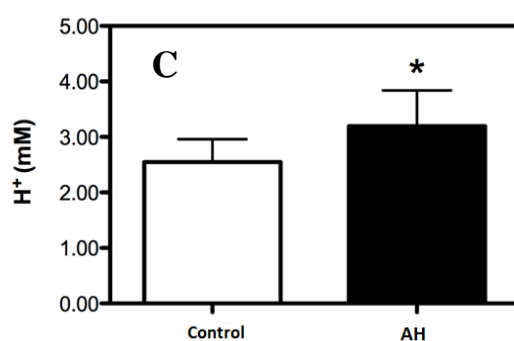
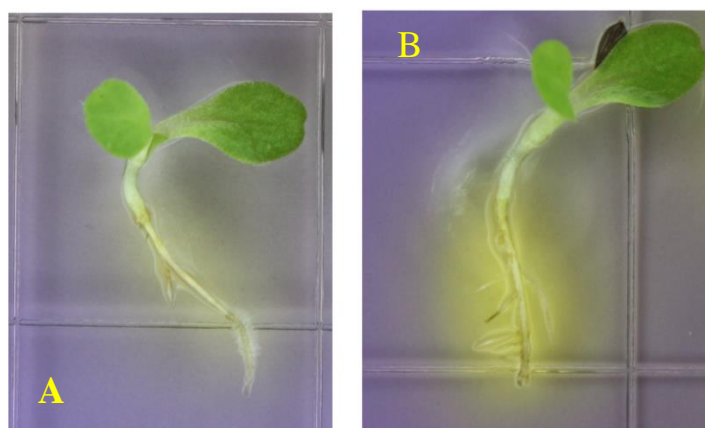


da média e as médias seguidas pela mesma letra não se diferenciam estatisticamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

No presente experimento, apesar da análise estatística apresentar médias semelhantes para diferentes doses de AH, as variáveis massa úmida e seca de raiz, comprimento de raiz, massa úmida e seca aérea apresentaram média absoluta superior no tratamento com aplicação de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH. Assim, na impossibilidade de obtenção de equações quadráticas ajustadas, optou-se por dar prosseguimento ao experimento empregando-se, como dose de maior efeito, àquela relativa à aplicação de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH.

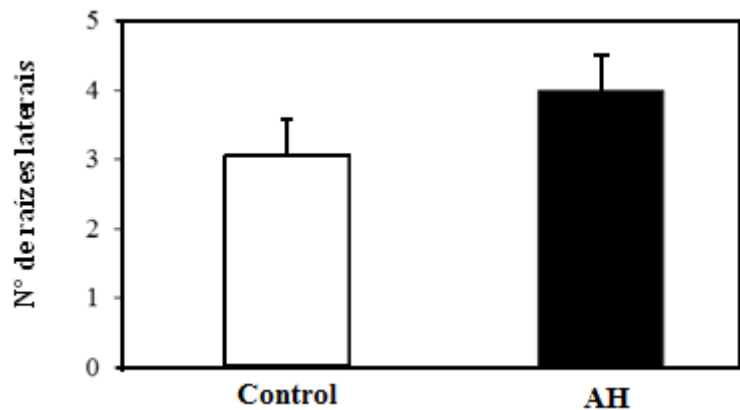
#### ***4.3. Efeito da adição de soluções ( 0 e $20 \text{ mg L}^{-1}$ de ácidos húmicos) sobre a biometria e fisiologia de plantas de alface***

Em continuidade à primeira parte do experimento, foi realizado novamente o plantio de alface em casa de vegetação, mas desta vez utilizando-se apenas a dose estabelecida como aquela com maiores efeitos sobre o crescimento da alface  $20 \text{ mg L}^{-1}$ , de AH e controle,  $0 \text{ mg L}^{-1}$ . A Figura 6 apresenta o resultado da extrusão de prótons das raízes tratadas com as doses de AH ( $0$  e  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH), determinando o pH rizosférico de cada um dos tratamentos. A cor amarela indica a acidificação da raiz. O tratamento com adição de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH apresentou extrusão de  $\text{H}^+$  25% maior que o controle, indicando maior atividade da enzima  $\text{H}^+$ -ATPase presente nas membranas. Assim, é possível que os mecanismos de transporte de nutrientes sejam incentivados, favorecendo a nutrição da planta (TAIZ e ZEIGER, 2013). Uma série de compostos naturais, incluindo os AH, tem sido empregados na expectativa de aumentar a atividade desta enzima e favorecer a nutrição das plantas (ZANDONADI et al., 2010).



**FIGURA 6** – Acidificação das raízes de *Lactuca sativa* L. (cultivar crespa): A) Controle, sem aplicação de AH; B) Aplicação de 20 mg L<sup>-1</sup> de AH. C) Extrusão de H<sup>+</sup> pelas raízes.

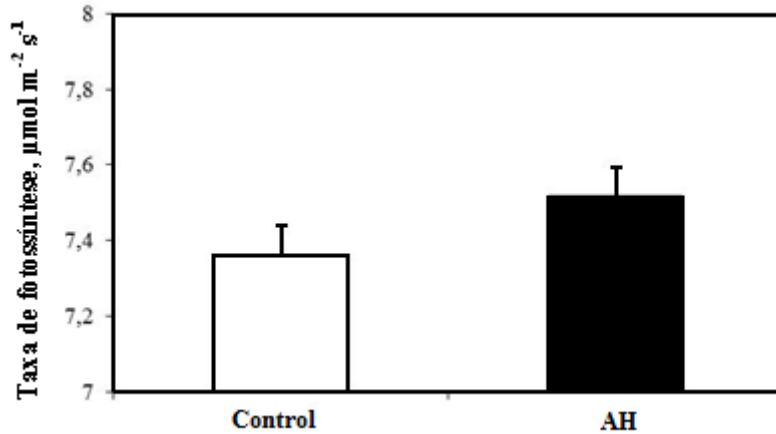
A Figura 7 apresenta o número de raízes laterais presentes em plântulas de alface, tendo o tratamento com aplicação de 20 mg L<sup>-1</sup> de AH apresentado 25% mais raízes laterais que o tratamento controle. As SH influenciam diretamente a estrutura física, química e microbiológica dos ambientes onde estão presentes, assim como afetam o metabolismo e o crescimento das plantas (CANELLAS et al., 2005). Os AH são utilizados para melhorar as condições do solo para o desenvolvimento, principalmente do sistema radicular das plantas cultivadas. Os efeitos mais notáveis dos AH nas plantas ocorrem nas raízes, onde promovem efeito positivo no crescimento, seja pelo aumento das ramificações laterais, ou pelo incremento de sua biomassa. Estes efeitos estão relacionados aos mesmos efeitos da auxina (CANELLAS et al., 2005).



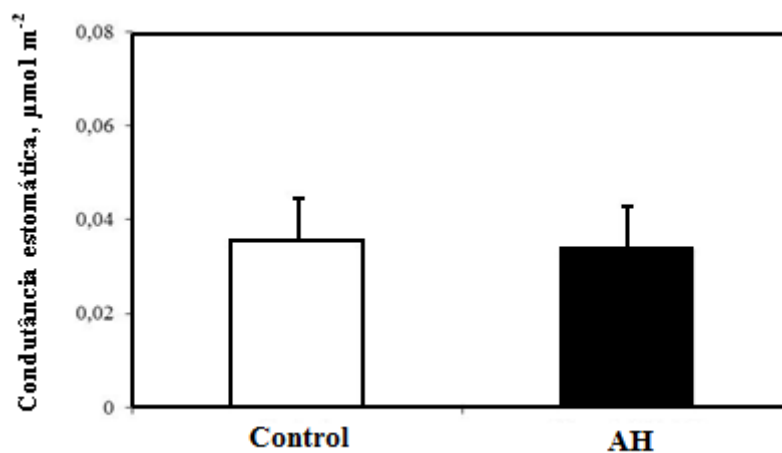
**FIGURA 7** – Número de raízes laterais em plântulas *Lactuca sativa* L. (cultivar crespa), após 14 dias tratadas com diferentes doses de AH (0 e 20 mg L<sup>-1</sup> de AH).

As clorofilas são pigmentos que refletem a cor verde e estão diretamente associadas com o potencial da atividade fotossintética. A alta eficiência fotossintética pode levar ao incremento de produtividade agrícola, e essa relação está diretamente relacionada com o aproveitamento da radiação disponível por esses pigmentos. (BERNARDES, 1987). O medidor portátil de clorofila permite leituras instantâneas da intensidade da cor verde da folha (valor correspondente ao teor relativo de clorofila) sem destruí-la. Os valores são calculados pelo equipamento com base na quantidade de luz transmitida pela folha, em dois comprimentos de ondas, com diferentes absorbâncias da clorofila (AMARANTE et al., 2010).

A Figura 8 apresenta o resultado da avaliação da taxa fotossintética das plantas sob aplicação de AH e controle, enquanto a Figura 9 apresenta os valores da condutância estomática. A taxa de fotossíntese apresentou um aumento de 2% no tratamento com aplicação de AH em relação ao controle e a condutância estomática não apresentou diferenças representativas.



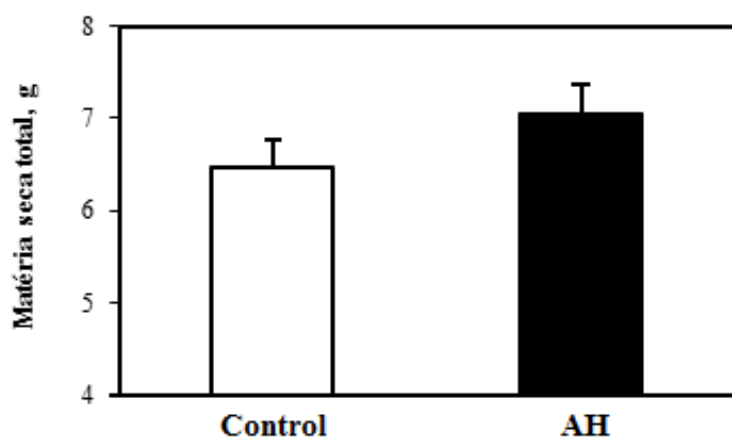
**FIGURA 8** – Taxa de fotossíntese em plantas de *Lactuca sativa* L. (cultivar crespa) após 45 dias de tratamento com AH ( $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH) extraído de composto de resíduos de pescado e material vegetal em ralação a dose controle ( $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH).



**FIGURA 9** – Condutância estomática em plantas de *Lactuca sativa* L. (cultivar crespa) após 45 dias de tratamento com AH ( $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH) extraído de composto de resíduos de pescado e material vegetal em ralação a dose controle.

Os resultados para avaliação da massa seca total, que inclui a parte aérea e a massa das raízes, das plantas em tratamento com AH e das plantas utilizadas como controle são apresentados na Figura 10. A adição de AH resultou em maior desenvolvimento das plantas, tanto da parte aérea quanto das raízes, influenciando no aumento da massa. Grande parte dos efeitos bioestimulantes dos AH tem sido creditado

à sua atividade similar à de hormônios vegetais (CHEN et al., 1990; BOYHAN et al., 2001) principalmente da classe das auxinas, ou seja, podem promover o crescimento vegetal em concentrações relativamente pequenas (TREVISAN et al., 2010). Alguns mecanismos de ação têm sido propostos para explicar a indução do crescimento radicular pelos AH, como a formação de complexos solúveis, com cátions na rizosfera (CHEN et al., 1990).

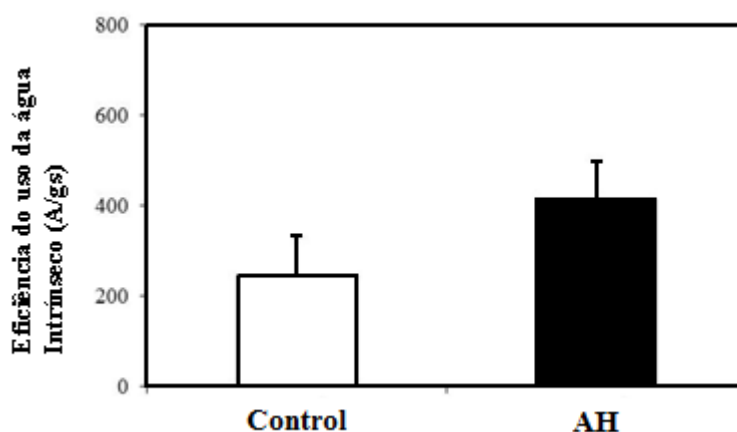


**FIGURA 10** - Massa seca total (massa total = massa aérea + massa das raízes) das plantas de *Lactuca sativa* L. (cultivar crespa) após 45 dias de tratamento com AH (20 mg L<sup>-1</sup> de AH) extraído de composto de resíduos de pescado e material vegetal em ralação a dose controle.

Os indicadores da eficiência do uso de água (EUA) são utilizados como formas de se analisar a resposta dos cultivos em diferentes condições de disponibilidade de água, pois relaciona a produção de biomassa seca ou produção comercial com a quantidade de água aplicada ou evapotranspirada pela cultura (LIU e STUZEL, 2004; PUPPALA et al., 2005). A estimativa de eficiência média de irrigação a nível nacional é de 60%, significando que a cada 10.000 litros de água necessários às plantas por hectare, 16.667 litros deverão ser aplicados (LIMA et al., 1999). A elevação dessa eficiência em 5 % já representaria uma diminuição no volume demandado de 1.282 L

por milímetro demandado pela cultura por hectare. A redução da retirada de água das fontes para a agricultura irrigada só pode ser viabilizada com o aumento da eficiência do uso da água na irrigação (COELHO et al., 2005).

A adição de solução contendo  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH aumentou a eficiência do uso de água nas plantas em 64% (Figura 11). Isso pode implicar em maior economia de água, produto essencial para o cultivo agrícola, evitando futuros problemas de déficit hídrico e escassez de água devido a grande demanda social nos próximos anos.



**FIGURA 11** – Eficiência do uso da água em plantas de *Lactuca sativa* L. (cultivar crespa) plantas após 45 dias de tratamento com AH ( $20 \text{ mg L}^{-1}$  de AH) extraído de composto de resíduos de pescado e material vegetal em relação a dose controle.

## 5 – CONCLUSÕES

- 1- Os AH extraídos de composto de resíduos de pirarucu e material vegetal apresentaram efeito estimulante no crescimento de alface (*Lactuca sativa* L.);
- 2- A dose relativa a 20 mg L<sup>-1</sup> de AH resultou em um conjunto de variáveis com maior média absoluta, com efeitos principalmente nas massas úmida e seca da raiz, comprimento de raiz, massas úmida e seca aérea das plantas de alface;
- 3- Plantas de alface sob adição de 20 mg L<sup>-1</sup> de AH apresentaram extrusão de H<sup>+</sup> 25% superior ao controle, indicando maior atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase, com possibilidade de maior capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas;
- 4- A adição de solução contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de AH resultou em maior eficiência no uso da água nas plantas de alface, o que pode contribuir para o manejo desse recurso imprescindível à agricultura;
- 5- As tecnologias de compostagem e uso de SH podem significar um grande avanço em tratamentos de resíduos originados da aquicultura na produção de substâncias bioestimulantes, promotoras do crescimento vegetal.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, R., LE PETIT, J., CALVERT, V., TERROM, G., PÉRISSOL, C. (2010) **Changes in the level of alkaline and acid phosphatase activities during green wastes and sewage sludge cocomposting.** *Bioresource Technol* 101:228-233.

AMARANTE, C. V. T.; STEFFENS, C. A.; SANGOI, L.; ZANARDI, O. Z.; MIQUELOTO, A.; SCHWEITZER, C. (2010) **Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos.** *Rev Bras de Milho e Sorgo* 9:39-50.

ARAÚJO, F. B.; SANES, F. S. M.; STRASSBURGUER, A. S.; MEDEIROS, C. A. B. (2011) **Avaliação de adubos orgânicos elaborados a partir de resíduo de pescado, na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*).** *Cadernos de Agroecologia* 6:1-5, 2011.

ARRUDA, L.F. (2004) **Aproveitamento do resíduo de beneficiamento de tilápia do Nilo para obtenção de silagem e óleo como subproduto.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 78p.

ATIYEH, R.M., LEE, S., EDWARDS C.A., ARANCON N.Q., METZGER J.D. (2002) **The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth.** *Bioresour Technol* 84:7-14.

BACHMAN, G.R., METZGER, J.D. (2008) **Growth of bedding plants in commercial potting substrate amended with vermicomposts.** *Bioresource Technol* 99:3155-3161



BALDOTTO, L.E.B., BALDOTTO, M.A., GIRO, V.B., CANELLAS, L.P., OLIVARES, F.L., BRESSAN-SMITH, R. (2009) **Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimação.** Rev Bras Cienc Solo 33:979-990.

BERNARDES, M. S. (1987) **Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas.** In: CASTRO, P. R. C. Ecofisiologia da produção agrícola. POTAFOS p.13-48.

BIASI, L.A., LIMA, M.R., GABARDO, N.P., SCHMID, M.L., MARTHAUS, P.S., ZAMBON, F.R.A. (1991) **Competição de cultivares de alface na região metropolitana de Curitiba.** Hort Bras 9:14-15.

BOTTOMLEY, W.B. (1914) **Some accessory factors in plant growth and nutrition.** P Roy Soc Lond 88:237-247.

BOTTOMLEY, W.B. (1920) **The effect of organic matter on the growth of various plants in culture solutions.** Ann Bot 34:353-365.

BOYHAN, G.E., RANDLE, W.M., PURVIS, A.C. (2001) **Evaluation of growth stimulants on short-day onions.** Hortechonology 1:38-42.

BRUNINI, O., CARDOSO, M. (1998) **Efeito do déficit hídrico no solo sobre o comportamento estomático e o potencial da água em mudas de seringueira.** Pesq Agropec Bras 33:1053-1060.

BUSATO, J.G., LIMA, L., AGUIAR, N.O., CANELLAS, L.P., OLIVARES, F.L. (2012) **Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus solubilizing and diazotrophic bacteria.** *Bioresour Technol* 110:390-395.

BUSATO, J.G., ZANDONADI, D.B., DOBBSS, L.B., FAÇANHA, A.R., CANELLAS, L.P. (2010) **Humic substances isolated from residues of sugar cane industry as root growth promoter.** *Sci Agric* 67:206-201.

BUSATO, J.G., PAPA, G., CANELLAS, L.P., ADANI, F., OLIVEIRA, A.L., LEÃO, T.P. (2016) **Phosphatase activities and its relationship with physical and chemical parameters during vermicomposting of filter cake and cattle manure.** *J. Sci. food and Agric* 96:1223-1230.

CACCO, G., DELL'AGNOLA, G. (1984) **Plant growth regulator activity of soluble humic complex.** *Can J Soil Sci* 62:306–310.

CANELLAS L.P., OLIVARES F.L., OKOROKOVA-FAÇANHA A.L., FAÇANHA A.R. (2002) **Humic Acids Isolated from Earthworm Compost Enhance Root Elongation, Lateral Root Emergence, and Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase Activity in Maize Roots.** *Plant Physiol* 130:1951- 1957.

CANELLAS, L.C., SANTOS, G.A. (2005) **Humosfera: Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas.** UENF 309p.

CANELLAS, L.P., OLIVARES, F.L. (2014) **Physiological responses to humic substances as plant growth promoter**. Chem Bio Tech in Agr 1:3-14.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. (1994) **Bioquímica de pescados e derivados**. FUNEP.

CANELLAS, L.P., ZANDONADI, D.B., MÉDICI, L.O., PERES, L.E.P., OLIVARES, F.L., FAÇANHA, A.R. (2005) **Bioatividade de substâncias húmicas: ação sobre desenvolvimento e metabolismo das plantas**. In: CANELLAS, L.P. e SANTOS, G.A. (Ed.). **Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas**. Campos dos Goytacazes: CCTA, UENF p. 224-243.

CARDOSO, J. A. F.; LIMA, A. M. N.; CUNHA, T. J. F.; AMARAL, A. J. do; OLIVEIRA NETO, M. B. de; HERNANI, L. C. (2013) **Carbono orgânico nas frações humificadas da matéria orgânica de solos arenosos sob cultivo de mangueira no semiárido Brasileiro**. In: I REUNIÃO NORDESTINA DE CIÊNCIA DO SOLO, (2013) **Soluções de desafios para o uso sustentável dos solos da região Nordeste**. PPGCS: UFPB-CCA: SBCS.

CHEN, Y., NOBILI, M., AVIAD, T. (1990) **Effects of humic substances on plant growth**. In: MACCARTHY, P., CLAPP, C.E., MALCOM, R.L., BLOOM, P.R. (Ed.). **Humic substances in soils and crop science: selected readings**. Madison: Soil Sci Soc Am. p. 161-186.

COELHO, E.F., COELHO FILHO, M.A., DE OLIVEIRA, S.L. (2005) **Agricultura irrigada: eficiência de irrigação e de uso de água**. Bahia Agric 7:57-60.

COSTA, G.F., MARENCO, R.A. (2007) **Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*)**. Acta Amaz 37:229-234

DELL'AGNOLA, G., NARDI, S. (1987) **Hormone-like effect of enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces**. Biol Fertil Soils 4:115-118.

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. (2010) **Bioactivity of chemically transformed Humic matter from vermicompost on plant root growth**. J Agric Food Chem 58:3681-3688.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA (2009) **Tipos de alface cultivados no Brasil**. Boletim técnico nº 75. 7p.

FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS - FAEMG - (2015) **Alface é a folhosa mais consumida no Brasil**.

FAN, H., WANG, X., SUNA, X., LIA, Y., SUN, X., ZHENG, C. (2014) **Effects of humic acid derived from sediments on growth, photosynthesis and chloroplast ultrastructure in chrysanthemum**. Sci Hortic 177:118-123.

FERRARA, G., BRUNETTI, G. (2008) **Influence of foliar applications of humic acids on yield and fruit quality of table grape cv. J Intern Scien de la Vigne et du Vin** 42:79-87.

FILGUEIRA F.A.R. (2008) **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. UFV, 421 p.

FONETANA, A. (2009) **Fracionamento da Matéria Orgânica e Caracterização dos Ácidos Húmicos e sua Utilização no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. UFRRJ, 72 p.

FOURTI, O., NACEUR, J., ABDENNACEUR, H. (2010) **Humic substances change during the cocomposting process of municipal solid wastes and sewage sludge**. World J Microb Biot 26:2117-2122.

GHALY A.E., RAMAKRISHNAN V.V., BROOKS M.S., BUDGE S.M., DAVE D. (2013) **Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review**. J Microb Biochem Technol 5:107-129

HILLITZER, A. (1932) **Über den einfluss der humusstoffe auf das wurzelwachstum**. Beihefte zum Botanischen Zentralblatt 49:467-480.

IMBIRIBA, E.P. (2001) **Potencial de criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro**. Acta Amaz 31:299-316.

ILLERA, M., LABANDEIRA, S.S., LÓPEZ-MOSQUERA, M.E. (2013) **Production of compost from marine waste: evaluation of the product for use in ecological agriculture.** *Phycol* 25:1395-1403.

KERBAUY, G. B. (2009) **Fisiologia vegetal.** Guanabara Koogan. 452 p.

KOTZAMANIS, Y.P., ALEXIS, M.N., ANDRIOPOULOU, A., CASTRITSI-CATHARIOU, I., FOTIS, G. (2001) **Utilization of waste material resulting from trout processing in gilthead bream (*Sparus aurata* L.) diets.** *Aquac Res, Oxford* 32:288- 295.

LIMA, J. E. F. W., FERREIRA, R. S. A., CHRISTOFIDIS, D. (1999) **O uso da irrigação no Brasil: O estado das águas no Brasil.** Agência Nacional de Energia Elétrica - ANEEL.

LINDIQUIST, K.B. (1960) **On the origin of cultivated lettuce.** *Hilleshog Sugar Beet Breeding Institute* 46:319-350.

LIU, F.; STÜTZEL, H. (2004) **Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress.** *Sci Horticult* 102:15-27.

MAPA Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa

Agropecuária. Brasília: MAPA/SDA/CGAL, 2014. 220:20

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. (2005) **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, Relações hídricas e nutrição mineral**. Editora UFV. 451pp.

MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O. (2006) **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2<sup>a</sup> ed. Editora UFLA. 729p.

NARDI, S., ARNOLDI, G., DELL'AGNOLA, G. (1988) **Release of the hormone-like activities from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces**. Can J Soil Sci 68:563-67.

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

ODHIAMBO, L., KRANZ, W.L. (2011) **Irrigation efficiency, uniformity and crop water use efficiency**. University of Nebraska. Lincoln Extension.

OREN, R., SPERRY, J.S., KATUL, G.G.; PATAKI, D.E., EWERS, B.E., PHILLIPS, N., SCHAFER, K.V.R. (1999) **Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit**. Plant Cell Environ 22:1515-1526.

PEREIRA-FILHO, M., CAVERO, A.S., ROUBACH, R., ITUASSÚ, D.R., GANDRA, A.L., CRESCÊNCIO, R. (2003) **Pirarucu (*Arapaima gigas*) husbandry in ponds.** Acta Amaz 33:715-718.

PICCOLO, A., NARDI, S., CONCHERI, G. (1992) **Structural characteristics of humus and biological activity.** Soil Biol Biochem 24:273-380.

PICCOLO, A. (2002) **The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science.** Acad Press 75:57-134

PUPPALA, N., FOWLER, J.L., JONES, T.L., GUTSCHICK, V., MURRAY, L. (2005) **Evapotranspiration, yield, and water-use efficiency responses of *Lesquerella fendleri* at different growth stages.** Ind Crop Prod 21:33-47.

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

RISTIC, M.D., FILIPOVIC, S.S., SAKAC, M.L.J. (2002) **Liquid protein feedstuffs from freshwater fish by-products as a component of animal feed.** Rom Biotech Lett 7:729-736.

RODDA, M.R.C., CANELLAS, L.P., FAÇANHA, A.R., ZANDONADI, D.B., ALMEIDA, D.L., GUERRA, J.G.M., SANTOS, G.A. (2006) **Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração** Rev Bras Ci Solo 30:649-656.



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

SALVO-SOUZA, R. H., VAL, A. L. (1990) **O gigante das águas doces.** Ci Hoje 11:9-12.

SANES, F.S.M., STRASSBURGER, A.S., ARAÚJO, F.B., MEDEIROS, C.A.B. (2015) **Compostagem e fermentação de resíduos de pescado para produção de fertilizantes orgânicos.** 36:1241-1252.

SAUERESSIG, D., (2008) **A rainha da salada.** Rev A granja. Ed 720.

SCHNITZER, M., GUPTA, U.C. (1965) **Determination of acidity in soil organic matter.** Soil Sci Am Proc 29: 274-277.

SHARMA, V.K., CANDITELLI, M., FORTUNA, F., CORNACCHIA, G. (1997) **Processing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting: Review.** Energy Convers Manag 38:453-478.

SILVA, A.C., CANELLAS, L.P., OLIVARES, F.L., DOBBSS, L.B., AGUIAR, N.O., FRADE, D.A.R., REZENDE, C.E., PERES, L.E.P. (2011) **Promoção do crescimento radicular de plântulas de tomateiro por substâncias húmicas isoladas de turfeiras.** Rev Bras Ci Solo 35:1609-1617.

STEVERSON, F. J. HUMUS CHEMISTRY (1994) **Genesis, Composition, Reactions.**  
2nd ed., John Wiley & Sons, Ltd.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2013) **Fisio veg.** Ed 5. Artmed. 918p.

TOPAK, R., SÜHERL, S. ACAR, B. (2010) **Comparison of energy of irrigation regimes in sugar beet production in a semi-arid region.** Energy 35:5464-5471.

TREVISAN, S., PIZZEGUELLO, D., REPERTI, B., FRANCIOSO, O., SASSI, A., PALME, K., QUAGGIOTTI, S., NARDI, S. (2010) **Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA 19 gene and DR5 synthetic element in Arabidopsis.** Plant Bio 12:604-614.

VALENTE, B.S., XAVIER, E.G., PEREIRA, H.E., PILOTTO, M.V.T. (2014) **Compostagem na gestão de resíduos de pescado de água doce.** Inst Pesca 40:95-103.

VANNUCCI, A. L., REZENDE, M. H. (2003) **Anatomia Vegetal: noções básicas.** Edição do Autor. 190p.

VAUGHAN, D., MALCOM, R.E. (1985) **Influence of humic substances on growth and physiological processes.** In: Vaughan, D., Malcom, R.E. (Eds.), Soil Organic Matter and Biological Activity, Martinus Nijhoff/Junk W, Dordrecht, The Netherlands, p. 37-76.

VIDOTTI, R.M., BORINI, M.S.M. (2006) **Aparas de filetagem da tilápia se transformam em polpa condimentada.** Panorama na aquicultura 16:38-41.

YEOMANS, J.C., BREMNER, J.M. (1988) **A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil.** Comm Soil Sci Plant Anal 19:1467-1476.

ZANDONADI, D.B., CANELLAS, L.P., FACANHA, A.R. (2007) **Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasma lemma and tonoplast H<sup>+</sup>-pumps activation.** Planta 225:1583-1595.

ZANDONADI, D.B., SANTOS, M.P., DOBBSS, L.B., OLIVARES, F.L., CANELLAS, L.P., BINZEL, M.L. OKOROKOVA-FAÇANHA, A.L., FAÇANHA, A.R. (2010). **Nitric oxide mediates humic cidsinduced root development and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activation.** Planta 231:1025-1036.

ZANDONADI, D.B., BUSATO, J.G. (2012) **Vermicompost humic substances: technology for converting pollution into plant growth regulators.** Int J Environ Sci Eng Res 3:7.