

Efeito do extrato húmico solúvel em água e biofertilizante sobre o desenvolvimento de mudas de *Callophyllum brasiliense*

Jader Galba Busato^{1*}, Daniel Basílio Zandonadi², Izadora Mendes de Sousa¹, Eduardo Barros Marinho¹, Leonardo Barros Dobbss³, Alan Ribeiro Mól¹

¹Universidade de Brasília, Asa Norte, C P 4508, CEP 70910-900, Brasília, DF, Brasil

²Embrapa Hortaliças, AC W3 Sul 508, Asa Sul, C P 218, CEP 70351-970, Brasília, DF, Brasil

³Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Rua Vereador João Narciso, 1380, Cachoeira, CEP 38610-000, Unai, MG, Brasil

*Autor correspondente:

jaderbusato@unb.br

Termos para indexação:

Produção florestal
Guanandi
Crescimento vegetal

Index terms:

Forestry production
Guanandi
Vegetative growth

Histórico do artigo:

Recebido em 25/08/2015
Aprovado em 09/05/2016
Publicado em 30/06/2016

doi: 10.4336/2016.pfb.36.86.1024

Resumo - O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de extrato húmico solúvel em água (EHSA), biofertilizante Hortbio® (HORT) e a combinação dos dois produtos sobre o crescimento vegetativo, indicador fisiológico (medida do teor de clorofila) e a capacidade de absorção de nutrientes em mudas de guanandi (*Callophyllum brasiliense*). A adição isolada ou em conjunto de EHSA e HORT não alterou a altura das mudas, o número de folhas, a matéria seca foliar e radicular e a área radicular e foliar durante a fase inicial de crescimento em viveiro. Entretanto, os teores de clorofila e N total aumentaram significativamente nas mudas que receberam os tratamentos HORT e EHSA+HORT. Além disso, a adição de HORT resultou em maiores teores de S, Zn, B, Mg, Mn e Cu nas plantas, enquanto a aplicação do ESHA aumentou os teores de K, Mg, S e B. Os teores de P e Ca não tiveram seus teores alterados pela aplicação dos tratamentos, mas as adições do EHSA e ESHA+HORT reduziram significativamente a absorção de Cu, Fe, Mn e Zn.

Effects of water-soluble humic extract and biofertilizer on development of *Callophyllum brasiliense* seedlings

Abstract - The objective of this work was to evaluate the effects of water-soluble humic extract (EHSA), Hortbio® biofertilizer (HORT) and both compounds combination (EHSA+HORT) on vegetative growth, nutrient absorption and chlorophyll levels in guanandi (*Callophyllum brasiliense*) seedlings. Isolated and combined additions of EHSA and HORT did not affect seedlings height, number of leaves, leaf and root dry matter and leaf area during early stages of seedling growth. However, HORT and EHSA+HORT treatments increased chlorophyll levels and total N content. Addition of HORT resulted in S, Zn, Mg, Mn and Cu increases in the seedlings leaves, while ESHA application increased K, Mg, S and B. P and Ca levels were not altered by the treatments, however, addition of EHSA and EHSA+HORT reduced significantly the absorption of Cu, Fe, Mn and Zn.

Introdução

O Brasil é um país reconhecido pela oferta de serviços ambientais, mas o histórico de exploração de seus recursos naturais tem acarretado redução da cobertura florestal nativa. No bioma Cerrado, por exemplo, aproximadamente 80% da vegetação original

já foi substituída por cultivos agrícolas e pastagens (Machado et al., 2004). Esta substituição pode resultar em erosão genética, acelerar processos erosivos dos solos e deteriorar a qualidade dos corpos hídricos, afetando negativamente a qualidade dos compartimentos ambientais.

Os impactos negativos decorrentes da substituição de florestas nativas por sistemas agrícolas simplificados têm impulsionado discussões sobre o uso de modelos de produção capazes de garantir a oferta de alimentos, madeira e fibras sem comprometer a qualidade do ambiente. Nesse sentido, a adoção de sistemas agroflorestais (SAF) é vantajosa por permitir o uso múltiplo da área e por aumentar a ciclagem de nutrientes e o estoque de carbono no solo (Cannavo et al., 2011; Marinho et al., 2014). Além disso, os SAF podem gerar renda a partir da exploração sustentada da madeira, reduzindo a pressão sobre os remanescentes florestais nativos.

A escolha das espécies empregadas em SAF deve priorizar plantas com ocorrência natural na região, devido à maior facilidade de adaptação às condições edafoclimáticas. O guanandi (*Calophyllum brasiliense*) é uma espécie com ocorrência natural no Cerrado e que apresenta potencial para uso em SAF (Montagnini, 1992; Piotto et al., 2003). A sua exploração comercial tem sido direcionada à indústria naval e movelaria, devido à resistência da madeira (Carvalho, 1994). Grande parte dos estudos envolvendo o guanandi, entretanto, tem sido direcionada à sua distribuição espacial, características botânicas e dendrológicas. Os efeitos da aplicação de bioestimulantes e outros insumos visando acelerar o desenvolvimento de mudas de guanandi durante a fase de viveiro têm sido pouco explorados.

Diversos trabalhos têm reportado resultados positivos da aplicação de substâncias orgânicas sobre o crescimento de espécies vegetais, sendo consideráveis aqueles associados ao uso de biofertilizantes e de substâncias húmicas (SH) (Canellas et al., 2002; Zandonadi et al., 2007, 2013; Baldotto et al., 2009; Dobbss et al., 2010; Canellas & Olivares, 2014; Fan et al., 2014; Olivares et al., 2015). Biofertilizantes são produtos naturais enriquecidos com microrganismos e compostos derivados de seu metabolismo, que podem favorecer o crescimento das plantas por mecanismos diferenciados (Ansari et al., 2015). As SH resultam da decomposição de resíduos orgânicos e a sua capacidade de estimular o crescimento vegetal está associada à maior formação do sistema radicular, aumento da absorção de nutrientes e síntese de clorofila (Dell'Agnola & Nardi, 1987; Canellas & Olivares, 2014; Fan et al., 2014).

Usualmente, os trabalhos que abordam o papel das SH como estimulante do crescimento vegetal utilizam a fração húmica denominada ácidos húmicos (AH), obtida

após extração com solução alcalina (NaOH) seguida de acidificação do meio até pH 1,0-1,5. Entretanto, muitos efeitos fisiológicos também foram reportados em plantas cultivadas sob aplicação de extrato húmico solúvel em água (EHSA) (Pinton et al., 1998; Schmidt et al., 2007). A efetividade do EHSA pode estar relacionada à maior facilidade de seus compostos em acessar células vegetais, produzindo estímulos fisiológicos favoráveis, tais como o aumento da atividade da enzima H^+ -ATPase, modificações na permeabilidade de membranas e aumento na capacidade de absorção de nitrogênio (Pinton et al., 1998; Schmidt et al., 2007; Zandonadi et al., 2013).

O presente trabalho objetivou avaliar se o uso de EHSA extraído de vermicomposto, biofertilizante Hortbio® ou a aplicação conjunta dos dois produtos pode acelerar o crescimento vegetativo, a capacidade de absorção de nutrientes e os teores de clorofila em mudas de guanandi durante a fase inicial de viveiro.

Material e métodos

Descrição dos tratamentos - O experimento foi conduzido utilizando delineamento inteiramente ao acaso, com 16 repetições e quatro tratamentos: 1 - controle; 2 - aplicação do ESHA (EHSA); 3 - aplicação do biofertilizante Hortbio® (HORT); 4 - aplicação combinada do EHSA e biofertilizante Hortbio® (EHSA+HORT). O tratamento controle utilizou somente substrato para crescimento das mudas. No tratamento EHSA, as mudas crescidas no mesmo substrato receberam 100 mL do EHSA, quinzenalmente. O tratamento HORT recebeu, também quinzenalmente, 100 mL do biofertilizante líquido Hortbio®. Por fim, o quarto tratamento (EHSA+HORT) recebeu uma mistura contendo 50 mL de EHSA e 50 mL de Hortbio®.

Pré-germinação das sementes - Sementes de *Calophyllum brasiliense* foram adquiridas de um produtor comercial, escarificadas mecanicamente e acondicionadas em canteiros preenchidos com areia grossa, com umedecimento duas vezes ao dia. Após a germinação, as plântulas foram transferidas para sacolas de polietileno com capacidade para 1 L contendo substrato de crescimento produzido à base de cama de frango compostada e solo (1:3, v:v). O material foi transportado para casa-de-vegetação com cobertura de filme de polietileno duplo de 150 μ , onde permaneceu por 60 dias até as análises.

Obtenção do extrato húmico solúvel em água (EHSA) - Para obtenção do EHSA, inicialmente foi realizado um processo de vermicompostagem utilizando-se minhocas vermelhas da Califórnia (*Eisenia foetida*) e esterco bovino curtido. Para isto, realizou-se previamente a compostagem aeróbia do esterco por 30 dias e, posteriormente, foram acrescentadas ao material aproximadamente 500 minhocas por m³. O processo de vermicompostagem durou cerca 90 dias até estabilização final do produto. Para obtenção do EHSA, realizou-se extração utilizando-se vermicomposto e água aquecida a 70 °C, com relação de 1:20 (m:v). O material foi agitado por 4 h, com posterior decantação da fração insolúvel, separada por sifonação. O material insolúvel resultante da primeira extração passou novamente pelo mesmo processo, sendo os extratos solúveis obtidos em cada etapa misturados e homogeneizados antes da aplicação.

Produção do biofertilizante Hortbio® - O biofertilizante foi preparado utilizando-se 2 L de serrapilheira, 1 kg de farinha de sangue, 4 kg de farelo de arroz ou algodão, 1 kg de farelo de mamona, 2 kg de farinha de ossos, 1 kg de grãos ou sementes trituradas, 1 kg de cinzas, 0,5 kg de rapadura ou açúcar mascavo e 88 L de água não clorada. Os ingredientes foram misturados com água, em tambor plástico e a mistura foi agitada 3 vezes ao dia, ao longo de dez dias. O material foi então filtrado e acondicionado em recipiente plástico até a aplicação.

Análises químicas do ESHA, Hortbio® e substrato - As análises foram realizadas após liofilização dos materiais. As amostras sofreram processo de digestão nítrica com subsequente análise por espectrofotometria de emissão óptica em plasma induzido (ICP-OES - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*). Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Características de crescimento das mudas avaliadas - Quinze dias após a quarta aplicação dos tratamentos, as mudas foram avaliadas quanto ao número de folhas por contagem manual, e altura da muda, utilizando-se escala graduada em mm. As áreas foliares

e radiculares foram obtidas utilizando-se o programa de processamento digital de imagens (ImageJ™), após escaneamento das respectivas partes vegetais. Posteriormente, a parte aérea das mudas (folhas e caule) foi acondicionada em sacos de papel separadamente da parte radicular, para realização da secagem em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, até massa constante. A massa das duas frações secas foi determinada em balança analítica de precisão.

Teores de clorofila - Os teores de clorofila foram determinados indiretamente, utilizando-se analisador automático SPAD-502 (*Soil Plant Analysis Development*, Minolta® Camera Co.), e foram expressos em unidade SPAD. Foram realizadas cinco medições na região central do limbo foliar, utilizando-se o segundo par de folhas definitivas, totalizando 10 medições por planta, sendo utilizada a média destas para representar uma repetição de cada tratamento.

Determinações químicas - As partes aérea e radicular secas em estufa foram moídas em moinho de facas para as determinações químicas. O teor de N total foi obtido por digestão com ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio, pelo método de Kjeldahl. Os teores de P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e B foram determinados por ICP-OES, após digestão do material vegetal com HNO₃ e HCl. A determinação do teor de matéria orgânica no substrato foi realizada por oxidação, utilizando-se dicromato de potássio, seguida de titulação do excesso de oxidante com solução de sulfato ferroso amoniacal.

Avaliação estatística - Os resultados foram analisados utilizando-se o programa estatístico Assistat (versão 7.7). Os dados foram testados para normalidade (Shapiro-Wilk test) e submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95%. As médias das características significativas foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$). As variáveis número de folhas, altura das mudas, área foliar e radicular, matéria seca das partes aérea e radicular e leitura SPAD foram obtidas utilizando-se 16 repetições. Para a análise nutricional, as 16 observações por tratamento foram agrupadas em 4 repetições que continham 4 plantas cada.

Tabela 1. Composição química do extrato húmico solúvel em água, do biofertilizante Hortbio® e do substrato empregados no experimento.

	MO	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	g.dm ⁻³	g.kg ⁻¹									
		mg.kg ⁻¹									
EHSA	-	0,3	0,6	22,9	9,0	14,0	12,3	10,7	38,5	0,5	16,0
Substrato	223,0	1,9	2,9	18,2	2,9	5,7	35,9	49,5	12,2	329,0	160,0
HORT	-	0,2 ⁽¹⁾	1,8 ⁽¹⁾	1,0 ⁽¹⁾	0,5 ⁽¹⁾	82,3 ⁽¹⁾	89,2 ⁽²⁾	0,6 ⁽²⁾	12,5 ⁽²⁾	1,4 ⁽²⁾	1,4 ⁽²⁾

⁽¹⁾Resultados em g L⁻¹, ⁽²⁾Resultados em mg L⁻¹

Resultados

Os resultados de altura das mudas, número de folhas, matéria seca foliar e radicular, área radicular e foliar após 60 dias de cultivo sob ação dos tratamentos estão apresentados na Figura 1. Para essas características, não se observou diferença significativa após aplicação de ESHA, HORT ou ESHA+HORT em relação às plantas

do tratamento controle. A altura média das plantas, utilizando-se todos os tratamentos, foi de 19,4 cm, com média de seis folhas (Figuras 1a e 1b). Os valores médios para matéria seca radicular e foliar foram 0,55 g e 1,45 g, respectivamente (Figuras 1c e 1d), enquanto a área radicular e foliar apresentaram valores médios de 10,12 e 6,87 cm², respectivamente (Figuras 1e e 1f).

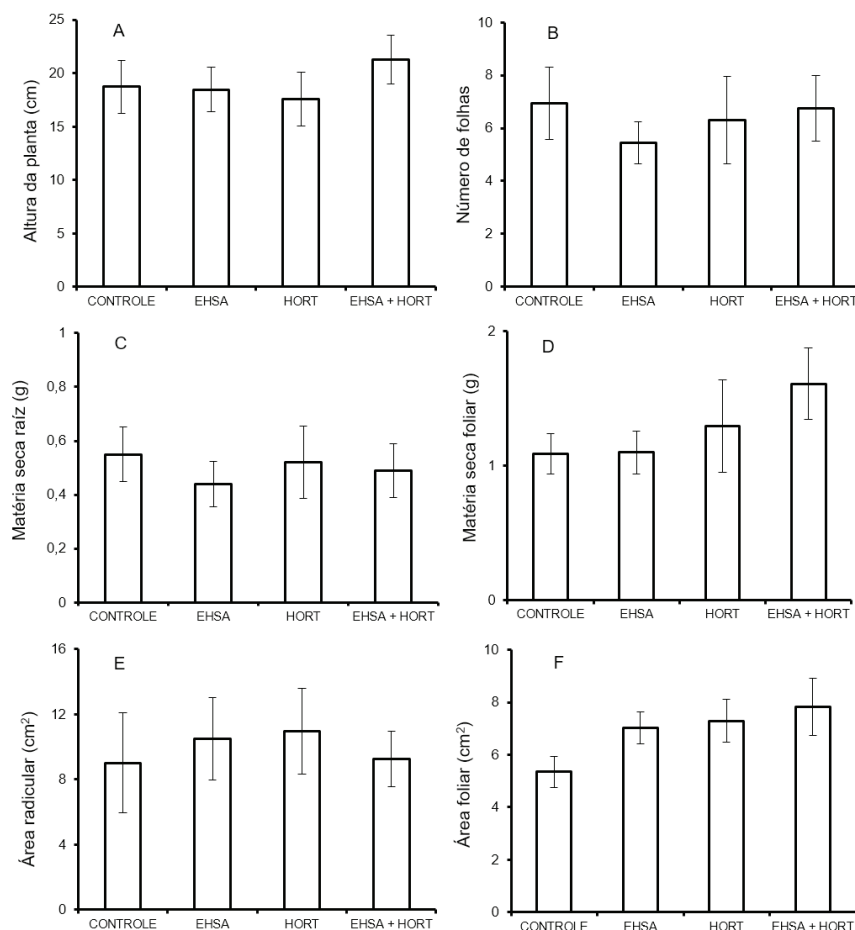


Figura 1. Efeito da adição de extrato húmico solúvel em água (EHSA), Hortbio® (HORT) e da combinação de ambos (ESHSA+HORT) sobre o desenvolvimento de mudas de *Calophyllum brasiliense*. (A) altura de mudas, (B) número de folhas, (C) massa seca de raízes, (D) massa seca foliar, (E) área radicular e (F) área foliar. Ausência de letras representa inexistência de significância pelo teste de F. Barras representam o desvio-padrão das médias.

Os teores de clorofila estimados e o teor de N total estão apresentados na Figura 2. Embora a área foliar das mudas de guanandi não tenha sido aumentada com a aplicação dos tratamentos, os teores de clorofila nas plantas sob aplicação de EHSA+HORT e HORT foram 17,2 e 20,8% maiores ($p < 0,05$) que os observados no controle, respectivamente (Figura 2A). Para o tratamento EHSA+HORT, o maior teor de clorofila foi

acompanhado pelo acréscimo significativo de 237,5% no N total em relação ao controle (Figura 2B). As mudas que receberam HORT ou EHSA, isoladamente, também apresentaram teores de N total significativamente maiores que o tratamento controle, com incrementos na ordem de 212,5 e 187,5%, respectivamente, porém inferiores ao valor observado para EHSA+HORT.

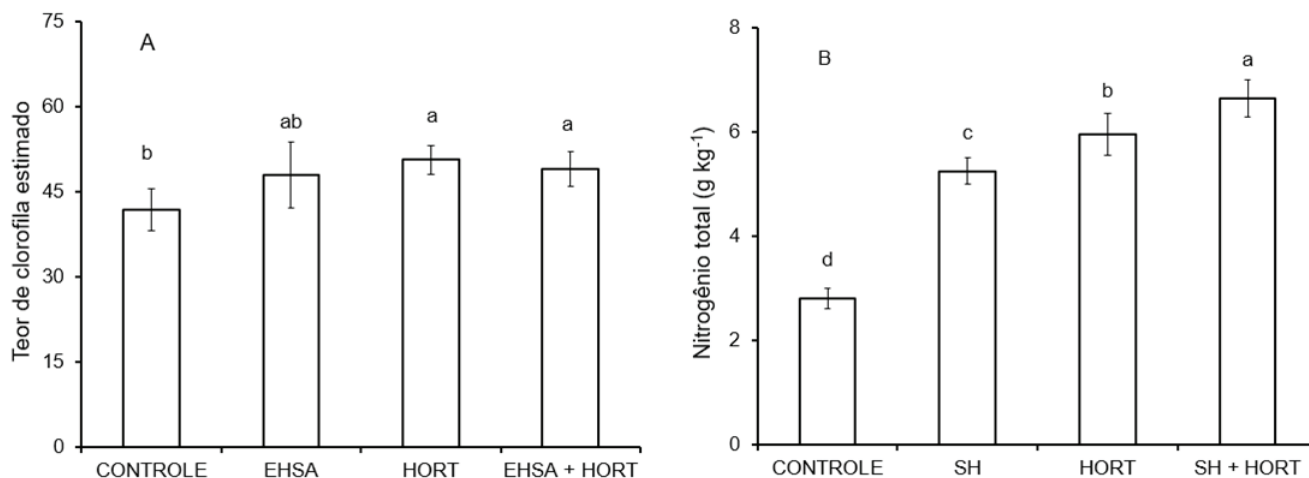


Figura 2. Teor de clorofila estimado (A) e teores totais de nitrogênio (B) em mudas de *Calophyllum brasiliense* em função da aplicação de extrato húmico solúvel em água (EHSA), biofertilizante Hortbio® (HORT) e da combinação de ambos (EHSA+HORT). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente (teste Tukey, $p < 0,05$). Barras representam o desvio-padrão das médias.

Com exceção de P e Ca, todos os outros nutrientes tiveram aumento em função da aplicação dos tratamentos (Tabela 2). Acréscimos expressivos e significativos nos teores de S (73,9%), Zn (27,7%), B (17,8%), Mg (14,0%), Mn (12,1%) e Cu (8,9%) foram observados nas plantas que receberam HORT em relação ao controle. EHSA resultou em aumento do teor de K (3,2%) e o tratamento

EHSA+HORT resultou em diminuição significativa na absorção de Cu (20,2%), Fe (45,0%), Mn (14,5%) e Zn (12,5%) em relação ao controle. O tratamento HORT apresentou menor absorção de Fe (24,1%), enquanto a aplicação isolada de EHSA reduziu significativamente a absorção de Cu (23,7%), Fe (55,8%), Mn (42,5%) e Zn (44,4%) em relação ao tratamento controle.

Tabela 2. Teores totais de nutrientes em mudas de *Calophyllum brasiliense* submetidas à aplicação de biofertilizante, extrato húmico solúvel em água e aplicação conjunta dos dois bioinsumos.

	^{n.s} P	K	^{n.s} Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	g.kg ⁻¹					mg.kg ⁻¹				
HORT	1,44	11,00 a	10,85	2,04 a	2,07 a	42,95 a	23,20 a	3,49 b	139,0 a	78,75 a
EHSA	1,19	11,05 a	6,65	1,85 b	1,31 ab	37,60 b	16,25 b	2,03 d	71,30 d	34,31 d
EHSA+HORT	1,45	10,50 b	7,14	1,79 b	1,25 ab	31,60 c	17,00 b	2,53 c	106,0 c	53,95 c
Controle	1,40	10,70 b	10,25	1,79 b	1,19 b	36,45 b	21,30 a	4,60 a	124,0 b	61,65 b

HORT - biofertilizante Hortbio®; EHSA - extrato húmico solúvel em água; EHSA+HORT - combinação de ambos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente F ($p < 0,05$).

Discussão

A qualidade das mudas de espécies florestais depende das características químicas do substrato empregado no cultivo, que deve permitir adequada nutrição das plantas e favorecer a formação de um vigoroso sistema radicular, possibilitando maior sobrevivência das mudas após plantio na área definitiva. De acordo com a Tabela 1, o substrato utilizado neste trabalho é considerado fértil, apresentando bons níveis da maioria dos nutrientes segundo critérios de classificação agrônômica (Lopes & Guilherme, 2004). Provavelmente devido a isso, as plantas cresceram igualmente, independente dos

tratamentos utilizados, uma vez que a bioatividade de fertilizantes biológicos depende de substratos de cultivo inertes ou pouco férteis, como observado em trabalhos que utilizaram areia (Marques Júnior et al., 2008), solos pobres em nutrientes (Canellas et al., 2015) ou soluções hidropônicas contendo o meio mínimo (CaCl₂ 2mM) (Canellas et al., 2002; Dobbss et al., 2010). Geralmente esse recurso é utilizado para se evitar qualquer influência dos nutrientes, que poderiam funcionar de maneira sinérgica com os fertilizantes biológicos (Pinton et al., 1999), estimulando o crescimento vegetal de maneira semelhante ao observado no presente trabalho.

Este apontamento também está em concordância ao observado por Pinton et al. (1998) que reportaram incentivos ao crescimento vegetativo com o uso de EHSA somente quando o substrato para o cultivo de abóbora apresentava carência nutricional.

Outro aspecto importante em trabalhos que envolvem o uso de materiais húmicos como agentes do crescimento de plantas relaciona-se à concentração desses compostos em solução. A maioria dos trabalhos já publicados revela a existência de uma concentração adequada do material húmico diferenciada para espécies vegetais distintas (Dobbss et al., 2007; Zandonadi et al., 2007; Canellas et al., 2014). No presente trabalho, observou-se que as plantas que receberam a adição de EHSA+HORT e HORT tiveram os teores de clorofila significativamente aumentados (Figura 2A). Aumentos nos teores de pigmentos fotossintéticos em diferentes plantas cultivadas já foram reportados a partir da aplicação de diferentes materiais orgânicos (Nannipieri et al., 1993; Ferrara & Brunetti, 2008; Fan et al., 2014). Baldotto et al. (2009) observaram aumentos na relação clorofila a/ clorofila b após o tratamento de plantas de abacaxi com AH. A aplicação de soluções contendo AH permite um empilhamento mais ordenado dos tilacóides do *grana* dos cloroplastos, favorecendo a absorção de fótons pelas clorofilas, a transferência e conversão de energia luminosa em poder redutor (NADPH) e energia (ATP), potencializando a fotossíntese em vegetais superiores (Fan et al., 2014). Além disso, compostos ativos semelhantes a hormônios vegetais presentes no EHSA podem aumentar a acidificação da região rizosférica, devido à ativação da enzima H^+ -ATPase de membrana plasmática, aumentando a capacidade de absorção de NH_4^+ e NO_3^- (Zandonadi et al., 2007; Canellas & Olivares, 2014). Isto resultaria na síntese de moléculas contendo N, tal como as clorofilas.

O tratamento HORT proporcionou aumentos significativos na absorção de K, Mg, S, B, Cu, Mn e Zn (Tabela 2). Plantas e microrganismos podem promover, direta e ou indiretamente, alterações físicas, químicas e biológicas na rizosfera (Melo et al., 2005), aumentando as concentrações de compostos orgânicos como aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, lipídios, proteínas e enzimas (Ali et al., 2000). Estes compostos estão relacionados a processos de acidificação, complexação, precipitação e oxirredução que ocorrem na rizosfera, influenciando a liberação de formas não-trocáveis e estruturais de K e Mg para as plantas (Melo et al., 2005). Canellas et al. (2008) também observaram

que plântulas de milho tratadas com bioestimulantes à base de matéria orgânica humificada apresentaram maior produção de ácidos orgânicos, tais como oxálico e cítrico. Estes ácidos interagem com metais em solução, formando complexos organometálicos o que acarreta a concentração dos nutrientes e induz sua liberação pelos minerais do solo (Melo et al., 2005).

A aplicação de HORT, um bioestimulante enriquecido com matéria orgânica e microrganismos, pode, portanto, ter alterado o perfil de exsudação radicular de ácidos e outros compostos orgânicos pelas mudas de guanandi, aumentando a oferta de nutrientes provenientes do substrato, enriquecido principalmente com K, Mg, Cu, Mn e Zn (Tabela 1). Aumentos consideráveis nos teores de Mg, Cu e Zn na parte aérea das plantas de pepino tratadas em solução nutritiva contendo 300 mg de ácido fúlvico L^{-1} foram também observados por Rauthan & Schnitzer (1981). Tan & Nopamombodi (1979) relataram que a parte aérea de plantas de milho cultivadas por 16 dias em solução nutritiva, expostas ao tratamento com ácidos húmicos, triplicaram seu peso seco e aumentaram seus conteúdos totais dos micronutrientes Cu, Mn e Zn em relação às plantas controle, mostrando, desta maneira, resultado similar aos efeitos proporcionados pelo HORT.

O uso de soluções bioestimulantes também pode aumentar a capacidade de absorção de S pelos vegetais, tal como observado por Maggioni et al. (1987). Aqueles autores determinaram teores 100% maiores de S em plantas de aveia após tratamento com bioestimulantes, resultado semelhante ao observado no presente trabalho com o uso de HORT. Maior teor de B também foi observado nas mudas sob aplicação de HORT (Tabela 2), que apresentou maior concentração destes nutrientes em relação ao EHSA (Tabela 1). Além disso, Cooling & Jones (1970) observaram que a disponibilidade do B é diminuída em solos com pH elevado, mas o abaixamento deste resulta em ampliação rápida da oferta deste nutriente às plantas (Olson & Berger, 1946). Conforme já discutido, é possível que a aplicação de HORT tenha resultado em maior produção de compostos orgânicos, entre os quais os ácidos orgânicos, diminuindo o pH rizosférico e, conseqüentemente, favorecendo a absorção de B.

É interessante notar que a resposta das raízes das plantas em contato com materiais húmicos envolve alterações na morfologia radicular, que pode ser facilmente observada pela maior emissão de raízes

laterais (Canellas et al., 2002, Dobbss et al., 2007, 2010; Zandonadi et al., 2007, 2010) e a proliferação de pelos radiculares (Dobbss et al., 2010). Olivares et al. (2015) também demonstraram que a aplicação de extrato húmico associado a bactérias promotoras do crescimento vegetal aumentou o teor de proteínas e N total em plantas de tomate em virtude de estímulo à atuação de enzimas, como a glutamina e glutamato sintetase, aspartato aminotransferase, nitrito e nitrato redutase, que estão associadas à absorção e assimilação de N pelas plantas (Vaccaro et al., 2009). A maior resposta observada para o tratamento EHSA+HORT sinalizou também uma possível ação conjunta dos compostos húmicos presentes no EHSA com os microrganismos presentes no Hortbio®, estimulando a ativação destas enzimas e promovendo acúmulo de N nas plantas.

A expressiva redução da absorção de Fe (55,8%) nas plantas tratadas com EHSA pode ser atribuída ao decréscimo da atividade de Fe³⁺ livre na superfície radicular e no apoplasto, devido à presença de ligantes húmicos que podem reter alguns micronutrientes catiônicos (Linehan & Shepherd, 1979; Pinton et al., 1998). Isto sugere uma elevada capacidade de complexação desses metais pelos grupos carboxílicos e fenólicos existentes na estrutura do material húmico aplicado, potencialmente reduzindo a sua disponibilidade às plantas. As reações de complexação são importantes por afetar profundamente a geoquímica dos íons metálicos, modificando a sua solubilidade, biodisponibilidade e transporte nos ecossistemas (Yadav, 2010). Em geral, a capacidade de materiais húmicos formarem complexos com micronutrientes catiônicos depende do seu conteúdo de grupos funcionais doadores de elétrons (Linehan, 1985) e a ordem de estabilidade dos complexos formados segue a série de Irwing-Williams: Pb > Cu > Ni > Co > Zn > Cd > Fe > Mn > Mg. A redução da absorção de Cu, Fe, Mn e Zn nas mudas de guanandi sob adição EHSA e EHSA+HORT sugerem que parte desses micronutrientes catiônicos presentes no substrato podem ter sido temporariamente imobilizados por complexos formados com os bioinsumos, reduzindo a sua disponibilidade aos vegetais.

Conclusões

A adição isolada ou em conjunto de EHSA e do biofertilizante Hortbio® não alterou a altura, o número de folhas, a matéria seca foliar e radicular assim como a área radicular e foliar de mudas de guanandi durante a fase inicial de crescimento em viveiro.

Os tratamentos HORT e EHSA+HORT aumentaram os teores de clorofila e de N em relação ao controle.

A adição de HORT foi acompanhada de aumento significativo da absorção de K, Mg, S, B, Cu, Mn e Zn pelas mudas de guanandi.

As adições do EHSA e EHSA+HORT reduziram significativamente a absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelas mudas de guanandi.

Referências

- Ali, I. A. et al. Growth, transpiration, root-born, cytokinins and gibberelins, and nutrient compositional changes in sesame exposed to low root zone temperature under different ratios of nitrate. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 123-140, 2000. DOI: 10.1080/01904160009382002.
- Ansari, M. F. et al. Efficiency evaluation of commercial liquid biofertilizers for growth of *Cicer arietinum* (chickpea) in pot and field study. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 41, p. 17-24, 2015. DOI: 10.1016/j.bcab.2014.09.010.
- Baldotto, L. E. B. et al. Desempenho do abacaxizeiro 'vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 4, p. 979-990, 2009. DOI: 10.1590/S0100-06832009000400022.
- Canellas, L. P. et al. Foliar application of *Herbaspirillum seropedicae* and humic acid increase maize yields. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 13, n. 11, p.146-153, 2015.
- Canellas, L. P. et al. Humic acids crossinteractions with root and organic acids. **Annals of Applied Biology**, v. 153, n. 2, p. 157-166, 2008. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2008.00249.x.
- Canellas, L. P. et al. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, v. 130, n. 4, p. 1951-1957, 2002. DOI: 10.1104/pp.007088.
- Canellas, L. P. et al. Soil organic matter quality from soils cropped by traditional peasants. **Sustainable Agriculture Research**, v. 3, n. 4, p. 63-73, 2014. DOI: 10.5539/sar.v3n4p63.
- Canellas, L. P. & Olivares, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 3, p. 3-14, 2014. DOI: 10.1186/2196-5641-1-3.
- Cannavo, P. et al. Agroforestry associating coffee and *Inga densiflora* results in complementarity for water uptake and decreases deep drainage in Costa Rica. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 140, n. 1-2, p. 1-13, 2011. DOI: 10.1016/j.agee.2010.11.005.
- Carvalho, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 639 p.
- Cooling, E. N. & Jones, B. E. The importance of boron and NPK fertilizers to *Eucalyptus* in the Southern Province, Sambia. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v. 36, n. 2, p. 2-5, 1970. DOI: 10.1080/00128325.1970.11662459.

- Dell'Agnola, G. & Nardi, S. Hormone-like effect and enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from *Allolobophoru rosea* and *A. caliginosa faeces*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 4, p. 115-118, 1987.
- Dobbss, L. B. et al. Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on plant root growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 3681-3688, 2010. DOI: 10.1021/jf904385c.
- Dobbss, L. B. et al. Changes in root development of *Arabidopsis* promoted by organic matter from oxisols. **Annals of Applied Biology** v. 151, n. 2, p. 199-211, 2007. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2007.00166.x.
- Fan, H. et al. Effects of humic acid derived from sediments on growth, photosynthesis and chloroplast ultrastructure in chrysanthemum. **Scientia Horticulturae**, v. 177, p. 118-123, 2014. DOI: 10.1016/j.scientia.2014.05.010.
- Ferrara, G. & Brunetti, G. Influence of foliar applications of humic acids on yield and fruit quality of table grape cv. Itália. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v. 42, n. 2, p. 79-87, 2008.
- Linehan, D. J. Organic matter and trace elements. In: Vaughan, D. & Malcolm, R. E. (Ed.). **Soil organic matter and biological activity**. Nijhoff Junk: The Hague, 1985. p. 403-421.
- Linehan, D. J. & Shepherd, H. A comparative study of the effects of natural and synthetic ligands on iron uptake by plants. **Plant and Soil**, v. 52, n. 2, p. 281-289, 1979. DOI: 10.1007/BF02184566.
- Lopes, A. S. & Guilherme, L. R. G. **Interpretação de análise de solo: conceitos e aplicações**. São Paulo: ANDA, 2004. 50 p. (ANDA. Boletim técnico, 2).
- Machado, R. B. et al. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro: relatório técnico**. Brasília: Conservação Internacional, 2004. 23 p.
- Maggioni, A. et al. Action of soil humic matter on plant roots: stimulation of ion uptake and effects on (Mg²⁺+K⁺) ATPase activity. **Science of the Total Environment**, v. 62, p. 355-363, 1987. DOI: 10.1016/0048-9697(87)90522-5.
- Marinho, E. B. et al. Organic matter pools and nutrient cycling in different coffee production systems in the Brazilian Cerrado. **Agroforestry Systems**, v. 88, n. 5, p. 767-778, 2014. DOI: 10.1007/s10457-014-9723-4.
- Marques Junior, R. B. et al. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1121-1128, 2008. DOI: 10.1590/S0100-06832008000300020.
- Melo, V. F. et al. Cinética de liberação de potássio e magnésio pelos minerais da fração argila de solos do triângulo mineiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 4, p. 533-545, 2005. DOI: 10.1590/S0100-06832005000400006.
- Montagnini, F. Mixed tree plantations: experiments with native trees in Costa Rica and Argentina. **Agroforestry Today**, v. 3, p. 4-5, 1992.
- Nannipieri, P. et al. Proprietà biochimiche e fisiologiche della sostanza organica. In: _____. (Ed.). **Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici, ecologici y selvicolturali**. Bologna: Patron, 1993. p. 67-78.
- Olivares, F. L. et al. Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. **Scientia Horticulturae**, v. 183, p. 100-108, 2015. DOI: 10.1016/j.scienta.2014.11.012.
- Olson, R. U. & Berger, K. C. Boron fixation as influenced by pH, organic matter content, and other factors. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 11, p. 216-220, 1946.
- Pinton, R. et al. Modulation of nitrate uptake by water-extractable humic substances: Involvement of root plasma membrane H⁺-ATPase. **Plant and Soil**, v. 215, n. 2, p. 155-163, 1999. DOI: 10.1023/A:1004752531903.
- Pinton, R. et al. Water-and pyrophosphate-extractable humic substances fractions as a source of iron for Fe-deficient cucumber plants. **Biology and Fertility of Soils**, v. 26, n. 1, p. 23-27, 1998. DOI: 10.1007/s003740050337.
- Piotto, D. et al. Performance of forest plantations in small and medium-sized farms in the Atlantic lowlands of Costa Rica. **Forest Ecology and Management**, v. 175, n. 1-3, p. 195-204, 2003. DOI: 10.1016/S0378-1127(02)00127-5.
- Rauthan, B. S. & Schnitzer, M. Effects of soil fulvic acid on the growth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. **Plant and Soil**, v. 63, n. 3, p. 491-495, 1981. DOI: 10.1007/BF02370049.
- Schmidt, W. et al. Water-extractable humic substances alter root development and epidermal cell pattern in *Arabidopsis*. **Plant and Soil**, v. 300, n. 1, p. 259-267, 2007. DOI: 10.1007/s11104-007-9411-5.
- Tan, K. H. & Nopamombodi, V. Effect of different levels of humic acids on nutrient content and growth of Corn. **Plant and Soil**, v. 51, n. 2, p. 283-287, 1979. DOI: 10.1007/BF02232891.
- Vaccaro, S. et al. Effect of a compost and its water-soluble fractions on key enzymes of nitrogen metabolism in maize seedlings. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 11267-11276, 2009. DOI: 10.1021/jf901808s.
- Yadav, S. K. Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatin in heavy metal stress tolerance of plants. **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 2, p. 167-179, 2010. DOI: 10.1016/j.sajb.2009.10.007.
- Zandonadi, D. B. et al. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H⁺ pumps activation. **Planta**, v. 225, n. 6, p. 1583-1595, 2007. DOI: 10.1007/s00425-006-0454-2.
- Zandonadi, D. B. et al. Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. **Planta**, v. 231, n. 5, p. 1025-1036, 2010. DOI: 10.1007/s00425-010-1106-0.
- Zandonadi, D. B. et al. Plant physiology as affect by humified organic matter. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25, n. 1, p. 12-25, 2013. DOI: 10.1590/S2197-00252013000100003.