

DINÂMICA DO NTD E A EXPRESSÃO DE TRANSPORTADORES DE
NITRATO EM MARACUJAZEIRO SUBMETIDOS A ADUBAÇÃO
ORGÂNICA E ÁCIDOS HÚMICOS

PAULO FERNANDO MARQUES CAVALCANTI FILHO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO 2022

DINÂMICA DO NTD E A EXPRESSÃO DE TRANSPORTADORES DE
NITRATO EM MARACUJAZEIRO SUBMETIDOS A ADUBAÇÃO
ORGÂNICA E ÁCIDOS HÚMICOS

PAULO FERNANDO MARQUES CAVALCANTI FILHO

“Tese apresentado ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.”

Orientador: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO-2022

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

C376

Cavalcanti Filho, Paulo Fernando Marques.

DINÂMICA DO NTD E A EXPRESSÃO DE TRANSPORTADORES DE NITRATO EM MARACUJAZEIRO SUBMETIDOS A ADUBAÇÃO ORGÂNICA E ÁCIDOS HÚMICOS / Paulo Fernando Marques Cavalcanti Filho. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

97 f.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2022.

Orientador: Luciano Pasqualoto Canellas.

1. Nitrogênio Total Dissolvido. 2. GENES NRT. 3. ATPase. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

DINÂMICA DO NTD E A EXPRESSÃO DE TRANSPORTADORES DE
NITRATO EM MARACUJAZEIRO SUBMETIDOS A ADUBAÇÃO
ORGÂNICA E ÁCIDOS HÚMICOS

PAULO FERNANDO MARQUES CAVALCANTI FILHO

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de doutor em Produção Vegetal.”

Aprovada em 27 de maio 2022.

Comissão Examinadora:

Prof. Claudio Roberto Marciano (Dr., Solos e Nutrição de Plantas) - UENF

Prof. Daniel Basílio Zandonadi (Dr., Biotecnologia e Biociências) - UFRJ

Prof. Fábio Lopes Olivares (Ph.D., Ciências do Solo) - UENF

Dra. Natália Oliveira Aguiar Canellas (Ph.D., Produção Vegetal) - UENF

Prof. Luciano Pasqualoto Canellas (Ph.D., Ciência do Solo) – UENF
Orientador

Dedico ao meu filho Rafael, a minha Moah (in memoriam), meu Nino e a toda minha família. Obrigado por toda a força e amor.
“non timebo mala quoniam tu mecum es.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por todas as coisas maravilhosas que me proporcionou nesses últimos anos.

Gostaria de agradecer a Universidade Estadual do Norte Fluminense por toda estrutura e apoio que me proporcionou durante toda a minha trajetória desde a graduação até hoje.

Agradecer ao Programa de Pós-graduação da UENF em Produção Vegetal, por toda a oportunidade de aqui obter minha formação, agradecer por todo o conhecimento que recebi e por toda a estrutura.

A CAPES pelo apoio financeiro da bolsa, que sem eles não conseguiria me manter longe da minha cidade natal e concluir essa etapa da minha formação.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão aos professores e funcionários que me forneceram apoio e conhecimento ao longo de todos esses anos de UENF.

Agradeço também aos meus colegas de laboratório do NUDIBA, em especial aos amigos Silézio Ferreira, Rafael Frinhani, Jessica Dutra, Deyse Paixão e Daiane Baía, pela colaboração no desenvolvimento do trabalho e pela amizade.

Agradecer aos meus amigos Carlos Edwardo, Raphael Lopes e Diego Furlan, por toda a amizade e companheirismo ao longo dos anos

Agradecer ao meu orientador Prof. Luciano Canellas e os demais membros da banca, muito obrigado pelos valiosos ensinamentos compartilhados nesta etapa.

Quero estender minha gratidão à minha família: meu Pai Paulo, minhas irmãs Tatiana e Maria Lya, meu irmão Felipe e meu cunhado João, pelo apoio constante ao longo dessa jornada. Um agradecimento especial à minha Mãe, cujo apoio e conselhos foram fundamentais para alcançar este objetivo.

À minha amada esposa Anna, expresso minha gratidão pelo apoio incondicional, carinho e orientação em todos os momentos, sejam eles bons ou ruins. Você tem sido meu porto seguro, meu "Nino".

À minha avó Yolanda e à minha querida Moah, dedico minha saudade e meu eterno agradecimento, onde quer que estejam, estarão sempre em minha memória.

E, por fim, um agradecimento especial ao meu filho Rafael, por ser minha fonte de força e inspiração para me tornar um ser humano melhor e um pai melhor a cada dia.

SUMÁRIO

| | |
|--|--------------------------------------|
| AGRADECIMENTOS | iii |
| SUMÁRIO | v |
| RESUMO | vi |
| ABSTRACT | Erro! Indicador não definido. |
| 1 – INTRODUÇÃO | 1 |
| 2- REVISÃO DE LITERATURA..... | 6 |
| 2.1 Cultura do maracujazeiro..... | 6 |
| 2.2 Fertilizantes orgânicos | 7 |
| 2.3 Eficiência do uso de N e Nitrogênio Total Dissolvido..... | 9 |
| 2.4 Ácidos Húmicos e genes transportadores de nitrato..... | 11 |
| 3. TRABALHOS | 16 |
| DINAMICA DE CURTO PRAZO DO NITROGÊNIO TOTAL DISSOLVIDO NA ADUBAÇÃO ORGÂNICA DO MARACUJAZEIRO..... | 16 |
| RESUMO..... | 17 |
| ABSTRACT..... | 18 |
| INTRODUÇÃO..... | 19 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 21 |
| RESULTADOS | 24 |

| | |
|---|----|
| DISCUSSÃO..... | 31 |
| CONCLUSÃO..... | 33 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 34 |
| ÁCIDOS HÚMICOS INDUZEM A EXPRESSÃO DOS TRANSPORTADORES DE NITRATO EM MUDAS DE MARACUJAZEIRO | 39 |
| RESUMO..... | 40 |
| ABSTRACT..... | 42 |
| INTRODUÇÃO..... | 44 |
| MATERIAL E METODOS | 47 |
| RESULTADOS | 52 |
| DISCUSSÃO..... | 58 |
| CONCLUSÃO..... | 61 |
| REFERÊNCIAS | 62 |
| 4. RESUMOS E CONCLUSÕES..... | 70 |
| REFERÊNCIAS..... | 71 |

RESUMO

CAVALCANTI FILHO, PAULO. F. M. DSc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Maio de 2024. DINÂMICA DO NTD E A EXPRESSÃO DE TRANSPORTADORES DE NITRATO EM MARACUJAZEIRO SUBMETIDOS A ADUBAÇÃO ORGÂNICA E ÁCIDOS HÚMICOS. Orientador: Luciano Pasqualoto Canellas.

O manejo da adubação orgânica no cultivo de maracujazeiro frequentemente se baseia em práticas empíricas, guiadas pelas respostas observadas nas plantações e pela experiência dos produtores. O conhecimento das respostas fisiológicas da planta a adubação orgânica é fundamental para os programas de fertilidade. Este estudo compreendeu dois experimentos destinados a investigar o uso de adubos orgânicos no cultivo do maracujazeiro. No primeiro experimento, a dinâmica de curto prazo do nitrogênio total dissolvido foi avaliada, enquanto o segundo investigou a expressão diferencial dos transportadores de nitrato e da H⁺-ATPase de membrana plasmática em mudas de maracujazeiro adubadas com diferentes fertilizantes orgânicos, com ou sem a presença de ácidos húmicos. No primeiro experimento, foi adicionado o equivalente a 1g de nitrogênio total dissolvido, provenientes de diferentes adubos orgânicos, a amostras de Latossolo Amarelo distrocoeso típico. Os tratamentos incluíram: controle (apenas solo); solo com

vermicomposto; solo com esterco; solo com torta de mamona; solo com bokashi. Durante um período de 35 dias, o nitrogênio total dissolvido e o carbono orgânico dissolvido foram monitorados a cada 7 dias. Verificou-se que os adubos orgânicos apresentaram uma dinâmica de concentração linear decrescente de nitrogênio total dissolvido com o tempo de incubação, com exceção da torta de mamona que apresentou modelo exponencial. Embora tenha sido observada uma distinção na dinâmica de concentração de nitrogênio total dissolvido entre os diferentes fertilizantes, essa variação não influenciou o teor de nitrogênio das plantas nem os parâmetros biométricos avaliados com exceção da massa seca da raiz. No segundo experimento, o equivalente a 1g de nitrogênio total dissolvido em água, proveniente de esterco de curral, torta de mamona e ureia, foi adicionado às mudas, que foram tratadas ou não com uma suspensão de ácidos húmicos (2 mmol/L). A expressão diferencial dos transportadores de nitrato de baixa e alta afinidade (PeNRT2.2 e PeNRT1.1) e da H⁺-ATPase (PeMha) foi analisada por qRT-PCR. Os resultados indicaram que a aplicação de ácidos húmicos aumentou a expressão dos transportadores de nitrato e das bombas de prótons membranares. Nesse trabalho foi observado que o esterco de curral aumenta a expressão diferencial dos transportadores de NO₃⁻ de alta afinidade (NTR2.2) e que a aplicação de AH amplifica essa resposta não só para o esterco, mas também para a ureia., mas sem qualquer efeito para a torta de mamona. Esse efeito pode ser justificado em parte pelas diferenças na matéria orgânica de cada fertilizante influenciando diretamente a concentração de NO₃⁻ no meio e conseqüentemente a expressão dos genes dos transportadores. Conclui-se que, a aplicação de ácidos húmicos promoveu a expressão dos genes PeNRT2.2 e PeMHA indicando a possibilidade de melhorar a eficiência da absorção do nitrogênio na fase de crescimento inicial do maracujazeiro adubados com fertilizantes orgânicos.

Palavras-chave: Nitrogênio total dissolvido; GENES NRT; ATPase

ABSTRACT

CAVALCANTI FILHO, PAULO. F. M. DsC. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. May 2024. DYNAMICS OF NTD AND THE EXPRESSION OF NITRATE TRANSPORTERS IN PASSION FRUIT PLANTS WITH ORGANIC FERTILIZATION AND HUMIC ACIDS. Advisor: Luciano Pasqualoto Canellas.

The management of organic fertilization in passion fruit cultivation is often based on empirical practices, guided by observations in plantations and producers' experience. Understanding the physiological responses of plants to organic fertilization is crucial for fertility programs. This study comprised two experiments aimed at investigating the use of organic fertilizers in passion fruit cultivation. In the first experiment, the short-term dynamics of dissolved total nitrogen were evaluated, while the second experiment investigated the differential expression of nitrate transporters and H⁺-ATPase of plasma membrane in passion fruit seedlings fertilized with different organic fertilizers, with or without the presence of humic acids. In the first experiment, the equivalent of 1g of dissolved total nitrogen from different organic fertilizers was added to samples of typical dystrocohesive Yellow Latosol soil. Treatments included: control (soil only); soil with vermicompost; soil with manure; soil with castor bean cake; soil with bokashi. Over a period of 35 days,

dissolved total nitrogen and dissolved organic carbon were monitored every 7 days. It was found that organic fertilizers exhibited a linear decreasing concentration dynamic of dissolved total nitrogen over the incubation time, except for castor bean cake, which showed an exponential model. Although a distinction in the dynamics of dissolved total nitrogen concentration among different fertilizers was observed, this variation did not influence the nitrogen content of plants or the biometric parameters evaluated, except for root dry mass. In the second experiment, the equivalent of 1g of dissolved total nitrogen in water, derived from cattle manure, castor bean cake, and urea, was added to the seedlings, which were treated or untreated with a suspension of humic acids (2 mmol/L). The differential expression of low- and high-affinity nitrate transporters (PeNRT2.2 and PeNRT1.1) and H⁺-ATPase (PeMha) was analyzed by qRT-PCR. The results indicated that the application of humic acids increased the expression of nitrate transporters and membrane proton pumps. It was observed in this work that cattle manure increased the differential expression of high-affinity NO₃⁻ transporters (NTR2.2), and the application of HA amplified this response not only for cattle manure but also for urea, with no effect observed for castor bean cake. This effect may be partly justified by differences in the organic matter of each fertilizer directly influencing NO₃⁻ concentration in the medium and consequently the expression of transporter genes. It is concluded that the application of humic acids promoted the expression of PeNRT2.2 and PeMHA genes, indicating the possibility of improving nitrogen absorption efficiency in the initial growth phase of passion fruit fertilized with organic fertilizers.

Keywords: Total dissolved nitrogen; NRT GENES; ATPase.

1 – INTRODUÇÃO

A maioria das espécies do gênero *Passiflora* tem sua origem na região tropical e subtropical da América do Sul. O Brasil é amplamente reconhecido como o principal centro de diversidade genética desse gênero, com mais de 152 espécies nativas, predominantemente encontradas na parte Central e Norte do país (Manica, 2005). Além disso, o Brasil detém o título de maior produtor mundial de maracujá. A cultura do maracujazeiro é predominante nas regiões Nordeste, Sudeste e Norte do país. Em 2022, a produção brasileira atingiu a marca de 697.859 toneladas, com uma produtividade média de 15,3 toneladas por hectare (IBGE, 2022).

Os adubos orgânicos, constituídos por materiais de origem animal ou vegetal, muitos dos quais são considerados resíduos ou rejeitos, desempenham um papel significativo na agricultura orgânica ou ecológica (Weinärtner et al., 2006). Além de promover melhorias nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, o uso desses adubos não apresenta impactos negativos no ambiente, tornando-se uma opção ecologicamente correta e economicamente viável. Portanto, sua adoção e investigação devem ser mais amplamente difundidas no meio agrícola (Pereira et al., 2013). De forma adicional, o emprego de fertilizantes orgânicos não apenas aprimora os atributos físicos do solo, como também

influencia a temperatura e a penetração das raízes, possibilitando a integração de compostos orgânicos que fornecem nutrientes essenciais às plantas (Salles et al., 2017).

O nitrogênio (N) representa o elemento mineral de maior demanda pelas plantas, sendo essencial para diversos componentes celulares vegetais, incluindo clorofila, aminoácidos e ácidos nucleicos (Taiz e Zeiger, 2017). No contexto do maracujazeiro, assim como em outras culturas, o nitrogênio é o nutriente mais absorvido. Em uma lavoura com densidade de 1.500 plantas/ha, a absorção anual pode atingir 205 kg de N/ha (Haag et al., 1973). No entanto, a exigência nutricional por esse elemento varia de acordo com o estado fenológico da planta (Mattar et al., 2018; Haag et al., 1973).

A maior parte do nitrogênio total presente no solo (> 98%) encontra-se imobilizada na matéria orgânica, tornando-se pouco disponível diretamente para as plantas. A conversão do nitrogênio orgânico em formas inorgânicas ocorre por meio de processos biológicos que envolvem microrganismos do solo (Bartholomew, 1965). A taxa de mineralização do nitrogênio varia entre os diferentes tipos de resíduos orgânicos, sendo este processo influenciado, entre outros fatores, pela composição química dos resíduos (Trinsoutrot et al., 2000). Conforme Lisboa et al., (2018) observaram, a sincronização dos períodos de maior liberação de nitrogênio no solo com as fases de maior requerimento de nitrogênio pelas plantas representa uma grande dificuldade, devido à alta variabilidade nas taxas de mineralização de nitrogênio em resíduos.

O nitrogênio prontamente assimilável dissolvido na solução do solo (NTD) consiste em duas frações principais: nitrogênio orgânico dissolvido (NOD) e nitrogênio inorgânico dissolvido (NID). O NID compreende as formas de amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) (Yan et al., 2015).

Em solos bem aerados, a absorção de NO_3^- predomina nas plantas cultivadas, e se não for absorvido pelas raízes das plantas ou utilizado por

microrganismos, pode ser lixiviado (Dechorgnat, 2011). As plantas possuem dois sistemas de absorção de NO_3^- , os quais operam de acordo com as concentrações de NO_3^- no meio externo. Os sistemas de alta afinidade (HATS) funcionam quando o NO_3^- está presente no solo em baixa concentração ($<1 \text{ mM}$). Por outro lado, o sistema de baixa afinidade opera preferencialmente em concentrações elevadas de NO_3^- ($>1 \text{ mM}$) (Siddiqi et al., 1990).

A matéria orgânica presente no solo e nos resíduos, do ponto de vista estritamente teórico, pode ser dividida em dois grandes compartimentos. Um deles é composto pela fração não-humificada, que engloba os restos vegetais e animais pouco decompostos, bem como os compostos orgânicos com categorias bioquímicas definidas, como proteínas, açúcares, ceras, graxas e resinas. O outro compartimento é formado pelas substâncias humificadas. As substâncias húmicas (SH) são produtos da intensa transformação dos resíduos orgânicos pela biomassa e pela polimerização dos compostos orgânicos em macromoléculas resistentes à degradação biológica (Santos e Camargo, 1999)

De acordo com Piccolo (2001), as SH podem ser conceituadas como uma aglomeração ou mistura heterogênea de moléculas relativamente pequenas mantidas em um arranjo supramolecular dinâmico devido a interações fracas, predominantemente de natureza hidrofóbica e ligações de hidrogênio não covalentes. Após a separação química, os ácidos húmicos e fúlvicos emergem como os dois principais componentes das substâncias húmicas. Suas composições médias no solo são $\text{C}_{135} \text{H}_{182} \text{O}_{95} \text{N}_5 \text{S}_2$ para os ácidos fúlvicos e $\text{C}_{187} \text{H}_{186} \text{O}_{89} \text{N}_9 \text{S}$ para os ácidos húmicos (Schnitzer e Khan, 1972). As SH são definidas como compostos orgânicos condensados, produzidos pela atividade microbiana, que formam agregados supramoleculares organizados em associações de diversos compostos orgânicos de baixa massa molecular, contendo domínios predominantemente hidrofílicos (ácidos fúlvicos) ou hidrofílico-hidrofóbicos (ácidos húmicos) (Baldotto et al., 2014).

As SH exercem influências significativas na estrutura física do solo, manifestadas pela maior retenção de água, melhoria da aeração e conseqüente resistência aumentada à erosão, atribuída às suas partículas coloidais capazes de formar uma emulsão quando em contato com a água (Kiehl, 1985). Além disso, as substâncias húmicas têm impactos diretos na estrutura química e microbiológica dos ambientes em que estão presentes, bem como influenciam o metabolismo e o crescimento das plantas (Canellas et al., 2005).

A Instrução Normativa de 8 de julho de 2020 estabeleceu a definição de biofertilizante de SH como o produto resultante da decomposição e solubilização de materiais orgânicos, seguida de oxidação, constituído essencialmente por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (MAPA, 2020).

Os efeitos sobre a absorção e assimilação de NO_3^- em plantas tratadas com SH foram previamente documentados na literatura. Estudos investigaram a aplicação de SH e seus impactos na taxa de absorção líquida de NO_3^- (Dell'Agnola e Nardi, 1987; Nardi et al., 1991; Piccolo et al., 1992). Vacarro et al. (2015) empregaram SH como pré-tratamento em sementes de milho e observaram um aumento na expressão relativa de cinco genes responsáveis pelas enzimas-chave na assimilação de N e na síntese de ácidos orgânicos: NR (nitrito redutase), AS (asparagina sintetase), CS (citrato sintetase), IDH (isocitrato desidrogenase) e MDH (malato desidrogenase) nas plantas.

Estudos que investigaram a aplicação de SH sobre os genes transportadores de NO_3^- de alta e baixa afinidade foram examinados em diversas culturas (Quaggiotti et al., 2004; Tavares et al., 2017; Zanin et al., 2018; De Azevedo et al., 2019). No entanto, os efeitos das SH na transcrição dos genes transportadores de NO_3^- em maracujá ainda não foram descritos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a dinâmica de NTD a curto prazo em amostras da camada superficial de um Latossolo Amarelo Distrocoeso Típico, submetido a adubação orgânica com diferentes resíduos, bem como verificar o

efeito da aplicação de ácidos húmicos na expressão de genes transportadores de NO_3^- em plântulas de maracujazeiro tratadas com 1 g de NTD de diferentes fontes orgânicas.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do maracujazeiro.

O Brasil destaca-se como centro de origem do gênero *Passiflora*, com mais de 152 espécies nativas nas regiões Centro e Norte, entre as quais se destacam o maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) e o maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis), líderes de consumo no país (Manica, 2005). O país lidera globalmente na produção de maracujá, cultivando essa fruta principalmente nas regiões Nordeste, Sudeste e Norte. Em 2022, a produção nacional atingiu 697.859 toneladas, com produtividade média de 15,3 toneladas por hectare (IBGE, 2022)

A espécie *Passiflora edulis* Sims é botanicamente descrita como uma planta perene, com crescimento contínuo, podendo alcançar de cinco a dez metros de comprimento. Seu sistema radicular é do tipo pivotante, superficial, concentrando a maior parte das raízes entre 30 e 45 cm de profundidade, em um raio de 60 cm a partir do tronco (Sousa, 2000).

Segundo Haag et al., (1973), o crescimento do maracujazeiro é inicialmente lento até atingir o fio de sustentação (2 m), o que geralmente ocorre entre 60 a 90 dias após o plantio da muda no campo, variando de acordo com a época de plantio. Após esse período, observa-se um aumento no crescimento

vegetativo seguido por uma intensa floração. O crescimento vegetativo continua até a planta atingir o máximo acúmulo de matéria seca e produção de frutos, aproximadamente 240 dias após o plantio das mudas. Conforme Manica (2005), o ciclo da florada à colheita do fruto é de 60 a 90 dias.

Dentre os elementos que podem influenciar positivamente no incremento da produtividade estão a nutrição mineral e a adubação das plantas, nas quais, por meio de técnicas de adubação química e orgânica, os nutrientes devem ser fornecidos em quantidades e momentos adequados às necessidades das plantas (Borges et al., 2006).

2.2 Fertilizantes orgânicos

Após a Primeira Guerra Mundial, ocorreram transformações significativas nos processos industriais e nos modelos de produção em todo o mundo. No meio rural, surgiram estímulos para a adoção de novas técnicas e práticas visando aumentar a produtividade. Segundo Saquet (2017), esse conjunto de medidas ficou conhecido como revolução verde. Esse modelo de produção se baseou em novas tecnologias desde o plantio até a colheita e comercialização, envolvendo o uso intensivo de sementes modificadas, fertilizantes e pesticidas.

A partir desse contexto, emergiu o uso desenfreado de produtos químicos, resultando na dependência da agricultura pela utilização de pesticidas e em outros obstáculos, tais como a substituição da mão de obra manual pela mecanização rural, a introdução de plantas geneticamente modificadas e a urbanização desorganizada (Saquet, 2017).

Na segunda metade da década de 70, foram organizados os primeiros eventos sobre agricultura alternativa, promovidos por entidades profissionais e estudantis de agronomia. Tais iniciativas viriam a ter desdobramentos futuros quanto à sensibilização, capacitação e engajamento dos agrônomos no movimento ambientalista e nos movimentos sociais do campo. O termo "agricultura alternativa" assumia uma abrangência às distintas correntes de

contestação ao modelo dominante: agricultura biológica, natural, permacultura, orgânica, biodinâmica, entre outras (Da Costa et al., 2015 apud Merrill, 1983).

Um desafio atual é o manejo de fertilizantes convencionais. Embora o Brasil seja uma potência agrícola, em relação à produção de fertilizantes, o país não é autossuficiente e depende da importação desses insumos em quantidades cada vez maiores (CONAB, 2022). A sustentabilidade da agricultura moderna requer uma transição da utilização exclusiva de fertilizantes minerais para uma adoção combinada com fertilizantes orgânicos (Botelho, 2020).

De acordo com Álvarez et al., (2010), os fertilizantes orgânicos fornecem matéria orgânica, nutrientes e microrganismos, favorecendo a fertilidade do solo e a nutrição das plantas. Contudo, para satisfazer as necessidades nutricionais das culturas, são necessárias quantidades elevadas de fertilizantes, o que implica uma disponibilidade elevada de resíduos orgânicos para sua preparação e condições adequadas para seu armazenamento e aplicação.

Desde sua incorporação à legislação brasileira em 1982 (Kiehl, 1985), tem havido um aumento na fabricação de fertilizantes organominerais no Brasil. No entanto, o uso desses fertilizantes ainda é considerado recente em comparação com os fertilizantes minerais isolados. Segundo Neiva Junior et al., (2019), os compostos organominerais podem ser categorizados como ativadores biológicos, estimulantes e reguladores de crescimento, além de servirem como fontes de nutrientes minerais em baixas concentrações, condicionadores e agentes umectantes

A adubação orgânica na cultura do maracujá ainda carece de mais pesquisas para compreender seus efeitos diretamente no solo e nas características físico-químicas do mesmo, a fim de confirmar a viabilidade do plantio em larga escala. Isso ocorre devido ao conhecimento limitado sobre o efeito dos materiais orgânicos nas propriedades químicas e físicas dos solos onde o maracujazeiro é cultivado (Santos et al., 2022; Pires et al., 2011).

Entretanto, efeitos positivos da adubação orgânica na cultura do maracujazeiro têm sido observados por alguns autores. Rojas et al. (2007), ao

estudarem o cultivo do maracujá em três sistemas de cultivo (agroecológico, transitório e convencional), observaram que a produção em sistema agroecológico da cultura aumenta e melhora as características químicas do solo (Saquet, 2017).

De acordo com Borges (2021), a adubação convencional para o maracujazeiro depende da produtividade esperada para a cultura. As recomendações de adubação orgânica para o maracujazeiro são as mesmas para o sistema convencional. Assim, a quantidade da fonte de nutriente a ser aplicada na adubação orgânica dependerá da absorção e da retirada de nutrientes pelos frutos e dos teores no solo (Borges e Rosa, 2018). Araujo Neto et al. (2008), avaliaram que o maracujá amarelo obteve maiores índices de rentabilidade e maior potencial produtivo em comparação com o sistema convencional, destacando-se como uma boa opção de plantio para a agricultura familiar.

Uma consideração a ser feita é a análise prévia dos compostos orgânicos utilizados na adubação. De forma geral, 50% do N aplicado ao solo na forma orgânica é convertido no primeiro ano, 20% no segundo ano e 30% a partir do terceiro ano (CFSEMG, 1999).

2.3 Eficiência do uso de N e Nitrogênio Total Dissolvido

O nitrogênio (N) é essencial para as plantas, sendo necessário em maiores quantidades. É um componente crucial de diversas estruturas celulares vegetais, como a clorofila, aminoácidos e ácidos nucleicos (Taiz e Zeiger, 2017). Apesar de compor cerca de 78% dos gases atmosféricos, o nitrogênio não está diretamente disponível para as plantas (Malavolta, 1980). Assim, precisa ser fornecido, uma vez que aproximadamente 95% do nitrogênio presente no solo encontra-se na forma orgânica, embora apenas metade desses compostos tenha sido identificada até o momento. Além da forma orgânica, existem também as formas inorgânicas minerais (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-), bem caracterizadas e passíveis de separação e quantificação. Embora sua presença no solo seja menor em comparação à fração orgânica, essas formas inorgânicas são de grande importância na nutrição das plantas e nos diversos processos relacionados ao ciclo do nitrogênio (Vieira, 2017)

A conversão do nitrogênio orgânico em formas inorgânicas ocorre por meio de processos biológicos envolvendo microrganismos do solo. Em solos aerados, o nitrato (NO_3^-) é a forma predominante. Se não for absorvido pelas raízes das plantas ou utilizado pelos microrganismos, o nitrato é lixiviado (Dechorgnat, 2011).

Os custos associados aos fertilizantes à base de N são elevados, o que coloca o Brasil como o quarto maior consumidor de fertilizantes do mundo. Além disso, o país se destaca não apenas como um grande consumidor, mas também como o principal importador desse insumo. As importações de fertilizantes nitrogenados representam 29% desse montante (MAPA, 2022). Nesse contexto, a Eficiência de Uso do Nitrogênio (EUN) emerge como um parâmetro crucial na agricultura moderna. Ela mensura a capacidade das plantas de converter o nitrogênio aplicado como fertilizante em produção de biomassa ou grãos (Moll et al., 1982; Tilman, 2002).

Na cultura do maracujazeiro, o nitrogênio é o nutriente mais absorvido. No entanto, os valores recomendados de nitrogênio para essa cultura variam na literatura. Mattar et al. (2021) sugerem 130 kg de N por hectare, enquanto Borges (2021) recomenda uma faixa entre 140 a 160 kg de N por hectare, e Miyake et al. (2018) sugerem até 235 kg de N por hectare.

Na maioria das plantas cultivadas em solos agrícolas, o NO_3^- é a principal fonte de N. Portanto, é fundamental compreender de forma abrangente o transporte do NO_3^- do solo para a planta, bem como dentro da própria planta. Um passo inicial essencial para aprimorar a capacidade de absorção do NO_3^- e a EUN das plantas cultivadas é a caracterização dos transportadores responsáveis pelo NO_3^- (Miller et al., 2007).

Dependendo das concentrações externas de NO_3^- , dois sistemas de absorção distintos ocorrem dentro da planta: os sistemas de transporte de alta afinidade (HATS) operam quando o NO_3^- está presente no solo em baixas concentrações (<1 mM), enquanto os sistemas de transporte de baixa afinidade (LATS) entram em ação em concentrações mais elevadas (>1 mM) (Siddiqi et al., 1990).

Os transportadores NRT1 pertencem à família dos transportadores de oligopeptídeos dependentes de prótons (POT). Já os transportadores NRT2, também conhecidos como família porter de nitrato/nitrito (NRP), fazem parte da superfamília dos facilitadores principais (MFS) (Guo et al., 2011, apud Paulsen et al., 1994; Pao et al., 1998).

O nitrogênio prontamente assimilável dissolvido na solução do solo (NTD) é composto pelas frações de nitrogênio orgânico dissolvido (NOD) e nitrogênio inorgânico dissolvido (NID), sendo este último subdividido em amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) (Yan et al., 2015).

Estudos como o de Kim et al., (2014) demonstram taxas significativas de liberação de NTD nas primeiras três semanas de incubação de resíduos orgânicos no solo. Essa rápida liberação indica que, na fase inicial da decomposição, predominam tanto os processos físico-químicos de liberação de N da matéria orgânica para a água quanto a decomposição microbiana do nitrogênio orgânico.

Esses achados corroboram com pesquisas em diferentes contextos. Lockaby et al., (1997) observaram que a inundação induz uma liberação considerável de NTD derivado da serapilheira. Em outro estudo Zhou et al., (2015), avaliando a decomposição da serapilheira em solos tropicais, constataram uma diminuição significativa nas concentrações de NTD no solo após o primeiro mês. Compreender a variação na concentração de NTD disponível nos resíduos orgânicos a curto prazo é fundamental para elucidar os efeitos da dinâmica de NTD na etapa de plantio do maracujazeiro.

2.4 Ácidos Húmicos e genes transportadores de nitrato.

As substâncias húmicas (SH) podem ser definidas como uma reunião ou mistura heterogênea de moléculas relativamente pequenas mantidas em um arranjo supramolecular dinâmico por meio de interações fracas, predominantemente hidrofóbicas e por ligações de hidrogênio (Piccolo, 2001). Operacionalmente, as SH são classificadas com base em sua solubilidade em diferentes valores de pH em meio aquoso. Os ácidos húmicos (AH) são solúveis

em pH alcalino e considerados associações de compostos predominantemente hidrofóbicos, estabilizados a pH neutro por forças dispersivas fracas (van der Waals, ligações $\pi \rightarrow \pi$, CH- π e pontes metálicas). A conformação cresce progressivamente com o aumento das ligações de hidrogênio intramoleculares com a diminuição do pH até um ponto em que a estrutura floclula (Piccolo, 2012).

Além disso, é importante destacar que as SH desempenham um papel crucial na disponibilidade de nutrientes para as plantas. Plantas cultivadas em solos com teor adequado de húmus produzem mais, são mais saudáveis e menos sujeitas ao estresse, apresentando assim maior qualidade nutricional dos alimentos colhidos (Nardi, 2016).

Nos últimos anos, o interesse em aplicar SH solúvel em baixa concentração para estimular o crescimento vegetal tem crescido progressivamente. Essa tendência reflete o crescente consenso entre as diferentes partes interessadas, como distribuidores, pesquisadores, extensionistas e agricultores, sobre o impacto da matéria húmica como um produto útil com base em evidências bem estabelecidas de ensaios de campo (Canellas et al., 2015).

Dentre os pontos que podemos destacar de benefícios na promoção do crescimento vegetal a partir de SH, podemos citar as mudanças anatômicas nas raízes das plantas induzidas por AH oriundos de substâncias húmicas, além do aumento do número de pelos radiculares (Canellas et al., 2002; Canellas et al., 2010).

Além disso, entre os benefícios do uso de SH, inclui-se a absorção de nutrientes mediada pela síntese e funcionalidade de proteínas de membrana, relacionadas a bombas de prótons que aumentam o gradiente eletroquímico de prótons através da membrana plasmática. Ácidos húmicos (AH) podem aumentar as atividades da H⁺-ATPase de membrana plasmática, H⁺-ATPase vacuolar e pirofosfatases (Zandonadi et al., 2007). Por oportuno, foi observado que plantas previamente tratadas com HA podem neutralizar o estresse hídrico, alterando os processos fisiológicos e bioquímicos, incluindo o acúmulo de solutos compatíveis e a ativação de enzimas de desintoxicação (Aguiar et al., 2016)

Em nível transcricional, também é aparente que as substâncias húmicas (SH) de alguma forma modificam a percepção celular do status de nutrientes e energia, dissociando o nível de nutrientes da planta e a expressão de TOR. Deste modo, as SH podem estimular a expressão do gene TOR de Arabidopsis (Trevisan et al., 2011).

Complementarmente, os efeitos na absorção e assimilação de NO_3^- em plantas tratadas com SH já foram descritos na literatura. Alguns trabalhos avaliando as taxas de absorção líquida, as enzimas envolvidas na assimilação de NO_3^- e a expressão de genes transportadores de NO_3^- estão relacionados na Tabela 1. No entanto, os efeitos das SH na transcrição de genes transportadores de NO_3^- em maracujá ainda carecem de maiores esclarecimentos.

Tabela 1: Trabalhos com aplicação de SH e metabolismo do NO_3^- .

| Ano | Título | Cultura | Efeito | Referencias |
|------|---|---------|--|----------------------------|
| 1986 | EFFECTS OF HUMIC SUBSTANCES ON NITRATE UPTAKE AND ASSIMILATION IN BARLEY SEEDLINGS | Cevada | Absorção de nitrato e ativação de enzimas nitrato redutase (NR), glutamato desidrogenase (GDH) e glutamina sintetase (GS). | A. ALBUZIO et al., (1986) |
| 1987 | Hormone-like effect and enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from <i>Allolobophora rosea</i> and <i>A. caliginosa</i> faeces | Aveia | Frações de SH de tamanhos menores (Hef) aumentaram a captação de NO_3^- . | Dell'Agnola e Nardi (1987) |
| 1991 | Nitrate uptake and ATPase activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions | Aveia | Hef estimularam a captação de NO_3^- pela ativação da ATPase estimulada por K^+ | Nardi et al., (1991) |
| 1992 | Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems | Cevada | Esses resultados mostraram que os extratos húmicos foram mais ativos no aumento da absorção de NO_3^- . | Piccolo et al., (1992) |
| 1999 | Modulation of NO_3^- uptake by water-extractable humic substances: Involvement of root plasma membrane H^+ ATPase | Milho | WEHS (substância húmica extraída em água) induziu a captação de NO_3^- . | Pitton et al., (1999) |
| 2000 | A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings | Milho | Os resultados também mostram que substâncias húmicas de baixo tamanho molecular (LMS) estimula a absorção de NO_3^- pelas raízes. | Nardi et al., (2000) |
| 2000 | Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings | Trigo | Aumento na absorção de NO_3^- induzido por SH com tamanho molecular total e LMS | Cacco, G., et al., (2000) |
| 2001 | Effect of humic substances on nitrogen uptake and assimilation in two species of pinus | Pinus | SH estimularam apenas a absorção de amônio, não do NO_3^- . | Panuccio et al., (2001) |

| | | | | |
|------|--|--------|---|---------------------------|
| 2004 | Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (<i>Zea mays</i> L.) | Milho | SH de LMS estimularam a absorção de NO ₃ ⁻ pelas raízes. Aumento da expressão de ZmNrt2.1. na parte aérea | Quaggiotti et al., (2004) |
| 2010 | Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients | Pepino | O AH alterou a concentração de NO ₃ ⁻ e a atividade da NR | Mora et al., (2010) |
| 2012 | Microarray analysis of humic acid effects on <i>Brassica napus</i> growth: Involvement of N, C and S metabolisms | Colza | O AH influenciou em brotos cerca de 50% dos genes envolvidos no metabolismo de nitrogênio entre eles a nitrato redutase, nitrito redutase. | Jannin et al., (2012) |
| 2012 | The effect of humic and glutamic acids in nutrient solution on the N metabolism in lettuce | Alface | A concentração de nitrito e a atividade da NR foram influenciados por AH | Haghighi, M. (2012) |
| 2015 | Humic substances stimulate maize nitrogen assimilation and amino acid metabolism at physiological and molecular level | Milho | O HS em baixa concentração (1 mg CL ⁻¹) influenciou positivamente o metabolismo do N. Em enzimas NR, NiR. | Vaccaro et al., (2015) |
| 2015 | Humic substances from vermicompost enhance urban lettuce production | Alface | Huminas aumentaram absorção de NO ₃ ⁻ e estimularam a nitrato redutase. | Hernandez et al., (2015) |
| 2015 | Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes | Tomate | A pulverização foliar de bactérias promotoras de crescimento e humina aumento a absorção de NO ₃ ⁻ e a atividade do nitrato redutase. | Olivares et al, (2015) |
| 2017 | Humic acid differentially improves nitrate kinetics under low- and high-affinity systems and alters the expression of plasma membrane H ⁺ -ATPases and nitrate transporters in rice | Arroz | Os AH alteraram s níveis de expressão relativa dos genes OsNRT2.1, OsNRT2.2, em raízes e a cinética de absorção de NO ₃ ⁻ . | Tavares et al., (2017) |
| 2018 | Water-extractable humic substances speed up transcriptional response of maize roots to nitrate | Milho | Os WEHS causaram uma indução mais rápida e uma maior capacidade de absorção de NO ₃ ⁻ nas raízes. Induziu e nos genes (NRT1s, NRT2s) | Zanin et al., (2018) |
| 2018 | Effects of purified humic acid on the growth and nitrogen metabolism of cucumber seedlings under nitrogen stress | Pepino | A absorção de NO ₃ ⁻ em plântulas de pepino foi afetada por AH. O HA aumentou as atividades de NR, NiR, GS, GOGAT e GDH em diferentes graus | Gu et al., (2018) |
| 2018 | Biostimulant potential of humic acids extracted from an amendment obtained via combination of olive mill wastewaters (OMW) and a pre-treated organic material derived from municipal solid waste (MSW) | Milho | O HA de água residual de azeira aumentou a assimilação de nitrogênio, aumentando a atividade da NR (1,8-1,9 vezes) | Palumbo et al., (2018) |
| 2019 | Humic acids and <i>Herbaspirillum seropedicae</i> change the extracellular | Milho | A transcrição reprimida de genes envolvidos no transporte de NO ₃ ⁻ foi | De Azevedo et al., (2019) |

| | | | | |
|------|---|-------|--|------------------------|
| | H ⁺ flux and gene expression in maize roots seedlings | | maior quando HA ou Bac do que quando usou HA + Bac. | |
| 2019 | Humic acid as a biotechnological alternative to increase N-NO ₃ ⁻ or N-NH ₄ ⁺ uptake in rice plants | Arroz | O o pré-tratamento com HA modifica o influxo líquido de NO ₃ ⁻ . | Tavares et al., (2019) |

3. TRABALHOS

**DINAMICA DE CURTO PRAZO DO NITROGÊNIO TOTAL DISSOLVIDO NA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA DO MARACUJAZEIRO**

RESUMO

A demanda de nitrogênio pelo maracujazeiro é elevada e o fornecimento via adubação orgânica ainda é realizado sem muitos critérios. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a dinâmica de curto prazo do nitrogênio total dissolvido na adubação orgânica no maracujazeiro. Foi incubado o equivalente a 1 g de nitrogênio total dissolvido, de cada um dos adubos orgânicos utilizados, previamente quantificados por (TOC)-L CSH / CSN, em amostras de Latossolo Amarelo distrocoeso típico. Os tratamentos foram: controle (solo); vermicomposto + solo; esterco + solo; torta de mamona + solo; bokashi + solo. O conteúdo de NTD e o carbono orgânico dissolvido foram avaliados a cada 7 dias durante 35 dias. Aos 35 dias, foi avaliado a altura de plantas, massa seca de raiz e parte aérea, razão raiz:parte aérea e o teor e conteúdo de N nas plantas. Verificou-se que os adubos orgânicos apresentaram uma dinâmica de concentração linear decrescente de nitrogênio total dissolvido com o tempo de incubação, com exceção da torta de mamona que apresentou modelo exponencial. A dinâmica de liberação de nitrogênio total dissolvido dos fertilizantes não influenciou o conteúdo de N das plantas, nem a maioria dos parâmetros biométricos avaliados, com exceção da massa seca de raiz.

Palavras-chave: Fertilizantes Orgânicos, NTD, COD.

ABSTRACT

The demand for nitrogen by passion fruit is high and the supply via organic fertilization is still carried out without many criteria. Thus, the objective of this work was to evaluate the short-term dynamics of total dissolved nitrogen in organic fertilization in passion fruit. 1 g of total dissolved nitrogen, in the form of organic fertilizers, was incubated in samples of typical Latossolo Amarelo (Densic Ferralsol; Oxisol). The treatments were: control (soil); vermicompost + soil; manure + soil; castor bean pie + soil; bokashi + soil. Total dissolved nitrogen and dissolved organic carbon were evaluated every 7 days for 35 days. At 35 days, the plant height, root and shoot dry mass, root:shoot ratio and the N content and content in the plants were evaluated. Organic fertilizers showed a decreasing linear release of total dissolved nitrogen with incubation time, with the exception of castor bean cake, which showed an exponential model. The dynamics of total dissolved nitrogen release from fertilizers did not influence the N content of the plants, nor the biometric results evaluated.

Keywords: Organic Fertilizers, NTD, COD.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de maracujá no mundo, cultivado principalmente nas regiões Nordeste, Sudeste e Norte do país. Em 2022, a produção nacional atingiu 697.859 toneladas, com produtividade média de 15,3 toneladas por hectare (IBGE, 2022). A maioria das espécies do gênero *Passiflora* é originária da região tropical e subtropical da América do Sul. O Brasil é considerado o principal centro de origem desse gênero, sendo que mais de 152 espécies são procedentes da parte Central e Norte do país (Manica, 2005).

O nitrogênio (N) é o nutriente mais absorvido pelo maracujazeiro, no entanto, os valores recomendados de N para a cultura na literatura variam de 130 kg de N por hectare (Mattar et al., 2021); 140 a 160 kg de N (Borges, 2021) por hectare; e até 235 kg de N por hectare (Miyake et al., 2018). Os valores variam de acordo com a produtividade esperada para a cultura (Borges e Rosa 2018). As recomendações de adubação orgânica são as mesmas para o sistema convencional no plantio (Borges e Rosa 2018).

Uma consideração a ser feita é a análise prévia dos compostos orgânicos utilizados na adubação (Carnier, 2017). De forma geral, 50% do N aplicado ao solo na forma orgânica é convertido no primeiro ano, 20% no segundo ano e 30% a partir do terceiro ano (CFSEMG, 1999).

O N dissolvido na solução do solo (NTD) é considerado prontamente assimilável e inclui as frações N orgânico dissolvido (NOD) e N inorgânico dissolvido (NID), como amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) (KIM et al., 2014). Desta forma, o conhecimento da quantidade de N prontamente disponível em fertilizantes orgânicos no momento do plantio e sua dinâmica de concentração a curto prazo, podem ser úteis para otimizar a adubação orgânica.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a dinâmica de curto prazo do NTD em amostras da camada superficial de um Latossolo Amarelo Distrocoeso Típico submetido à adubação orgânica nitrogenada com diferentes resíduos.

MATERIAL E MÉTODOS

As mudas utilizadas foram obtidas a partir de sementes de maracujá-roxo do híbrido H09-110/111 desenvolvido pela Embrapa. As mudas foram produzidas em tubetes de 290 cm³, com substrato comercial Basaplant por 120 dias. Antes do plantio das mudas nos vasos, as raízes foram lavadas em água corrente para a remoção do substrato comercial.

No experimento foram utilizados os seguintes adubos: vermicomposto de esterco de curral (VC), esterco de curral curtido (EC), torta de mamona (TM) e bokashi (BK) com as seguintes características descritas na Tabela 1.

Tabela 01: Características dos fertilizantes orgânicos utilizados no experimento.

| Fertilizantes | pH | C (g/kg) | N (g/kg) | C:N | NTD (g/kg) | COD (g/kg) |
|------------------------|-----------|---------------------|---------------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| Vermicomposto | 7,48 | 206 | 16,8 | 12,26 | 1,66 | 3,67 |
| Esterco curral | 7,24 | 106 | 10,9 | 9,72 | 1,37 | 3,13 |
| Torta de mamona | 7,84 | 480,9 | 44,7 | 10,75 | 27,07 | 57,19 |
| Bokashi | 7,81 | 330,4 | 25 | 13,21 | 10,38 | 25,45 |

A quantificação dos teores de NTD de cada um dos fertilizantes foi realizada da seguinte forma: 1 g de massa seca de fertilizante, foi colocado com 20 mL de água na e colocado para agitar em mesa agitadora *overnight*. Após isso, o material foi colocado para centrifugar a 200 xg, por 20 minutos. O material então foi

filtrado em filtro de policarbonato de poro 0,45 μm . Os conteúdos de NTD e COD foram medidos usando um analisador de Carbono Orgânico Total Shimadzu (TOC)-L CSH / CSN equipado com um amostrador automático ASI-L (Shimadzu, Tóquio, Japão).

O solo utilizado no experimento é classificado como Latossolo Amarelo Distrocoeso típico com as seguintes características: pH= 4,6; C= 10,4 g/kg; N=1,1 g/kg; C:N= 9,54; NTD= 0,05 g/kg; COD= 0,49 g/kg; M.O = 20,10 g dm^{-3} ; P= 4,45 mg dm^{-3} , Al^{3+} = 0,10 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; H+Al= 3,18 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Ca= 0,80 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Mg=1,20 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Soma de bases(SB) = 2,11 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Saturação por bases (V)= 39,89 %; Saturação por Al^{3+} (m)= 4,52 %; Capacidade de troca catiônica CTC= 5,29 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$. A coleta foi realizada na camada superficial (0-0,2 m) na localidade de Lagoa de Cima, Campos dos Goytacazes- RJ 21°44'24.6"S 41°32'07.8"W, em 3 pontos distintos da mesma propriedade.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes – RJ. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 5 tratamentos e 3 repetições. T1- controle (solo); T2- vermicomposto de esterco de curral + solo; T3- esterco de curral curtido + solo; T4 - torta de mamona + solo; T5- bokashi+ solo.

A aplicação dos tratamentos foi feita da seguinte forma: Uma vez quantificado o conteúdo de NTD em cada um dos fertilizantes; foi adicionado 1 g de N, na forma de NTD por kg de solo; cada fertilizante foi pesado separadamente e misturado em um balde; totalizando 602,41 g de VC por kg de solo / 730 g de esterco por kg de solo / 36,96 g de TM por kg de solo / 96,33 kg de BK por kg de solo; posteriormente foi adicionado 750 g da mistura fertilizante orgânico + solo, em cada um dos vasos, antes do plantio das mudas.

O experimento foi conduzido em vasos plásticos com volume de 1 litro (0,135 x 0,1 x 0,19 m). Foram instaladas nos vasos sondas adaptadas tipo “Suolo Acqua” para extrair a solução do solo (CARMO, 2014). As sondas foram adaptadas com uma mangueira conectada a uma seringa em uma ponta e um filtro de pulverizador na outra (malha 50/60, 1168545, JACTO). A mangueira possuía 4 mm x 5,5mm de diâmetro, o filtro foi colado a mangueira com cola (adesivo a base de

cianoacrilato), na outra ponta da mangueira a seringa foi presa a mangueira com linha, permitindo a retirada da seringa para coleta da solução de solo.

Na noite anterior a coleta, a base do vaso era fechada com algodão e plástico filme, impedindo a saída de água dos vasos. Os vasos então eram saturados e permaneciam assim até a coleta da solução. A solução era coletada no dia seguinte pela manhã. Para quantificar os valores de NTD e COD foi extraído de cada tratamento 25 ml de solução do solo.

As coletas foram realizadas aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após o plantio. As amostras foram filtradas através de um filtro de polycarbonato de poro 0,45 μm . As concentrações de NTD e COD na solução foram medidos usando um analisador de Carbono Orgânico Total Shimadzu (TOC)-L CSH / CSN equipado com um amostrador automático ASI-L (Shimadzu, Tóquio, Japão).

Ao final dos 35 dias os seguintes parâmetros biométricos foram analisados: altura das plantas (AP); massa das raízes secas (MSR); massa seca da parte aérea (MSPA) e razão raiz:parte aérea. As amostras de raízes e parte aérea de cada uma das plantas, após secas em estufas, foram moídas em moinho micro pulverizador para que o material vegetal ficasse em forma de pó. Posteriormente esse material foi levado para análise do teor de nitrogênio em analisador elementar CHN.

As diferenças nos conteúdos de NTD e COD entre os diferentes tempos de incubação 7, 14, 21, 28 e 35 dias, foram analisadas por modelo de regressão. Os demais resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) no programa GraphPad Prism 7 e as médias foram comparadas pelo t de Student, $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Nitrogênio Total Dissolvido no solo.

A variação da concentração de NTD nas amostras de solo que receberam o equivalente a 1 g de NTD, proveniente de diferentes fertilizantes orgânicos em função do tempo de incubação, é mostrada na Figura 1. O VC, EC e BK apresentaram uma concentração de NTD, significativamente ajustada em um modelo de regressão linear negativa, sendo que o BK obteve maior inclinação inicial, e o VC e EC com a mesma inclinação inicial. A concentração do NTD na TM foi ajustada significativamente ao modelo exponencial crescente, com inclinação maior no período inicial e menor no período final.

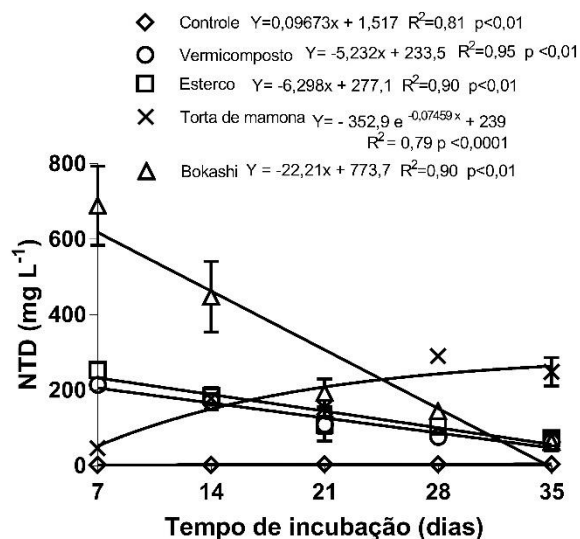


Figura 1 – Concentrações de Nitrogênio Total Dissolvido (NTD) da solução de solo que recebeu 1 g de N proveniente dos seguintes fertilizantes: controle (◇) vermicomposto (○), esterco (□), torta de mamona (x) e bokashi (△) em função do tempo de incubação (dias).

Nos tratamentos com VC e o EC foram encontradas concentrações de NTD de 241 mg L⁻¹, 254 mg L⁻¹ aos 7 dias de incubação, respectivamente. O BK liberou quase três vezes mais NTD nesse período inicial (689 mg L⁻¹). No final do curto período avaliado todos os três fertilizantes que acompanharam o modelo linear de concentração de NTD, apresentaram valores muito próximos, ou seja, 63 mg L⁻¹ no VC e EC e 73 mg L⁻¹ para o BK (Figura 1). Esses valores elevados já na primeira medição, aos sete dias evidenciam um rápido aumento na concentração de NTD no solo.

O tratamento controle não apresentou alterações na concentração de NTD durante o experimento nas condições avaliadas. Os valores para o NTD variaram de 2,00 mg L⁻¹ aos 7 dias à 4,57 mg L⁻¹ aos 35 dias.

Carbono orgânico dissolvido (COD) no solo.

Os teores de COD em função da adição de 1 g de NTD proveniente dos diferentes fertilizantes durante o tempo de incubação é mostrada na Figura 2. A maioria dos modelos propostos para a concentração do COD no solo em função dos fertilizantes aplicados, apresentaram valores iniciais maiores com decréscimo ao final do período de incubação.

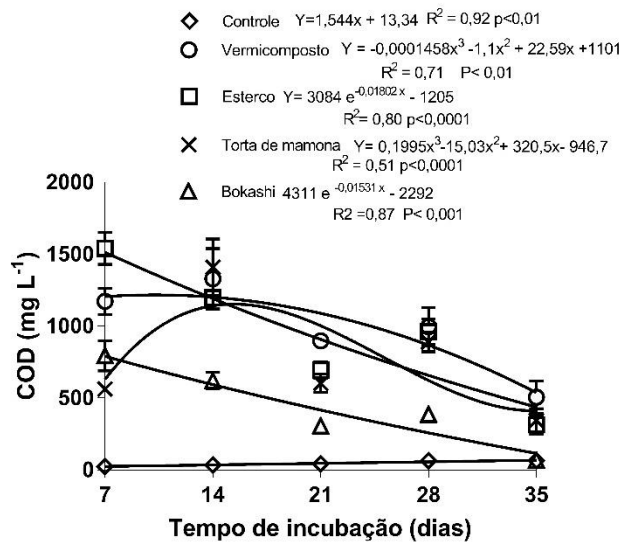


Figura 2- Concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) da solução de solo que recebeu 1 g de N proveniente dos seguintes fertilizantes: controle (◇) vermicomposto (○), esterco (□), torta de mamona (x) e bokashi (△) em função do tempo de incubação (35 dias).

A concentração de COD no início do período de incubação aos 7 dias foi diferente para os fertilizantes orgânicos avaliados. O valor de $1587,7 \text{ mg L}^{-1}$ para o tratamento com BK foi semelhante ao encontrado para o EC $1541,33 \text{ mg L}^{-1}$. O tratamento com VC apresentou valor de $1173,33 \text{ mg L}^{-1}$ aos 7 dias de incubação e o tratamento com TM $562,06 \text{ mg L}^{-1}$.

Foi observado que os tratamentos VC e TM apresentaram um aumento na concentração de COD ao longo do tempo ajustado em um modelo de regressão polinomial de terceira ordem. Aos 7 dias, os valores de COD foram de 1173 e 562 mg L^{-1} para VC e TM respectivamente. Ao final do período de incubação ambos os tratamentos apresentaram valores menores, sendo 505 mg L^{-1} para VC e 135 mg L^{-1} para TM.

Os tratamentos com EC e BK tiveram uma dinâmica de liberação de COD, com comportamento ajustado para uma função exponencial decrescente. Na fase inicial de incubação aos 7 dias, os tratamentos apresentaram médias de 1541 mg L^{-1} e 1587 mg L^{-1} para EC e BK, respectivamente. Ao final do período de incubação aos 35 dias, os resultados obtidos foram de $314,23 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento com EC e $135,53 \text{ mg L}^{-1}$ para BK.

O controle apresentou uma concentração de COD com crescimento linear ao longo do experimento. Inicialmente aos 7 dias, o controle apresentou média de 24,94 mg L⁻¹. Ao final do período de incubação aos 35 dias, o resultado obtido foi de 63,7 mg L⁻¹ no controle.

Teores de N (%) e Conteúdo de N total nas plantas.

Os teores de N (%) na parte aérea e raízes das plantas ao final do período de incubação com NTD aos 35 dias são mostrados na Figura 3. Foi observada diferença significativa pelo teste t a 5% de probabilidade para os valores de N (%) na parte aérea das plantas.

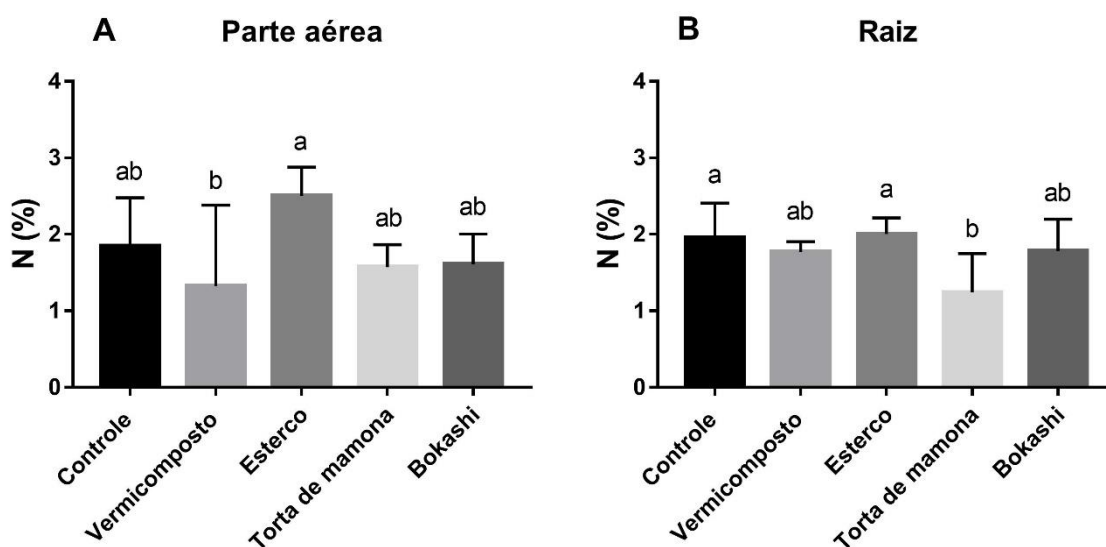


Figura 3 – Teores de N (%) para a parte aérea (A e B) e raízes das plantas com 35 dias após a aplicação dos tratamentos. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste t ($p < 0,05$).

Os resultados dos teores de N (%) da parte aérea das plântulas de maracujá são mostrados na Figura (3 A). Em relação ao teor de N (%), foi observado que as plântulas que receberam a adição de EC, obtiveram médias maiores que o tratamento com VC. Não foi observado diferença significativa entre os demais tratamentos. Em relação ao teor de N (%) nas raízes das plantas de maracujá Figura (3 B) crescidas nos vasos adubados com TM foi menor significativamente em relação ao controle e EC.

Os resultados referentes ao conteúdo de N total das plantas é mostrado na Figura 4. Foi observado que no conteúdo total de N, a maioria dos tratamentos não obtiveram diferença significativa em relação ao controle, com exceção do tratamento com EST.

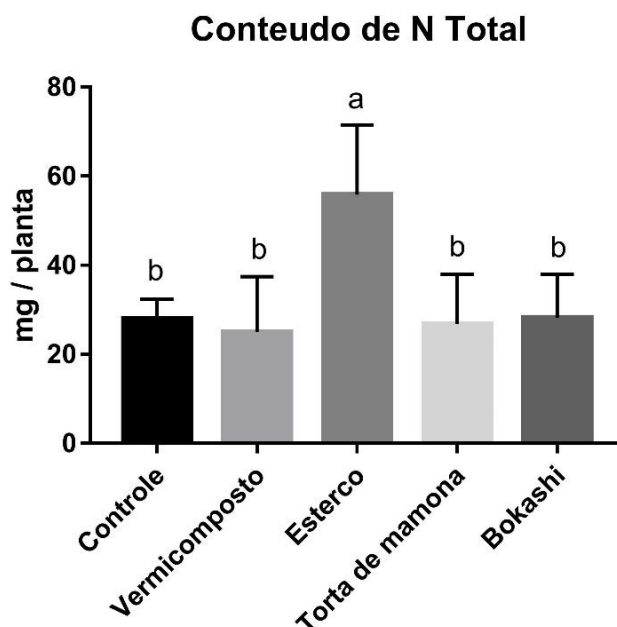


Figura 4 – Conteúdo total de N para as plantas de maracujá com 35 dias após a aplicação dos tratamentos. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste t ($p < 0,05$).

Ao avaliarmos o conteúdo de N total nas plantas, observamos que as plantas com o tratamento EC apresentaram maior conteúdo total de N do que o controle e outros tratamentos. Não foi observado diferença significativa entre os conteúdos de N entre o controle e os outros tratamentos.

Resultados biométricos

Os resultados obtidos para a altura das plantas (AP), Razão Raiz:P.A, massa seca de raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) são mostrados na (Figura 5). Foi observado diferença significativa da aplicação dos tratamentos para os valores de AP e MSR. Não foi observado diferença significativa da aplicação dos tratamentos para Razão Raiz:P.A e MSPA.

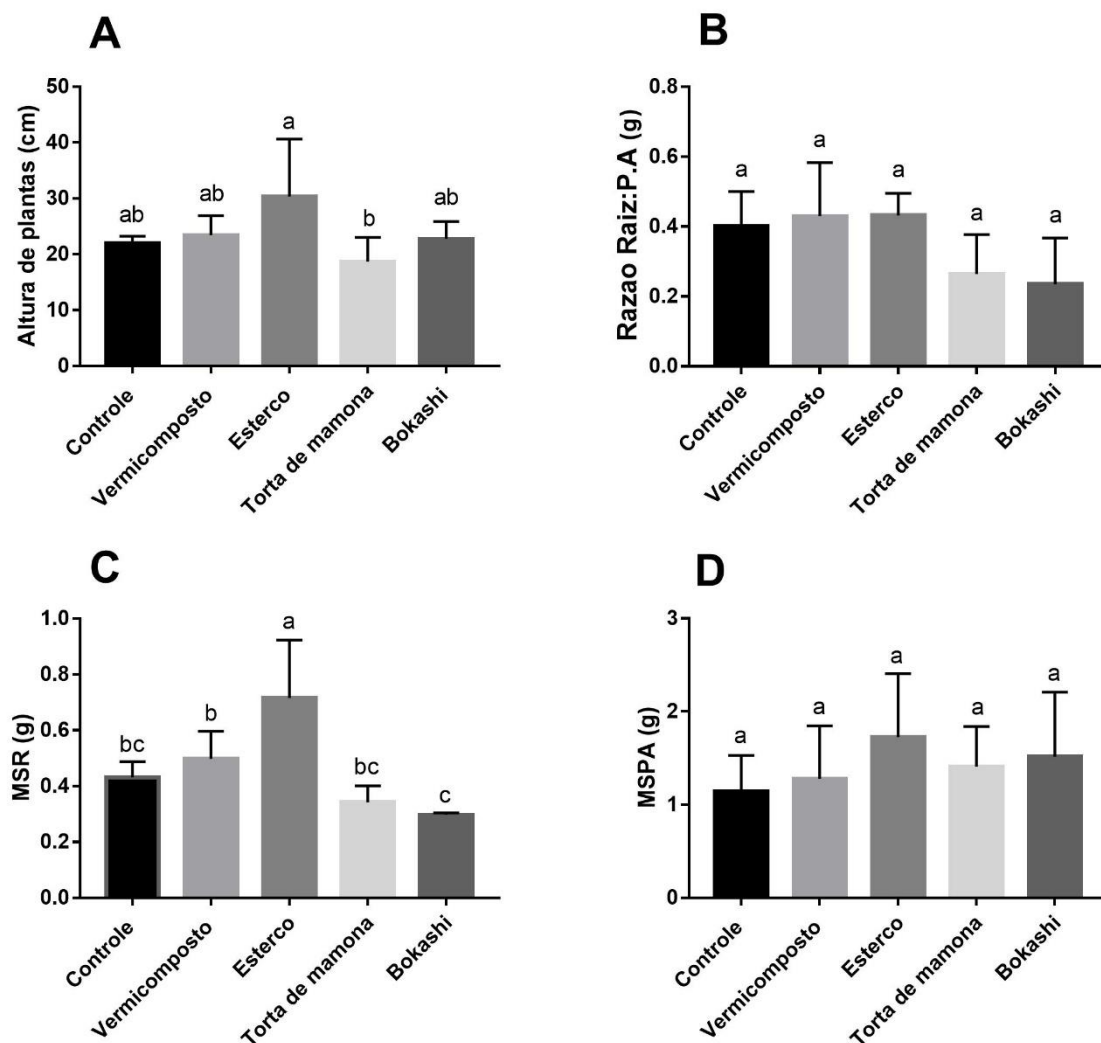


Figura 5 - Dados biométricos de AP, Razão Raiz: P.A, MSR e MSPA de plantas de maracujá após 35 dias da aplicação de fertilizantes orgânicos. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste t ($p < 0,05$)

O tratamento com EC promoveu um aumento na AP, com diferença significativa em comparação ao tratamento com TM, contudo, não diferiu significativamente do controle (Figura 5 A). Não foi observada diferença significativa entre os outros tratamentos e o controle.

Não foram observadas diferenças significativas na MSPA (Figura 5 D). O tratamento EC apresentou diferença significativa, para a MSR (Figura 5 C), em relação ao controle e aos demais fertilizantes (Figura 5 B). Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa em relação ao controle.

Conforme foi observado na Figura 5 não houve diferença significativa da aplicação dos tratamentos em relação ao controle para a AP e MSPA. A aplicação de N na forma de 1g de NTD para as plantas na forma de fertilizantes orgânicos

não interferiu significativamente no conteúdo de N assimilado pelas plantas, aos 35 dias da aplicação dos tratamentos.

DISCUSSÃO

As concentrações de NTD da maioria dos fertilizantes utilizados apresentaram modelos parecidos, com exceção do tratamento com a TM. A maioria dos fertilizantes utilizados no experimento apresentaram uma elevada concentração inicial de NTD na solução e solo, seguido de um decréscimo ao longo do experimento, observações estas já havia sido feita por outros autores (Kim et al., 2014 e Lockaby et al., 1996).

Um dos fatores que pode ter influenciado nessa alta liberação inicial tanto para o NTD, quanto para o COD, pode ser sido o método de extração da solução de solo. Uma vez que o solo era saturado, o material colido e após a extração da solução, era permitido o escoamento desta solução, parte do material era perdido por lixiviação e isso pode ter influenciado diretamente no decréscimo das concentrações NTD e COD ao longo do período analisado.

Contudo, merece ser destacado que a concentração de NTD ao longo do experimento foram diferentes nos compostos analisados, essa diferença pode ser atribuída a diferença de composição entre os materiais. Em avaliando a decomposição de serrapilheira, Zhou et al., (2015) observaram que a decomposição do material influenciou diretamente a dinâmica de liberação do NTD.

A TM, apresentou modelo de dinâmica de curto prazo diferente dos demais compostos analisados, isso pode ser relacionado com a característica desse material. Em trabalho realizado por Carnier, (2017) analisando a taxa de

mineralização e compartimentos de nitrogênio em resíduos orgânicos, o autor observou que a TM apresenta um grande conteúdo de N orgânico, o que confere característica recalcitrante a esse material. Conforme foi observado no experimento, essa característica pode ter influenciado diretamente a dinâmica de liberação do NTD deste material, em comparação com outros tratamentos.

Deste modo, conhecer as características de liberação do NTD de diferentes fertilizantes podem contribuir com uma melhor adequação da adubação com resíduos orgânicos. Isto permitiria disponibilizar quantidades mais adequadas de N de acordo com estágio fenológico das plantas, adequando as etapas de maior necessidade da cultura com a disponibilidade de mão-de-obra.

Em relação aos parâmetros biométricos analisados, não foram observadas diferenças entre as características biométricas nos parâmetros avaliados, com exceção da MSR. Este fato pode estar relacionado ao estado fenológico da cultura analisado no experimento. Alguns autores trabalhando com maracujá relataram a baixa necessidade da planta na absorção de macronutrientes na etapa de crescimento inicial, até 270 dias (Mattar et al., 2018; Haag et al., 1973).

Desta forma, uma maior compreensão sobre o manejo do NTD ao longo do ciclo anual ainda carece de mais resultados. Assim como a utilização de diferentes fontes de adubo orgânico combinados, disponibilizando as quantidades mais adequadas de NTD para as plantas em cada uma das suas etapas de plantio. Uma vez que a disponibilidade de N possui efeito direto em fitohormônios ligados ao crescimento vegetal (Strieder et al., 2012. Rajagopal & Rao, 1974, Mu et al., (2018), sendo crucial o manejo adequado de N em todo o ciclo produtivo da cultura.

CONCLUSÃO

No experimento foi observado que diferentes compostos orgânicos apresentam uma dinâmica de liberação de NTD a curto prazo distintas. No experimento realizado, não foi observado efeito significativo entre a dinâmica de liberação de NTD e a maioria dos parâmetros biométricos analisados, este fato pode estar relacionado diretamente com a necessidade de N no maracujazeiro no estado fenológico analisado. Deste modo, maiores estudos sobre a dinâmica de liberação do NTD de diferentes fertilizantes orgânicos, durante todo o ciclo produtivo da cultura, carecem de estudos e podem contribuir com uma maior eficiência na adubação nitrogenada com resíduos orgânicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Borges, A. L. Recomendações de calagem e adubação para abacaxi, acerola, banana, citros, mamão, mandioca, manga e maracujá. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/226951/1/livro-RecomendacaoCalagemAdubacao-AnaLuciaBorges-AINFO.pdf>. Acesso em 05 de dezembro de 2021.

Borges, A. L.; Rosa, R. C. C. Sistema de Produção Embrapa: Sistema Orgânico de Produção do Maracujazeiro para a Região da Chapada Diamantina. **Embrapa Mandioca e Fruticultura – Sistemas de produção EMBRAPA**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaold=9601&p_r_p_-996514994_topicold=11101. Acesso em 11 de novembro de 2021.

Carnier, Ruan. **TAXA DE MINERALIZAÇÃO E COMPARTIMENTOS DE NITROGÊNIO EM RESÍDUOS ORGÂNICOS**. 2017. Dissertação de Mestrado

(Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas 2017.

Carmo, Davi Lopes Do. **Condutividade elétrica e sua relação com a fertilidade de solos tratados com corretivos e resíduos orgânicos**. 2014. **Tese (Doutorado em Ciência do Solo)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

Comissão De Fertilidade Do Solo Do Estado De Minas Gerais (CFSEMG). **Adubação orgânica. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999. p. 87-92. Disponível em: [https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=207866&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22ALVAREZ%20V.%20V.%20H.%20\(Ed.\).%22&qFacets=autoria:%22ALVAREZ%20V.%20V.%20H.%20\(Ed.\).%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1](https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=207866&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22ALVAREZ%20V.%20V.%20H.%20(Ed.).%22&qFacets=autoria:%22ALVAREZ%20V.%20V.%20H.%20(Ed.).%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1). Acesso em 14 de novembro de 2021.

Haag, H. P.; De Oliveira, G. D.; Borducchi, A. S.; Sarruge, J. R. Absorção de nutrientes por duas variedades de maracujá. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 30, p. 267-279, 1973.

Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística. IBGE. Produção Agrícola Municipal 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>. Acesso em 10 de janeiro de 2022.

Sousa Junior, J. G.; Cherubin, M. R.; Oliveira, B. G.; Cerri, C. E.; Cerri, C. C.; Feigl, B. J. Three-year soil carbon and nitrogen responses to sugarcane straw management. **BioEnergy Research**, v. 11, n. 2, p. 249-261, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12155-017-9892-x>. Acesso 03 de dezembro de 2021.

Kim, Y., Ullah, S., Moore, T. R., & Roulet, N. T. Dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen production by boreal soils and litter: the role of flooding,

oxygen concentration, and temperature. **Biogeochemistry**, v. 118, n. 1, p. 35-48, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10533-013-9903-8> .Acesso em 01 de janeiro de 2022.

Kobe, R. K.; Iyer, M.; Walters, M. B. Optimal partitioning theory revisited: nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen. **Ecology**, v. 91, n. 1, p. 166-179, 2010.

Shipley, B.; Meziane, D. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. **Functional Ecology**, v. 16, n. 3, p. 326-331, 2002.

Lockaby B.G.; Murphy A.L.; Somers G.L. (1996) Hydroperiod influences on nutrient dynamics in decomposing litter of a floodplain forest. **Soil Sci Soc Am J** 60:1267–1272

MANICA, Ivo. **Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**.1ª ed. Urubici – SC: Cinco Continentes, 2005. 198p.

Mattar, G. S.; Purquerio, L. F. V.; Meletti, L. M. M.; Valentini, S. R. D. T.; Paula, L. F. D.; Duart, A. M. Nitrogen fertilization and spacing in productivity and quality of passion fruit implanted with advanced seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 43, 2021.

Mattar, G. S.; Moraes, C. C. D.; Meletti, L. M. M.; Purquerio, L. F. V. Acúmulo e exportação de nutrientes pelo maracujazeiro-amarelo cv. IAC 275. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 3, 2018.

Miyake, R.T.M.; Furlaneto, F. P.; Narita, N.; Takata, W. H. S.; Creste, J. E. Economic analysis of the production of yellow passion fruit in an area with virose incidence and fertilized with NPK. *Journal of Agricultural Science, Ontario*, v.10, n.5, p.303-311, 2018.

- Rajagopal, V.; Rao, I. M. Changes in the endogenous level of auxins and gibberellin-like substances in the shoot apices of nitrogen-deficient tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Australian Journal of Botany**, v. 22, n. 3, p. 429-435, 1974.
- Ripardo, A.K.S. Doses de NPK no desenvolvimento, produtividade e qualidade de frutos do maracujazeiro “Roxinho do Kênia”. 2010. **Dissertação** (Mestrado em Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- STRIEDER, M.; PIRES, J.; da CUNHA, G. R.; VARGAS, L.; de CASTRO, R. L.; REMOR, C. Aplicação de redutor de crescimento no perfilhamento de cultivares de trigo, em dois níveis de nitrogênio. In: **Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 6., 2012, Londrina. [Anais...]. Londrina: IAPAR, 2012., 2012.
- Trani, P. E.; Terra, M. M.; Tecchio, M. A.; Teixeira, L. A. J.; Hanasiro, J. Adubação orgânica de hortaliças e frutíferas. **Campinas: IAC**, 2013.
- Wickland K.P.; Neff J.C.; Aiken G.R. Dissolved organic carbon in Alaskan boreal forest: sources, chemical characteristics, and biodegradability. **Ecosystems** 10:1023–1340.
- Yan, J.; Li, K.; Wang, W.; Zhang, D.; Zhou, G. Changes in dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen fluxes across subtropical forest ecosystems at different successional stages. **Water Resources Research**, v. 51, n. 5, p. 3681-3694, 2015.
- Zhou, W. J.; Sha, L. Q.; Schaefer, D. A.; Zhang, Y. P.; Song, Q. H.; Tan, Z. H.; Deng Y.; Deng X. B.; Guan, H. L. Direct effects of litter decomposition on soil

dissolved organic carbon and nitrogen in a tropical rainforest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 81, p. 255-258, 2015.

**ÁCIDOS HÚMICOS INDUZEM A EXPRESSÃO DOS TRANSPORTADORES DE
NITRATO EM MUDAS DE MARACUJAZEIRO**

RESUMO

O manejo da adubação orgânica no maracujazeiro tem sido realizado de forma empírica baseado nas respostas das lavouras e na experiência do produtor. O conhecimento das respostas fisiológicas da planta a adubação orgânica é fundamental para otimizar os programas de fertilização. O objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão diferencial dos transportadores de nitrato bem como da H⁺-ATPase de membrana plasmática em mudas de maracujazeiro adubadas com diferentes fertilizantes orgânicos na presença ou não de ácidos húmicos. Foram adicionados o equivalente a um grama de nitrogênio total dissolvido em água proveniente de esterco de curral, torta de mamona e ureia e as mudas foram tratadas ou não com uma suspensão de ácidos húmicos (2 mmol/L). A expressão diferencial dos transportadores de nitrato de baixa e alta afinidade (PeNRT2.2) e da H⁺-ATPase foi realizada por qRT-PCR. O uso de esterco de curral aumentou a expressão diferencial do transportador de alta afinidade em relação ao controle. A aplicação de ácidos húmicos ampliou o aumento observado na transcrição diferencial do transportador de alta afinidade com a adubação com esterco e também com ureia não sendo observado qualquer efeito com o uso da torta de mamona. Os ácidos húmicos induziram a transcrição do gene que codifica a H⁺-ATPases em todos os tratamentos em relação ao controle. A aplicação de ácidos húmicos em baixas concentrações diretamente sobre a planta podem ser utilizado

com o objetivo de otimizar a adubação orgânica do maracujazeiro quando realizada com esterco de curral e também com ureia.

Palavras Chaves: NTD, Fertilização orgânica, Genes NRT, ATPase.

ABSTRACT

The management of organic fertilization in passion fruit has been carried out empirically based on the responses of the crops and the experience of the farmers. Knowledge of the physiological responses of plants to organic fertilization is essential to optimize fertilization programs. The objective of this work was to evaluate the differential expression of nitrate transporters as well as plasma membrane H⁺-ATPase in passion fruit seedlings fertilized with different organic fertilizers in the presence or not of humic acids. The equivalent of one gram of total nitrogen dissolved in water from cattle manure, castor oil cake and urea were added and the seedlings were treated or not with a suspension of humic acids (2 mmol/L). Differential expression of low and high affinity nitrate transporters (PeNRT2.2 and PeNRT1.1 PeNRT2.2e) and H⁺-ATPase (PeMha) was performed by qRT-PCR. The use of cattle manure increased the differential expression of the high affinity transporter in relation to the control. The application of humic acids amplified the increase observed in the differential transcription of the high-affinity transporter with manure and urea fertilization, with no effect observed with the use of castor oil cake. Humic acids induced transcription of the gene encoding H⁺-ATPases in all treatments compared to control. The application of biofertilizer based on humic acids in low concentrations directly on the plant can be used with the objective of optimizing the organic fertilization of the passion fruit when carried out with cattle manure and also with urea.

Key-words: organic fertilizers, physiological responses, NRT genes, H⁺-ATPase

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de maracujá no mundo. A produção brasileira em 2019 atingiu 593.429 toneladas com produtividade média de 14 t/ha (IBGE, 2019). O mercado de frutas orgânicas está em expansão e, portanto, pode vir a ser uma alternativa atraente para o produtor de maracujá. O período de adaptação a mudança no sistema de condução da lavoura convencional para o orgânico é conhecido como período de transição no qual a nutrição mineral com fontes solúveis e industrializadas é substituída pela ciclagem de diferentes fontes de matéria orgânica. Esse período de adaptação é crítico para os nutrientes exigidos em grande quantidade.

O nitrogênio (N) é o nutriente mais exigido pelo maracujazeiro (Mattar et al., 2018). A adubação orgânica para o maracujazeiro segue os mesmos critérios da adubação convencional, na qual a necessidade de N a ser aplicada é baseada na quantidade extraída e na produtividade esperada (Borges, 2021). No entanto, a eficiência da adubação nitrogenada de fontes orgânicas é influenciada por vários fatores incluindo a pronta disponibilidade de N, as condições que afetam a mineralização e a eficiência de absorção do N mineralizado.

O nitrato (NO_3^-) é a principal fonte de N para a maioria das plantas (Fernandes, 2006), incluindo o maracujazeiro. A absorção de NO_3^- ocorre por processo ativo, contra um potencial eletroquímico, por meio de um sistema simporte

do tipo 2:1, com transporte simultâneo de 2 H⁺ e 1 NO₃⁻ (Fernandes e Rossiello, 1995) realizado por transportadores transmembranares. Os transportadores de NO₃⁻ são classificados em dois tipos sendo os de alta afinidade (TNAA) que operam sob baixas concentrações (de 0,2 mM a 1 mM de NO₃⁻) e transportadores de baixa afinidade (TNBA) que operam em concentrações acima de 1 mM de NO₃⁻. Os TNAA e os TNBA são codificados, respectivamente, pelas famílias gênicas NRT2 e NRT1 (Aslam et al., 1993). Além da concentração de NO₃⁻ na solução outros fatores podem influenciar a atividade dos transportadores incluindo a presença da matéria orgânica humificada (Quaggiotti et al., 2004; Tavares et al., 2017). As substâncias húmicas (SH) foram definidas como uma reunião ou mistura heterogênea de moléculas relativamente pequenas mantidas num arranjo supramolecular dinâmico por interações fracas (não covalentes) de natureza predominantemente hidrofóbica e por ligações hidrogênio (Piccolo, 2001). As SH são quimicamente muito reativas e, quando usadas diretamente sobre a planta em baixas concentrações, regulam muitos processos fisiológicos incluindo a absorção de nutrientes (Canellas et al., 2002; Canellas E Olivares, 2014).

Efeitos das SH sobre a absorção e assimilação de NO₃⁻ em diferentes tipos de plantas já foram relatados na literatura científica. A influência de ácidos húmicos (AH) na absorção de NO₃⁻ em plântulas de aveia foi estudada por Dell'agnola e Nardi, (1987), Nardi et al., (1991); Piccolo et al., (1992). A atividade de enzimas relacionadas a assimilação de NO₃⁻ também foi monitorada em diferentes plantas tratadas com SH tais como cevada, pepino, colza, alface e milho (Albuzio et al., 1986; Mora et al., 2010; Jannin et al., 2012; Haghghi, 2012; Vaccaro et al., 2015). A indução da expressão diferencial de transportadores de alta e baixa afinidade em milho (Quaggiotti et al., 2004; Zanin et al., 2018; Azevedo et al., 2019) e arroz (Tavares et al., 2017) pelas SH já foi descrito estudados. Entretanto, em plantas de ciclo mais longo os estudos são mais escassos. Um possível efeito das SH na transcrição de genes envolvidos no mecanismo de absorção como as H⁺-ATPases e os transportadores de nitrato em maracujá podem contribuir para otimização da adubação orgânica e auxiliar no processo de transição. o objetivo desse trabalho foi, portanto, o de avaliar a expressão diferencial dos genes PeNRT2.2 e PeNRT1.1 e PeMHA em plantas de maracujá, cultivados em casa de vegetação utilizando a camada superficial de um Latossolo Amarelo Distrocoeso Típico submetido à

adubação nitrogenada com diferentes fertilizantes orgânicos na presença ou não de ácidos húmicos isolados de vermicomposto.

MATERIAL E METODOS

As mudas utilizadas foram obtidas a partir de sementes de maracujá-roxo do híbrido H09-110/111 desenvolvido pela EMBRAPA. As mudas foram produzidas em tubetes de 290 cm³, com substrato comercial Basaplant por 120 dias. Antes do transplante das mudas para os vasos, as raízes foram lavadas em água corrente para a remoção do substrato comercial.

No experimento foram utilizados fertilizantes orgânicos disponíveis aos agricultores: esterco de curral curtido (EC) e torta de mamona (TM) com as seguintes características: EC: pH=7,24; C= 10,6 (%); N= 1,09 (%); C:N= 10,85; NTD= 1,37 g/kg; COD= 3,13 g/kg. TM: pH=7,84; C= 48,09 (%); N= 4,47 (%); C:N= 12,56; NTD= 27,07 g/kg; COD= 57,19 g/kg.

O nitrogênio total dissolvido (NTD) foi quantificado após extração em água (1:20; v:v) seguido da filtração (0,45 µm) (Chantigny et al., 2014) utilizando o analisador de Carbono Orgânico Total Shimadzu (TOC)-L CSH / CSN equipado com um amostrador automático ASI-L (Shimadzu, Tóquio, Japão).

O solo utilizado no experimento é classificado de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (Santos et al., 2018) como Latossolo Amarelo Distrocoeso típico com as seguintes características: pH= 4,6; C= 10,4 g/kg; N=1,1 g/kg; C:N= 9,54; NTD= 0,05 g/kg; COD= 0,49 g/kg; M.O = 20,10 g dm⁻³; P= 4,45 mg dm⁻³; Al⁺³= 0,10 cmolc dm⁻³; H+Al= 3,18 cmolc dm⁻³; Ca= 0,80 cmolc dm⁻³;

Mg=1,20 cmolc dm⁻³; Soma de bases(SB) = 2,11 cmolc dm⁻³; Saturação por bases (V)= 39,89 (%); Saturação por Al³⁺ (m)= 4,52 %; Capacidade de troca catiônica CTC= 5,29 cmolc dm⁻³. A coleta foi realizada na camada superficial (0-0,2 m) na localidade de Lagoa de Cima, Campos dos Goytacazes- RJ 21°44'24.6"S 41°32'07.8"W, em 3 pontos distintos da mesma propriedade.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com a combinação de 3 fertilizantes (ureia, esterco de curral e torta de mamona), com e sem a aplicação de AH (2 mmol de C/L) (Canellas et al., 2002). Os tratamentos foram: T1- Controle; T2- Ureia sem AH; T3-Ureia com AH; T4- Torta de mamona sem AH; T5- Torta de mamona com AH; T6- Esterco sem AH; T7- Esterco com AH.

Uma vez quantificado o conteúdo de NTD em cada um dos fertilizantes, foi adicionado 1g de NTD, de cada fertilizante, por kg de solo. As características dos fertilizantes são descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Características dos fertilizantes orgânicos utilizados no experimento.

| Fertilizantes | pH | C (g/kg) | N (g/kg) | C:N | NTD (g/kg) | COD (g/kg) |
|------------------------|-----------|---------------------|---------------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| Esterco curral | 7,24 | 106 | 10,9 | 9,72 | 1,37 | 3,13 |
| Torta de mamona | 7,84 | 480,9 | 44,7 | 10,75 | 27,07 | 57,19 |

Os AH foram isolados do vermicomposto produzido com esterco bovino com NaOH 0,1 mol L⁻¹ por 4 h seguido de centrifugação (3000 ×g) (Canellas et al., 2002). O procedimento de extração foi repetido até que os extratos apresentassem absorvância próxima de zero em 465 nm. A separação dos AH do extrato alcalino foi obtido por acidificação até pH 1 com HCl 6 mol L⁻¹. A dissolução e a precipitação foi repetido três vezes. Após a centrifugação, a fração HA foi lavada com água até teste negativo com AgNO₃ e dialisado em membrana com poro menor que 1 kDa (Spectrapor, EUA) e liofilizado. A composição elementar do AH foi obtida em analisador CHN (Perkin-Elmer 1483; Perkin-Elmer, Norwalk, CT, EUA) e o teor de cinzas obtido após incineração da amostra em forno mufla a 750 °C por 8 hs. A caracterização da natureza química dos AH foi realizada por espectroscopia de

RMN de estado sólido (^{13}C -NMR) com rotação de ângulo mágico e polarização cruzada (CPMAS). O espectro ^{13}C CPMAS NMR foi adquirido num Espectrômetro Bruker AVANCE 300 NMR, equipado com uma sonda, MAS de 4 mm de largura, operando na ressonância de ^{13}C com frequência de 75,475 MHz. Os AH foram acondicionados em rotor de zircônia de 4 mm com Kel-Fcaps e girados a 13 kHz. Uma sequência de rampa 1H foi usada durante um tempo de contato de 1 ms para considerar possíveis heterogeneidade da condição de Hartmann-Hahn. Dois mil scans com 3782 pontos de dados foram coletados ao longo de um tempo de aquisição de 25 ms e um atraso de reciclagem de 2,0 segundos. O software Bruker Topspin 1.3 foi usado para coletar e elaborar os espectros. Toda a indução livre decaimento (FID) foi transformada aplicando um preenchimento zero de 4K e um alargamento de linha de 75 Hz. Os espectros foram integrados em os intervalos de ressonância de deslocamento químico (ppm): 187-162 (carbonilas de cetonas, quininas, aldeídos e carboxilas), 162-112 (carbonos aromáticos e olefínicos), 112-93 (carbonos anoméricos), 93-46 (sistemas C-O, como álcoois e éteres, grupos C-N e complexos alifáticos carbonos), e 46-0 ppm (carbono sp^3 , principalmente metileno e metil). A relação C hidrofóbico/C hidrofílica dos AH foi estimado por um cálculo adimensional índice estrutural derivado da distribuição C relativa de espectros de NMR: as áreas relativas combinadas de C-alquilico (46-0 ppm) e componentes aromáticos (162-112 ppm), como representativos de C hidrofóbicos (HB) foram comparados com as áreas em intervalos relacionados a grupos polares (187-162, 112-46) indicando a proporção de carbono hidrofílico (HI) e calculado o índice de hidrofobicidade. A aplicação de AH (2 mmol e C/L) nos tratamentos foi aos 7, 11 e 14 dias após o plantio. A aplicação foi feita com 100 mL de solução, durante o período da manhã, diretamente no substrato em torno das raízes. Nos tratamentos sem AH e no controle, foram aplicados 100 mL água. As plantas não foram irrigadas nos dias de aplicação dos tratamentos.

Aos 15 dias após o transplante das mudas, três plantas de sofreram três aplicações de 100 mL de cada tratamento foram coletadas para a análise da expressão dos genes NRT e MHA. Quando coletadas, as raízes das plantas foram lavadas em água corrente para remoção do substrato e posteriormente, com Tween 20, antes da extração do RNA para análise da expressão gênica por qRT-PCR

As sequências dos genes NRT 1.1; NRT 2.2; MHA. ERS e TUB β de diferentes espécies de plantas foram comparadas com as informações do genoma de *Passiflora edulis* L, por meio da ferramenta BLAST do banco de dados do NCBI para verificar quais sequências poderiam gerar alinhamento significativo com as sequências de pares de bases fornecidos. Após pesquisar a homologia entre a espécie estudada e os genes de interesse, estabeleceu-se as possíveis sequências de oligonucleotídeos passíveis de expressão com auxílio de três programas de designer de primer: Primer3Plus, NCBI Primer-Blast e OligoExplorer. Os dados gerados em cada software foram cruzados entre si para definição dos primers com as melhores características. Os pares de primers selecionados foram submetidos à verificação de possíveis dímeros e dobramentos utilizando-se o programa NetPrimer (<http://www.premierbiosoft.com/NetPrimer/AnalyzePrimerServlet>).

As sequências desenhadas foram produzidas por fornecedor especializado com formulação liofilizada. Os primers foram então diluídos em solução tampão TE, conforme instruções do fornecedor, então foram aplicados os testes de bancada antes de realizar a RT-qPCR. Os testes de bancada incluíram as seguintes etapas: diluição do primer para 100 μ M (solução estoque); diluição do primer para 10 μ M (solução de trabalho); checagem da temperatura de anelamento e amplificação (testados em PCR convencional e gel de agarose); teste de diluição de primer (testado em RT-qPCR). O desenho dos primer's são descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Desenho dos iniciadores dos genes utilizados no experimento.

| GENE | GenBank | FUNÇÃO | Sequência F (1ª linha) e R (2ª linha) (5' → 3') | TAMANHO PRODUTO | TEMP |
|-------------|----------------|---|---|-----------------|------|
| PeMHA (1) | MUZT01105592.1 | H+ ATPase de Membrana | TACCAGTTGCCGTCAGAATC GCTCGCTCAAACATCACAG | 95 | 61,1 |
| PeNRT2.2 | MUZT01123395.1 | Transportadores de Nitrato de Alta Afinidade | AAGACAGCGGCAATGATACC GTCTGATGACTTACGGTTCTCTG | 84 | 62,4 |
| PeNRT1.1 N2 | MUZT01131525.1 | Transportadores de Nitrato de Baixa Afinidade | CCCTCAGTTTTTCTTTGTCTG CTGTGCTCATAGTCTTCATTCC | 104 | 59,7 |
| PeTubB | AC278210.1 | Controle endógeno | TCTTCCCACTAGCACAACCTC ATGACCAAGCAACCAGTAAG | 82 | 57,8 |
| PeERS | AAX84670 | Controle endógeno | TTATTTCTGACCAAGGGAGC CCATCTCCCTGTCAAGTTC | 95 | 58 |

A extração do RNA foi realizada na sala de Biologia Molecular do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual – LBCT da Universidade Estadual do Norte Fluminense. O RNA das raízes de plantas de maracujá foi isolado seguindo os procedimentos do protocolo de extração com TRIZOL® (Baía et al., 2020).

A síntese do cDNA foi realizada através do kit SuperScript™ III Reverse Transcriptase (Invitrogen). A reação para RT-qPCR foi realizada 7,5 µL de SYBR Green PCR Master Mix, 5 µL de H2O para PCR, 0,75 µL de primer reverse, 0,75 primer forward e 1 µL de cDNA 1,0 µL de cDNA molde na diluição de 1:8 em um volume final de reação de 15 µL, A RT-qPCR foi realizada no termociclador Step One Fast Real Time PCR (Applied Biosystems) com as seguintes condições: 2 minutos a 95°C, seguido de 40 ciclos de 20 segundos a 95°C e 30 segundos a 58°C. Três réplicas técnicas assim como três sínteses independentes de cDNA foram utilizadas em todos os ensaios da RT-qPCR.

A expressão diferencial dos genes de maracujá, foi avaliada pelo método 2- $\Delta\Delta C_q$ (Livak) para análise de expressão gênica relativa (Livak E Schmittgen, 2001).

Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos foi realizado uma coleta das plantas para a avaliação da altura das mudas, massa seca da parte aérea e das raízes, volume de raiz e razão raiz:parte aérea. A avaliação do crescimento das plantas foi submetida à análise de variância (ANOVA) no programa GraphPad Prism 7 e as médias foram comparadas pelo t de Student, $p \leq 0,05$. O programa R-Studio foi utilizado para contrastes ortogonais e teste F, cujos contrastes comparados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Descrição dos contrastes entre os tratamentos utilizados no experimento

| Contrastes | Descrição dos contrastes |
|-------------------|---|
| C1 | Controle vs Ureia, Ureia+AH, TM, TM+AH, EST, EST+AH |
| C2 | Ureia, TM, EST vs Ureia+AH, TM+AH, EST+AH |
| C3 | UREIA vs UREIA+AH |
| C4 | TM vs TM+AH |
| C5 | EST vs EST +AH |

RESULTADOS

Caracterização dos AH

A análise da composição elementar dos AH revelou a presença de 470 g kg⁻¹ de C, 55 g kg⁻¹ de N, 451 g kg⁻¹ de O e 5 g kg⁻¹ cinzas. O Espectro RMN de ¹³C é observado na Figura 1. Foram observados sinais de ressonância em deslocamentos químicos ($\delta^{13}\text{C}$) típicos de grupos alquílicos (0-45 ppm), associados à presença de cadeias alifáticas (grupos -CH₂-) pertencentes a vários compostos lipídicos, como ácidos graxos, ceras vegetais e biopoliésteres. Os sinais nítidos centrados em 56 ppm são típicos da presença de grupos metoxila em anéis aromáticos de unidades guaiacil e siringil em componentes de lignina, bem como as ligações C-N em aminoácidos. Os diferentes sinais com $\delta^{13}\text{C}$ entre 60-110 ppm são típicos de C-O-alquílico atribuídos a unidades monoméricas de cadeias de polissacarídeos como celulose e hemicelulose de tecido vegetal. Os sinais intensos em torno de 73 ppm são formados pelas ressonâncias sobrepostas de carbono 2, 3 e 5, na estrutura piranosídica. Os ombros em 82 ppm derivam do carbono 4 envolvido na ligação glicosídica com o carbono anomérico di-O-alquil mais desprotegido centrado em 105 ppm em unidades de glicose. Os sinais de ressonância ao longo do intervalo aril-C (116-140 ppm) envolvem o fenil não substituído e C-substituído unidades de diferentes componentes aromáticos, enquanto os sinais mostrados na região fenólica (140-160 ppm) são indicativos de

carbono contendo O 3, 4 e 5 em anel aromático de derivados de lignina, sendo os carbonos 3 e 5 acoplado ao substituinte metoxilo. Finalmente, o sinal agudo a 174 ppm inclui todos os grupos carbonila e carboxila presentes na amostra e principais responsáveis pela acidez trocável)

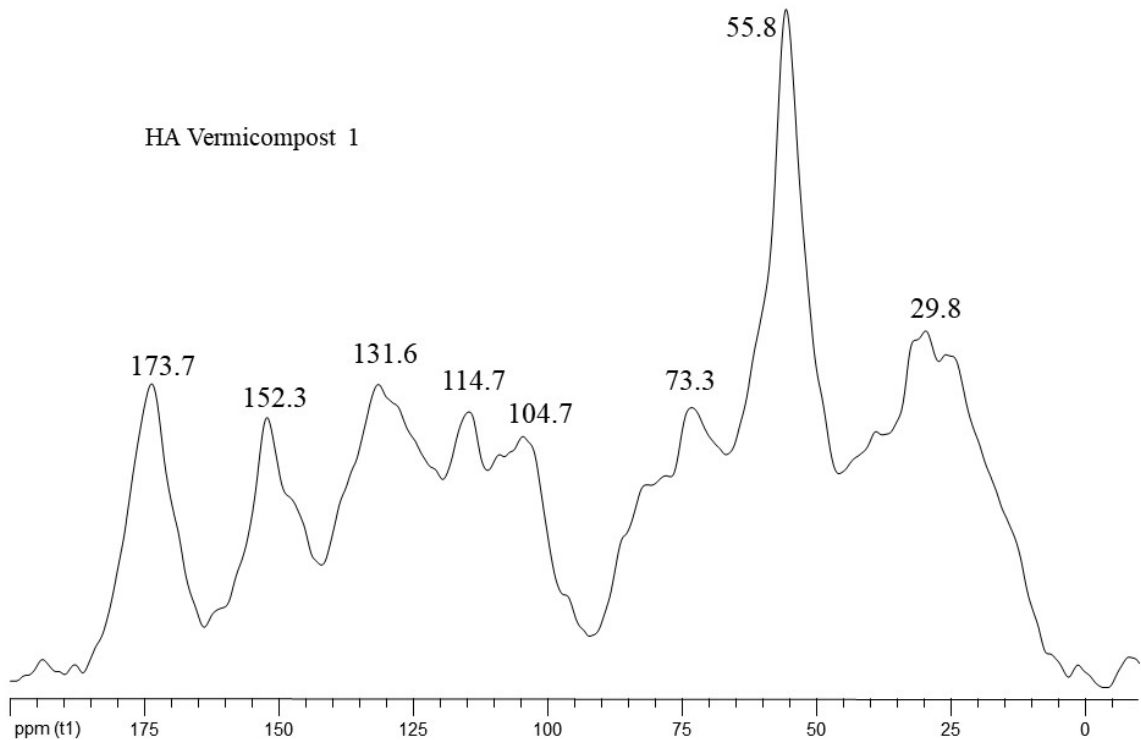


Figura 01. Espectro de ^{13}C CP-MAS RMN dos ácidos húmicos isolados de vermicomposto

Expressão diferencial dos genes.

Na Figura 2 são apresentados os resultados da expressão diferencial dos transportadores de NO_3^- de baixa (Fig 2 A) e alta (Fig 2 B) afinidade em mudas de maracujazeiro. Como esperado, em função da elevada concentração de N adicionado ao meio de cultivo (1 g NTD kg^{-1} de solo), foram observadas diferenças na expressão do transportador de baixa afinidade que foi reprimido com a adição dos fertilizantes (Fig 2 A). A aplicação de AH diminuiu a inibição da expressão do NRT1.1 na adubação com a ureia e com esterco de curral. Os AH não tiveram

qualquer tipo de efeito sobre a inibição da expressão do transportador de NO_3^- de baixa atividade com a adubação com torta de mamona. Os transportadores de alta afinidade (NRT2.2) foram induzidos pelo esterco de curral em relação ao controle e pela ureia e esterco de curral na presença de AH em comparação com o controle (Fig 2 B).

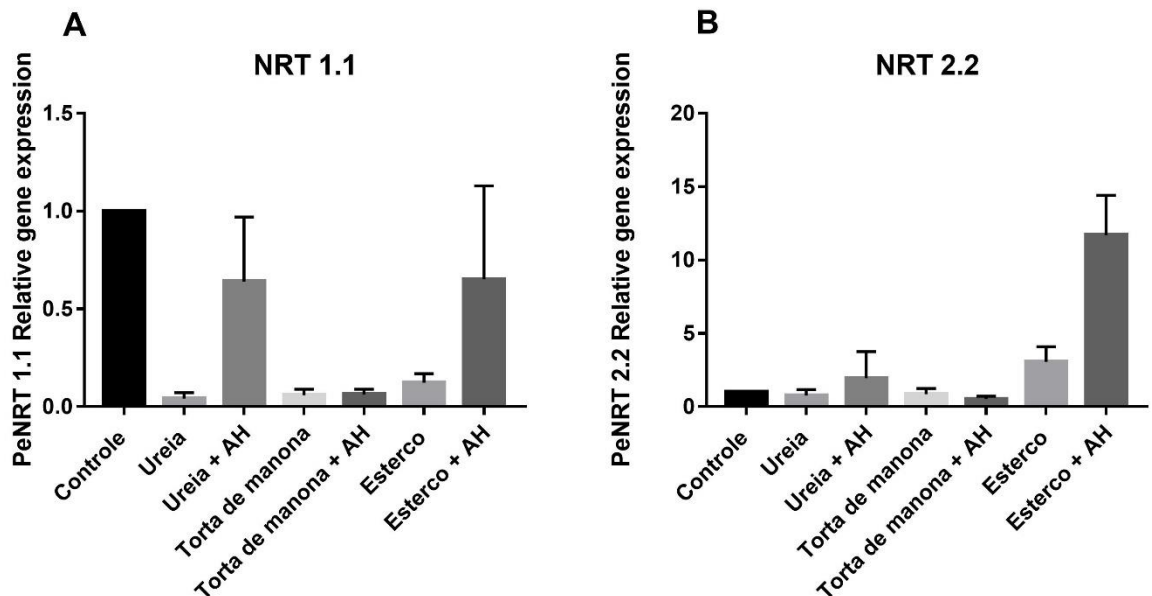


Figura 02: Expressão diferencial dos genes PeNRT 1.1 e PeNRT 2.2 em plantas de maracujá.

A Figura 3 apresenta o resultado da expressão diferencial do gene PeMHA que codifica diferentes isoformas das H^+ -ATPases de membrana plasmática. Foi observado que todos os fertilizantes promoveram a expressão da Mha em comparação com o controle. O estímulo foi maior na presença de AH (Figura 3).

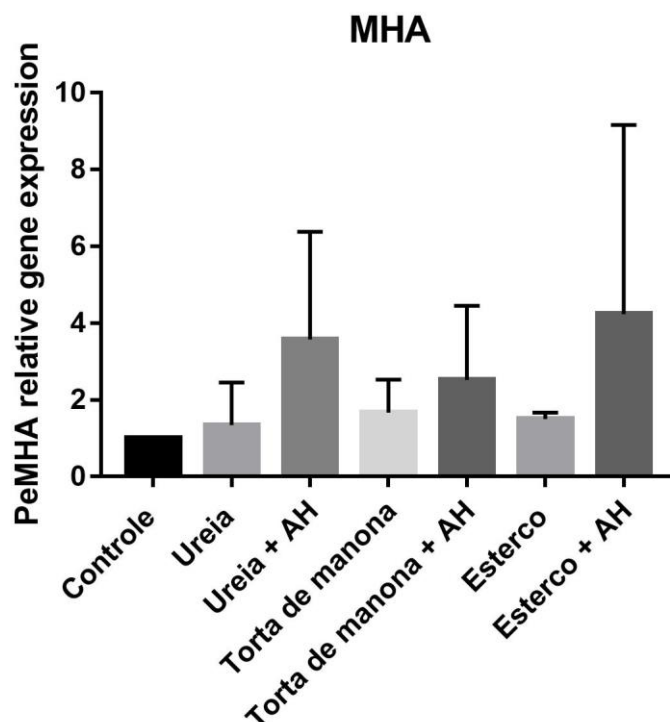


Figura 03: expressão relativa dos genes PeMHA em raízes de mudas de maracujazeiro.

Os tratamentos com aplicação de AH (U+AH, TM+AH e E+AH), influenciaram positivamente a expressão dos genes em comparação com os tratamentos sem AH, com aumento de 166%, 47% e 179%, respectivamente, em relação ao controle do que os tratamentos sem aplicação de AH.

Resultados Biométricos

A Figura 04 mostra os resultados biométricos para as plantas de maracujá aos 60 dias após o plantio. Foi observado diferença significativa entre os tratamentos avaliados em todas as variáveis (Figura 04: A, B, C, D).

A AP aos 60 dias (Figura 6A), mostrou diferença significativa da aplicação dos tratamentos. Todos os tratamentos com aplicação de fertilizantes, com e sem AH, promoveram aumento significativo na AP aos 60 dias em relação ao controle (Figura 6 A). As plantas com a aplicação de TM e TM+AH obtiveram médias significativamente maiores em comparação com os outros tratamentos, e o controle. A aplicação de AH promoveu aumento significativo do EST+AH, em comparação ao EST, com uma média 18% maior com a aplicação de AH. A

aplicação de AH não influenciou significativamente a AP com 60 dias, nos outros tratamentos.

A aplicação de AH influenciou significativamente a MSPA (Figura 4 B) das plantas de maracujá. Todos os tratamentos com aplicação de AH, independente do fertilizante aplicado, aumentaram a MSPA das plantas aos 60 dias.

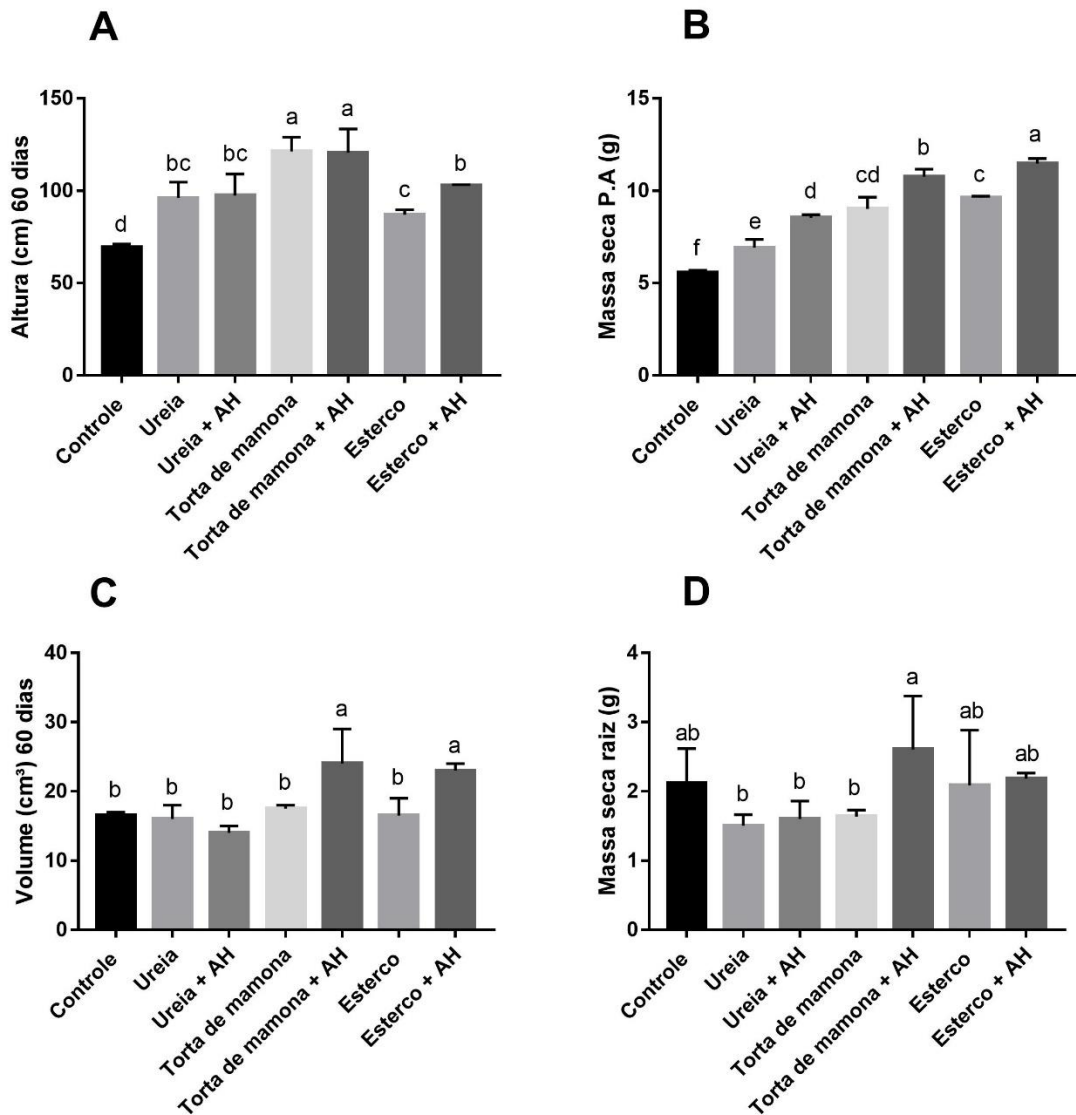


Figura 04: Altura (cm), massa seca da parte aérea (g), volume de raiz (cm³) e massa seca da raiz (g), de plantas de maracujá aos 60 dias após o plantio. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste t (p < 0,05).

A AP aos 60 dias (Figura 6A), mostrou diferença significativa da aplicação dos tratamentos na AP. Todos os tratamentos com aplicação de fertilizantes, com

e sem AH, promoveram aumento significativo na AP aos 60 dias em relação ao controle (Figura 6 A). As plantas com a aplicação de TM e TM+AH obtiveram médias significativamente maiores em comparação com os outros tratamentos, e o controle. A aplicação de AH promoveu aumento significativo do EST+AH, em comparação ao EST, com uma média 18% maior com a aplicação de AH. A aplicação de AH não influenciou significativamente a AP com 60 dias, nos outros tratamentos.

O VR apresentou diferença significativa entre os tratamentos em 60 dias (Figuras 4 C). Foram observadas maiores médias para as plantas dos tratamentos que receberam aplicação de AH (TM+AH e EST+AH), em relação aos tratamentos sem AH e o controle. Contudo, não foi observado diferença significativa para o tratamento com U+AH, nem diferença significativa da aplicação dos fertilizantes no VR.

Não foi observado efeito significativo da aplicação de AH para MSR aos 60 dias (Figura 7 D), nem o efeito significativo da aplicação dos fertilizantes, em comparação com o controle. As plantas tratadas com TM+AH apresentaram maiores médias para MSR aos 60 dias, em comparação, com as plantas tratadas com TM, Ureia, U+AH.

Conforme pode ser observado na Tabela 4, apenas em relação a MSPA pode ser observado efeito significativo nos contrastes ortogonais avaliados. Em relação a AP 60 dias, pode ser observado o efeito significativo da aplicação dos tratamentos em relação ao controle.

Tabela 4. Valor de F e contrastes significativos entre os tratamentos das variáveis: altura de plantas aos 60 dias (AP 60 dias), massa seca de parte aérea aos 60 dias (MSPA), massa seca de raiz aos 60 dias (MSR) e volume de raiz 60 dias (VR60 dias).

| Contrastes | A.P 60 dias (cm) | MSPA (g) | MSR (g) | VR 60 dias (cm³) |
|-------------------|-------------------------|-----------------|----------------|------------------------------------|
| C1 | 71,79* | 363,93 * | 0,55 ns | 1,58 ns |
| C2 | 2,47 ns | 86,54 * | 3,37 ns | 24,78 ns |
| C3 | 0,04 ns | 35,73 * | 0,10 ns | 1,91 ns |
| C4 | 0,02 ns | 25,55 * | 5,52 ns | 10,28 ns |
| C5 | 7,16 ns | 25,81 * | 0,27 ns | 13,02 ns |
| Total | 19,75* | 112,76 * | 1,61 ns | 10,32 ns |

ns = não significativo; ** significativo a 1%; * significativo a 5%

DISCUSSÃO

A meta-análise reunindo diferentes experimentos com estimulação de plantas pelas SH realizada por Rose et al., (2014) mostrou um aumento médio de 20% na produção de biomassa tanto de raízes como da parte aérea de diferentes tipos de plantas. Esse aumento é próximo do observado no para o maracujá nesse experimento (18%) A promoção do crescimento vegetal foi significativamente relacionada com a fonte de obtenção das SH, o modo de aplicação, o tipo e idade das plantas (Nardi et al., 2021). Os AH utilizados na estimulação do maracujá apresentaram características químicas típicas da matéria orgânica humificada de elevada bioatividade (Figura 1), tais como a presença de grupos metoxílicos, aromáticos substituídos e ácidos carboxílicos em 56, 130 a 150 e 174 ppm como observado no espectro de RMN de ^{13}C -CP/MAS (Figura 1) (Canellas et al., 2012; Aguiar et al., 2013, Aquino et al., 2019).

Um dos principais mecanismos relacionados com o aumento da produção proporcionado pelo uso das SH solúveis diretamente sobre as plantas está relacionado com o aumento da eficiência de absorção dos nutrientes (Du Jardin, 2015; Canellas et al., 2015). O gradiente de H^+ gerado pela atividade da H^+ -ATPase regula o mecanismo de absorção de íons energizando o transporte ativo por meio de transportadores e/ou controlando a abertura e o fechamento de canais responsáveis pelo transporte passivo dos íons (Fernandes e Souza, 2006). O principal papel da H^+ -ATPase de membrana plasmática na fisiologia das plantas é

o de ativar o transporte secundário de íons (Sondergard et al., 2004). Essa enzima funciona como uma bomba de prótons (H^+) acionada pela hidrólise de ATP, sendo responsável pelo transporte primário de H^+ do interior da célula para o apoplasma e, conseqüentemente, pela formação do gradiente de H^+ gerado através da membrana plasmática. Este gradiente de H^+ energiza o transporte secundário de íons e outros metabólitos contra um gradiente de concentração. O NO_3^- precisa ser transportado ativamente para o interior celular, onde estão mais concentrados. Para isso, existem na membrana plasmática várias proteínas transportadoras de NO_3^- capazes de acoplar a dissipação do componente elétrico e, ou, químico do gradiente de H^+ gerado pelas bombas ao co-transporte dos H^+ do NO_3^- . Um dos fenômenos que têm sido mais relacionados com a bioatividade das SH corresponde a ativação da H^+ -ATPase de membrana plasmática (Zandonadi et al., 2016) associada a ação da auxina, hormônio vegetal que ativa a H^+ -ATPase por diversos mecanismos, entre eles a indução da síntese de H^+ -ATPase modulada por genes Mha1 e Mha2 (Frias et al., 1996). Esses genes foram induzidos por AH isolados de diversas fontes e em diversas plantas (Canellas et al., 2002; Quaggioti et al., 2004; Tavares et al., 2017; Trevisan et al., 2011; Azevedo et al., 2019).

O aumento na concentração de macronutrientes (Cavalcante et al., 2012) e de micronutrientes (Cavalcante et al., 2008) em plantas de maracujazeiro tratadas com SH já foi observado anteriormente. Assim como a melhora significativa no estado nutricional geral do maracujazeiro tratado com biofertilizantes (Silva Júnior et al., 2013). Também já foi observado a manutenção de níveis de produção do maracujazeiro com uma quantidade menor de N-ureia na presença de SH (Silva et al., 2016) sem alterações significativas na qualidade industrial do fruto (Silva et al., 2015). Portanto, o efeito das SH sobre a atividade das H^+ -ATPases é compatível com os resultados de melhora no estado nutricional do maracujazeiro observados anteriormente.

O estudo da absorção de N e dos transportadores em plantas tratadas com SH é normalmente realizado utilizando fontes inorgânicas de N, tais como NH_4^+ ou NO_3^- ou ainda N orgânico sintetizado quimicamente como N- ureia (Quaggioti et al., 2004). Os estudos utilizando matéria orgânica como fonte de N são mais escassos, mas tem um papel relevante para a agricultura e fruticultura orgânica. A

produção do maracujazeiro orgânico tem papel importante na geração de emprego e renda e o sucesso da atividade depende, em parte, do manejo dos fertilizantes orgânicos. Nesse trabalho foi observado que o esterco de curral aumenta a expressão diferencial dos transportadores de NO_3^- de alta afinidade (NTR2.2) e que a aplicação de AH amplifica essa resposta não só para o esterco, mas também para a ureia., mas sem qualquer efeito para a torta de mamona Esse efeito pode ser justificado em parte pelas diferenças na matéria orgânica de cada fertilizante (Carnier et al., 2019) influenciando diretamente a concentração de NO_3^- no meio e conseqüentemente a expressão dos genes dos transportadores (Aslam et al., 1993). A ativação das bombas de prótons e a indução de transportadores de NO_3^- de alta afinidade foi acionado nas raízes do maracujazeiro com a adição de esterco e de N-ureia e ampliado significativamente com o tratamento com AH solúveis (Figura 3).

A análise do crescimento das plantas realizada aos 60 dias após os tratamentos revelou que a TM e TM+AH promoveram significativamente o aumento da massa seca da parte aérea e do volume radicular. A liberação do NTD na TM tem uma dinâmica diferente do esterco de curral e da ureia que liberam prontamente o N com decréscimo linear na disponibilidade. A TM ao contrário vai fornecendo NTD a solução de solo em quantidades crescentes em função do tempo. A torta de mamona possui uma elevada quantidade de N orgânico em sua composição, dessa forma, disponibilizando boa quantidade de nutrientes ao longo do experimento para as plantas.

CONCLUSÃO

A aplicação de ácidos húmicos promoveu a expressão dos genes PeNRT2.2 e PeMHA indicando a possibilidade de melhorar a eficiência da absorção do nitrogênio na fase de crescimento inicial do maracujazeiro adubados com fertilizantes orgânicos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, N.O.; NOVOTNY, E.H.; OLIVEIRA, A.L.; RUMJANEK, V.M.; OLIVARES, F.L.; CANELLAS, L.P. Prediction of humic acids bioactivity using spectroscopy and multivariate analysis. **Journal od Geochemical Exploration**, v.129, p.95-102, 2013.

AQUINO, A.M.; CANELLAS, L.P.; DA SILVA, A.P.S.; CANELLAS, N.O.A.; LIMA, L.S.; OLIVARES, F.L.; PICCOLO, A.; SPACCINI, R. Evaluation of molecular properties of humic acids from vermicompost by ¹³ C-CPMAS-NMR spectroscopy and thermochemolysis–GC–MS. **Journal of Analytical Applied Pyrolysis**, v.141, n.104634, 2019.

ALBUZIO, A.; FERRARI, G.; NARDI, S. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 66, n. 4, p. 731-736, 1986.

ASLAM, M; TRAVIS, R. L.; HUFFAKER, R. C. Comparative induction of nitrate and nitrite uptake and reduction systems by ambient nitrate and nitrite in intact roots of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. **Plant physiology**, v. 102, n. 3, p. 811-819, 1993.

AZEVEDO, I. G.; OLIVARES, F. L.; RAMOS, A. C.; BERTOLAZI, A. A.; CANELLAS, L. P. Humic acids and *Herbaspirillum seropedicae* change the extracellular H⁺ flux and gene expression in maize roots seedlings. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2019.

BAÍA, D. C.; Olivares, F. L.; Zandonadi, D. B.; de Paula Soares, C.; Spaccini, R.; Canellas, L. P. Humic acids trigger the weak acids stress response in maize seedlings. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2020.

BORGES, A. L. Recomendações de calagem e adubação para abacaxi, acerola, banana, citros, mamão, mandioca, manga e maracujá. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2021. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/226951/1/livro-RecomendacaoCalagemAdubacao-AnaLuciaBorges-AINFO.pdf>>. Acesso em 05 de fevereiro de 2022

CACCO, G.; ATTINÀ, E.; GELSOMINO, A.; SIDARI, M. Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings. **Journal of plant nutrition and soil science**, v. 163, n. 3, p. 313-320, 2000.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, v.130, p.1951-1957, 2002.

CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies for Agriculture** v.1, n.3., 2014.

CANELLAS, L.P.; DOBBSS, L.B.; OLIVEIRA, A.L.; CHAGAS, J.G.; AGUIAR, N.O.; RUMJANEK, V.M.; NOVOTNY, E.H.; OLIVARES, F.L.; SPACCINI, R.; PICCOLO,

A. Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. **European Journal of Soil Science**, v. 63, p.315–324, 2012.

CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; AGUIAR, N.O.; JONES, D.L.; NEBBIOSO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture **Scientia Horticulturae**, v. 196, p.15–27, 2015.

CAVALCANTE, L. F.; CAVALCANTE, Í. H. L.; RODOLFO, JR., F.; BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z.; SANTOS, G. P. Leaf-Macronutrient status and fruit yield of biofertilized yellow passion fruit plants. *Journal of Plant Nutrition*, v. 35, n. 2, p. 176-191, 2012.

CAVALCANTE, L. F.; CAVALCANTE, Í. H. L.; SANTOS, G. D. Micronutrient and sodium foliar contents of yellow passion fruit plants as a function of biofertilizers. *Fruits*, v. 63, n. 1, p. 27-36, 2008.

CARNIER, R.; BERTON, R. S.; COSCIONE, A. R.; PIRES, A. M.; CORBO, J. Z. Método da hidrólise ácida na disponibilidade de nitrogênio em resíduos orgânicos. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2019.

CHANTIGNY, M.H., HARRISON-KIRK, T., CURTIN, D., BEARE, M., 2014. Temperature and duration of extraction affect the biochemical composition of soil water extractable organic matter. **Soil Biology & Biochemistry**, v.75, p.161-166.

Du JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 96, p.3–14, 2015.

DELL'AGNOLA, G.; NARDI, S. Hormone-like effect and enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces. **Biology and Fertility of Soils**, v. 4, n. 3, p. 115-118, 1987.

FERNANDES, M.S. (ed) Nutrição Mineral de Plantas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, 2006. 432p.

FERNANDES, M. S.; ROSSIELLO, R. O. P. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. **Critical reviews in plant sciences**, v. 14, n. 2, p. 111-148, 1995.

FERNANDES, M.S.; SOUZA, R. Absorção de nutrientes. In: FERNANDES, M.S. (ed) Nutrição Mineral de Plantas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, 2006. pp.115-152.

HAGHIGHI, M. The effect of humic and glutamic acids in nutrient solution on the N metabolism in lettuce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 15, p. 3023-3028, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. Produção Agrícola Municipal 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>>. Acesso em 10 de janeiro de 2022.

JANNIN, L.; ARKOUN M.; OURRY A.; LAÎNÉ P.; GOUX D.; GARNICA M.; FUENTES M.; FRANCISCO S. S.; BAIGORRI R.; CRUZ F.; HOUDUSSE F.; GARCIA-MINA J. M.; YVIN J. C.; ETIENNE P. Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: involvement of N, C and S metabolisms. **Plant and soil**, v. 359, n. 1, p. 297-319, 2012.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **Methods**, v. 25, p. 402–408, 2001.

MATTAR, G. S. MORAES, C. C. D.; MELETTI, L. M. M.; PURQUERIO, L. F. V. Acúmulo e exportação de nutrientes pelo maracujazeiro-amarelo cv. IAC 275. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 3, 2018.

MORA, V.; BACAICOA, E.; ZAMARRENO, A. M.; AGUIRRE, E.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; GARCÍA-MINA; J. M. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. **Journal of plant physiology**, v. 167, n. 8, p. 633-642, 2010.

NARDI, S. CONCHERI, G.; DELL'AGNOLA, G.; SCRIMIN, P. Nitrate uptake and ATPase activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n. 9, p. 833-836, 1991

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; GESSA, C.; FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L.; CASADORO, G. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 3, n. 32, p. 415-419, 2000.

NARDI, S.; SCHIAVON, M.; FRANCIOSO, O. Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters. **Molecules** v. 26, 2256, 2021.

OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; ROSA, R. C. C.; CANELLAS, L. P. 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.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil science**, v. 166, n. 11, p. 810-832, 2001.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 373-380, 1992.

PINTON, R.; CESCO, S.; IACOLETTIG, G.; ASTOLFI, S.; VARANINI, Z. Modulation of NO₃-uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H⁺ ATPase. **Plant and soil**, v. 215, n. 2, p. 155-161, 1999.

QUAGGIOTTI, RUPERTI, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 398, p. 803-813, 2004.

ROSE, M.T.; PATTI, A.F.; LITTLE, K.R.; BROWN, A.L. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in Agronomy* v. 124, p. 37-89, 2014

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306p. 2006.

SILVA RL, CAVALCANTE, I.H.L.; LIMA A.M.N.; BARBOSA L.F.S.; , DE SOUZA, C.; SOUSA, E.S.; LESSA, T.B.S.; CAVALCANTE, L.V. Effect of humic substances and nitrogen fertilization on yellow passion fruit cultivation in the Brazilian semiarid region. *African Journal Agricultural Research* v. 11, n.35, p. 3307-3313, 2016.

SILVA, R.L.; CAVALCANTE, Í.H.L.; SOUSA, K.S.M.; GALHARDO, C.X.; SANTANA, E.A.; LIMA, D.D. Qualidade do maracujá amarelo fertirrigado com nitrogênio e substâncias húmicas. *Comun. Sci.* v. 6, n.4, p.479-487, 2015

SILVA JÚNIOR, G.B.; CAVALCANTE, Í.H.L.; ALBANO, F.G.; OSAJIMA, J.A. Estado nutricional e clorofila foliar do maracujazeiro amarelo em função de biofertilizantes, calagem e adubação com N e K. *Rev. Cienc. Agrar.* v. 36, n. 2, p. 163-173, 2013.

SONDERGAARD, T.E.; SCHULZ, A.; PALMGREN, M.G. Energization of transport processes in plants. roles of the plasma membrane H⁺-ATPase. **Plant Physiology** v. 136, p.2475–2482, 2004.

TAVARES, O. C. H.; SANTOS, L. A.; FERREIRA, L. M.; SPERANDIO, M. V. L.; DA ROCHA, J. G.; GARCÍA, A. C.; DOBBSS, L. B.; BERBARA, R. L. L.; DE SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Humic acid differentially improves nitrate kinetics under low-and high-affinity systems and alters the expression of plasma membrane H⁺-ATPases and nitrate transporters in rice. **Annals of Applied Biology**, v. 170, n. 1, p. 89-103, 2017

TAVARES, O. C. H.; SANTOS, L. A.; DE ARAÚJO, O. J. L.; BUCHER, C. P. C.; GARCÍA, A. C.; ARRUDA, L. N.; SOUZA S. R.; FERNANDES, M. S. Humic acid as a biotechnological alternative to increase N-NO₃-or N-NH₄⁺ uptake in rice plants. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 101226, 2019.

TERRONES, R. V.; MEDINA, M. C.; CASTILLO, E. A.; CRUZ, F. R. Efecto de los ácidos húmico y fúlvico en el crecimiento de *Passiflora ligularis* cultivada en condiciones de invernadero. **Rebiol**, v. 34, n. 1, p. 13-18, 2014.

TREVISAN, S., BOTTON, A., VACCARO, S., VEZZAROA, A., QUAGGIOTTI, S., NARDI, S., 2011. Humic substances affect *Arabidopsis* physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development. *Environ. Exp. Bot.* 74, 45–55.

VACCARO, S.; ERTANI, A.; NEBBIOSO, A.; MUSCOLO, A.; QUAGGIOTTI, S.; PICCOLO, A.; NARDI, S. Humic substances stimulate maize nitrogen assimilation and amino acid metabolism at physiological and molecular level. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2015.

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. Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. **Planta**, v. 231, n. 5, p. 1025-1036, 2010.

ZANDONADI, D.B.; SANTOS, M.P.; CAIXETA, L.S.; MARINHO, E.B.; PERES, L.E.P.; FAÇANHA, A.R. Plant proton pumps as markers of biostimulant action. **Scientia Agricola** v.73, p. 24–28, 2016.

ZANIN, L.; TOMASI, N.; ZAMBONI, A.; SEGA, D.; VARANINI, Z.; PINTON, R. Water-extractable humic substances speed up transcriptional response of maize roots to nitrate. **Environmental and Experimental Botany**, v. 147, p. 167-178, 2018.

4. RESUMOS E CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a dinâmica de liberação de curto prazo do NTD em solução de solo de diferentes compostos orgânicos, de modo a otimizar o seu manejo e observar a interação das substâncias húmicas com os genes transportadores de nitrato em maracujá.

No primeiro trabalho, observamos que a dinâmica de liberação de NTD a curto prazo dos compostos analisados foi diferente, devido a características do próprio material, porém não influenciou diretamente os parâmetros biométricos avaliados, isso pode ser atribuído a baixa necessidade da cultura por macronutrientes no estado fenológico avaliado.

No segundo trabalho avaliamos a expressão de genes transportadores de nitrato e observamos que os tratamentos com AH, influenciaram diretamente a expressão desses genes, assim como, dos genes transportadores de membrana. Isso indica a possibilidade do AH melhorar a eficiência da absorção do nitrogênio na fase de crescimento inicial do maracujazeiro adubados com fertilizantes orgânicos.

REFERÊNCIAS

- Aguiar, N. O., Medici, L. O., Olivares, F. L., Dobbss, L. B., Torres-Netto, A., Silva, S. F., ... & Canellas, L. P. (2016) Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. *Annals of applied biology*, 168(2): 203-213.
- Aguiar, N.O.; Novotny, E.H.; Oliveira, A.L.; Rumjanek, V.M.; Olivares, F.L.; Canellas, L.P. (2013) Prediction of humic acids bioactivity using spectroscopy and multivariate analysis. *Journal od Geochemical Exploration*, 129: 95-102.
- Albuzio, A., Ferrari, G., & Nardi, S. (1986) Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. *Canadian Journal of Soil Science*, 66(4): 731-736.
- Álvarez, J., Gómez, D., León, N. y Gutiérrez, F. (2010) Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. *Agrociencia*, 44(5): 575-586.
- Aquino, A. M., Canellas, L. P., da Silva, A. P., Canellas, N. O., da S Lima, L., Olivares, F. L., ... & Spaccini, R. (2019) Evaluation of molecular properties of humic acids from vermicompost by ¹³C-CPMAS-NMR spectroscopy and thermochemolysis–GC–MS. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 141: 104634.

- Araújo Neto, S. E. D., Ferreira, R. L. F., & Negreiros, J. R. D. S. (2008) Rentabilidade econômica do maracujazeiro-amarelo plantado em covas e em plantions direto sob manejo orgânico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30: 940-945.
- Aslam, M., Travis, R. L., & Huffaker, R. C. (1993) Comparative induction of nitrate and nitrite uptake and reduction systems by ambient nitrate and nitrite in intact roots of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Plant physiology*, 102(3): 811-819.
- Azevedo, I. G., Olivares, F. L., Ramos, A. C., Bertolazi, A. A., & Canellas, L. P. (2019) Humic acids and *Herbaspirillum seropedicae* change the extracellular H⁺ flux and gene expression in maize roots seedlings. *Chemical and biological technologies in agriculture*, 6: 1-10.
- Baía, D. C., Olivares, F. L., Zandonadi, D. B., de Paula Soares, C., Spaccini, R., & Canellas, L. P. (2020) Humic acids trigger the weak acids stress response in maize seedlings. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7: 1-13.
- Baldotto, M.A.; Baldotto, L.E.B. (2014) Humic acids. *Soil Science and Plant Nutrition. Revista Ceres*, 61: 856-881.
- Bartholomew, W. V. (1965) Mineralization and immobilization of nitrogen in the decomposition of plant and animal residues. *Soil nitrogen*, 10: 285-306.
- Borges, A. L. (2021) *Recomendações de calagem e adubação para abacaxi, acerola, banana, citros, mamão, mandioca, manga e maracujá. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Livro técnico (INFOTECA-E)*, 2. ed. Embrapa, 303 p.
- Borges, A. L.; Rosa, R. C. C. (2018) *Sistema Orgânico de Produção do Maracujazeiro para a Região da Chapada Diamantina, Bahia. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Sistema de Produção*, 48, 1. ed. Embrapa, 78 p.

- Borges, A. L., Caldas, R. C., & Lima, A. D. A. (2006) Doses e fontes de nitrogênio em fertirrigação no cultivo do maracujá-amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28: 301-304.
- Botelho, S. M., Veloso, C. A. C., Rodrigues, J. E. L., & Ferreira, E. V. O. (2020) Fertilizantes orgânicos. *Recomendações de adubação e calagem para o estado do Pará. Brasília, Embrapa*, 1: 93-103.
- Cacco, G., Attinà, E., Gelsomino, A., & Sidari, M. (2000) Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings. *Journal of plant nutrition and soil science*, 163(3): 313-320.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015) Ácidos húmicos y fúlvicos como bioestimulantes en horticultura. *Sci. Hortico*, 196: 15-27.
- Canellas, L. P., Piccolo, A., Dobbss, L. B., Spaccini, R., Olivares, F. L., Zandonadi, D. B., & Façanha, A. R. (2010) Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid. *Chemosphere*, 78(4): 457-466.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L. (2014) Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1: 1-11.
- Canellas, L. P., Dobbss, L. B., Oliveira, A. L., Chagas, J. G., Aguiar, N. O., Rumjanek, V. M., ... & Piccolo, A. (2012) Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. *European Journal of Soil Science*, 63(3): 315-324.
- 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⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant physiology*, 130(4): 1951-1957.

- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015) Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia horticultrae*, 196: 15-27.
- Canellas, L. P., & Santos, G. D. A. (2005). *Humosfera tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas*. 1 ed. 309 p.
- Carmo, Davi Lopes Do (2014) *Condutividade elétrica e sua relação com a fertilidade de solos tratados com corretivos e resíduos orgânicos*. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Lavras - MG, Universidade Federal de Lavras - UFLA, 168p.
- Carnier, R., Berton, R. S., Coscione, A. R., Pires, A. M. M., & Corbo, J. Z. F. (2019). Método da hidrólise ácida na disponibilidade de nitrogênio em resíduos orgânicos. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(3): 619-627.
- Carnier, Ruan. (2017) *TAXA DE MINERALIZAÇÃO E COMPARTIMENTOS DE NITROGÊNIO EM RESÍDUOS ORGÂNICOS*. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Campinas – SP, Instituto Agrônomo de Campinas -IAC, 68p.
- Cavalcante, L. F., Cavalcante, Í. H. L., Júnior, F. R., Beckmann-Cavalcante, M. Z., & Santos, G. P. D. (2012). Leaf-macronutrient status and fruit yield of biofertilized yellow passion fruit plants. *Journal of Plant Nutrition*, 35(2): 176-191.
- Cavalcante, L. F., Cavalcante, Í. H. L., & Dos Santos, G. D. (2008). Micronutrient and sodium foliar contents of yellow passion plants as a function of biofertilizers. *Fruits*, 63(1): 27-36.
- Chantigny, M. H., Harrison-Kirk, T., Curtin, D., & Beare, M. (2014). Temperature and duration of extraction affect the biochemical composition of soil water-extractable organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 75: 161-166.

- Comissão De Fertilidade Do Solo Do Estado De Minas Gerais CFSEMG (1999) *Adubação orgânica. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação*. Viçosa, 1 ed. 359p.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2022) Importação de fertilizantes é recorde e chega a 41,6 milhões de toneladas, 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimasnoticias/4486-importacao-de-fertilizantes-e-recorde-e-chega-a-41-6-milhoes-de-toneladas>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- Da Costa, M. B. B., Souza, M., Júnior, V. M., Comin, J. J., & Lovato, P. E. (2015) Agroecologia no Brasil–1970 a 2015. *Agroecología*, 10(2): 63-75.
- Dechorgnat, J., Nguyen, C. T., Armengaud, P., Jossier, M., Diatloff, E., Filleur, S., & Daniel-Vedele, F. (2011) From the soil to the seeds: the long journey of nitrate in plants. *Journal of experimental botany*, 62(4): 1349-1359.
- Dell'Agnola, G., Nardi, S. (1987) Hormone-like effect and enhanced nitrate uptake induced by depolycondensed humic fractions obtained from *Allolobophora rosea* and *A. caliginosa* faeces. *Biology and Fertility of Soils*, 4: 115-118.
- Du Jardin, P. (2015) Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticultrae*, 196: 3-14.
- Fernandes, M. S., Rossiello, R. O. P. (1995) Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. *Critical reviews in plant sciences*, 14(2): 111-148.
- Fernandes, M. S (2006) *Nutrição mineral de plantas*. 8. ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432p.
- Gu, D. Y., Wang, X. F., Gao, J. J., Jiao, J., Liu, Z. L., & Zhang, Y. Y. (2018) Effects of purified humic acid on the growth and nitrogen metabolism of cucumber seedlings under nitrogen stress. *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology*, 29(8): 2575-2582.

- Guo, C., Chang, W., Gu, J., Li, X., Lu, W., & Xiao, K. (2011) Molecular characterization, transcriptional regulation and function analysis of nitrate transporters in plants. *Frontiers of Agriculture in China*, 5: 291-298.
- Haag, H. P., de Oliveira, G. D., Borducchi, A. S., & Sarruge, J. R. (1973) Absorção de nutrientes por duas variedades de maracujá. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, 30: 267-279.
- Haghighi, M. (2012) The effect of humic and glutamic acids in nutrient solution on the N metabolism in lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(15): 3023-3028.
- Hernandez, O L.; Calderín A.; Huelva R.; Martínez-Balmori D.; Guridi F.; Aguiar N. O.; Olivares F. L.; Canellas L.P. (2015) Humic substances from vermicompost enhance urban lettuce production. *Agronomy for sustainable development*, 35: 225-232.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. Produção Agrícola Municipal 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>>. Acesso em 10 de janeiro de 2022.
- Jannin, L.; Arkoun M.; Ourry A.; Laîné P.; Goux D.; Garnica M.; Fuentes M.; Francisco S. S.; Baigorri R.; Cruz F.; Houdusse F.; GARCIA-MINA J. M.; YVIN J. C.; ETIENNE P. (2012) Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: involvement of N, C and S metabolisms. *Plant and soil*, 359: 297-319.
- Kiehl, E.J. (1985) Fertilizantes orgânicos. Piracicaba: Ceres, 492p.
- Kim, Y., Ullah, S., Moore, T. R., Roulet, N. T. (2014) Dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen production by boreal soils and litter: the role of flooding, oxygen concentration, and temperature. *Biogeochemistry*, 118: 35-48.
- Kobe, R. K., Iyer, M., Walters, M. B. (2010) Optimal partitioning theory revisited: nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen. *Ecology*, 91(1): 166-179.

- Lisboa, C. C., de Lima, F. R. D., dos Reis, R. H. C. L., Silva, C. A., & Marques, J. J. (2018) Taxa de mineralização do nitrogênio de resíduos orgânicos. *Revista Cultura Agronômica*, 27(2): 341-355.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *methods*, 25(4): 402-408.
- Lockaby, B. G., Murphy, A. L., & Somers, G. L. (1996). Hydroperiod influences on nutrient dynamics in decomposing litter of a floodplain forest. *Soil Science Society of America Journal*, 60(4): 1267-1272.
- Lockaby, B. G., Clawson, R. G., Flynn, K., Rummer, R., Meadows, S., Stokes, B., Stanturf, J. (1997) Influence of harvesting on biogeochemical exchange in sheetflow and soil processes in a eutrophic floodplain forest. *Forest Ecology and Management*, 90(2-3): 187-194.
- Malavolta, E. (1980) *Elementos De Nutrição Mineral De Plantas*. 1. ed. São Paulo – SC: Agronômica Ceres, 251p;
- Manica, Ivo (1986) *Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado*. 1. ed. Urubici – SC: Cinco Continentes, 198p.
- MAPA. Instrução normativa nº 61, de 8 de julho de 2020. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>>. Acesso em: 12 maio. 2024.
- Mattar, G. S., Moraes, C. C. D., Meletti, L. M. M., Purquerio, L. F. V. (2018) Acúmulo e exportação de nutrientes pelo maracujazeiro-amarelo cv. IAC 275. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40: e-178.
- Mattar, G. S., Purquerio, L. F. V., Meletti, L. M. M., Valentini, S. R. D. T., Paula, L. F. D., Duart, A. M. (2021) Nitrogen fertilization and spacing in productivity and quality of passion fruit implanted with advanced seedlings. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 43: e-004.

- Merrill, M. C. (1983) Eco-agriculture: a review of its history and philosophy. *Biological Agriculture & Horticulture*, 1(3): 181-210.
- Miyake, R., Furlaneto, F. P., Takata, W. H., Creste, J. E. (2018) Economic analysis of the production of yellow passion fruit in an area with virose incidence and fertilized with NPK. *Journal of Agricultural Science*, 10(5): 303.
- Moll, R. H., Kamprath, E. J., Jackson, W. A. (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization 1. *Agronomy journal*, 74(3): 562-564.
- Mora, V., Bacaicoa, E., Zamarreno, A. M., Aguirre, E., Garnica, M., Fuentes, M., García-Mina, J. M. (2010) Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. *Journal of plant physiology*, 167(8): 633-642.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016) Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73: 18-23.
- Nardi, S., Concheri, G., Dell'Agnola, G., & Scrimin, P. A. O. L. O. (1991) Nitrate uptake and ATPase activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(9): 833-836.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Gessa, C., Ferrarese, L., Trainotti, L., Casadoro, G. (2000) A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil biology & biochemistry*, 32: 415-419.
- Nardi, S., Schiavon, M., Francioso, O. (2021) Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters. *Molecules*, 26(8): 2256.

- Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Rosa, R. C. C., Canellas, L. P. (2015) Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 183: 100-108.
- Palumbo, G., Schiavon, M., Nardi, S., Ertani, A., Celano, G., Colombo, C. M. (2018) Biostimulant potential of humic acids extracted from an amendment obtained via combination of olive mill wastewaters (OMW) and a pre-treated organic material derived from municipal solid waste (MSW). *Frontiers in Plant Science*, 9: 383035.
- Panuccio, M. R., Muscolo, A., Nardi, S. (2001) Effect of humic substances on nitrogen uptake and assimilation in two species of pinus. *Journal of Plant Nutrition*, 24(4-5): 693-704.
- Pao, S. S., Paulsen, I. T., Saier Jr, M. H. (1998) Major facilitator superfamily. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(1): 1-34.
- Paulsen, I. T., Skurray, R. A. (1994) The POT family of transport proteins. *Trends in biochemical sciences*, 19(10): 404.
- Pereira, D. C., Neto, A. W., Nóbrega, L. H. P. (2013) Adubação Orgânica e Aplicações. *Varia Scientia Agrárias*, 3(2): 159-174.
- Piccolo, A. (2001) The supramolecular structure of humic substances. *Soil science*, 166(11), 810-832.
- Piccolo, A. (2011) The nature of soil organic matter and innovative soil managements to fight global changes and maintain agricultural productivity. In *Carbon sequestration in Agricultural soils: a multidisciplinary approach to innovative methods*.(eds). Berlin: Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, p. 1-19.
- Piccolo, A., Nardi, S., Concheri, G. (1992) Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(4): 373-380.

- Pinton, R., Cesco, S., Iacoletti, G., Astolfi, S., Varanini, Z. (1999) Modulation of NO₃-uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H⁺ ATPase. *Plant and soil*, 215: 155-161.
- Pires, M. M.; São José, A. R.; Conceição, A. O (2011) Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade. 1. ed. Brasília: Editus, Editora da UESC, 237p.
- Miller, A. J., Fan, X., Orsel, M., Smith, S. J., Wells, D. M. (2007) Nitrate transport and signalling. *Journal of experimental Botany*, 58(9): 2297-2306.
- Quaggiotti, S., Ruperti, B., Pizzeghello, D., Francioso, O., Tugnoli, V., Nardi, S. (2004) Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 55(398): 803-813.
- Rajagopal, V., Rao, I. M. (1974) Changes in the endogenous level of auxins and gibberellin-like substances in the shoot apices of nitrogen-deficient tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Australian journal of botany*, 22(3): 429-435.
- Ripardo, A.K.S (2010) Doses de NPK no desenvolvimento, produtividade e qualidade de frutos do maracujazeiro "Roxinho do Kênia". Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 71p.
- Rojas, A., Zúñiga, O., Prager, M. S. D., Pérez, J., Gascó, J. M. (2007) Conductividad térmica del suelo, materia orgánica, actividad y biomasa microbianas en sistemas de cultivo de maracuyá en Toro, Valle del Cauca. *Acta Agronómica*, 56(1): 17-22.
- Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., Cavagnaro, T. R. (2014) A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in agronomy*, 124: 37-89.

- Salles, J. S., Steiner, F., Abaker, J. E. P., Ferreira, T. S., Martins, G. L. M. (2017) Resposta da rúcula à adubação orgânica com diferentes compostos orgânicos. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4(2): 35-40.
- SANTOS, G. de A.; (1999) *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, 1999. 544 p.
- Santos, H.G. Dos; Jacomine, P.K.T.; Anjos, L.H.C. Dos; Oliveira, V.A. De; Oliveira, J.B. De; Coelho, M.R.; Lumbreras, J.F.; Cunha, T.J.F (2018) *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 5. ed. Brasília: Embrapa, 356p.
- Santos, E. H. F., da Silva, J. A. B., Guimarães, M. J. M., Meloni, D. A., Castro, J. L. G., Neves, A. V. F., Vieira, N. Q. B., da Silva Santos, A. (2022). Adubação orgânica como fator determinante de emergência e crescimento de mudas de maracujá-amarelo. *Research, Society and Development*, 11(10): e360111032584-e360111032584.
- Saquet, M. A., de Souza, P., dos Santos, R. A. (2010) Agricultura familiar agroecológica em Itapejara d'Oeste-PR. *Revista da ANPEGE*, 6(06): 43-57.
- Schnitzer M e Khan SU (1972) *Humic substances in the environment*. 1. ed. New York: Marcel Dekker, 327p.
- Shipley, B., Meziane, D. (2002) The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology*, 16(3), 326-331.
- Siddiqi, M. Y., Glass, A. D., Ruth, T. J., & Rufty Jr, T. W. (1990) Studies of the uptake of nitrate in barley: I. Kinetics of $^{13}\text{NO}_3^-$ influx. *Plant physiology*, 93(4): 1426-1432.
- Silva Júnior, G. B., Cavalcante, Í. H. L., Albano, F. G., Osajima, J. A. (2013) Estado nutricional e clorofila foliar do maracujazeiro-amarelo em função de biofertilizantes, calagem e adubação com N e K. *Revista de Ciências Agrárias*, 36(2): 163-173.

- Silva, R. L., Cavalcante, Í. H. L., Lima, A. M. N., Barbosa, L. F. S., de Souza, C., dos Santos Sousa, E., Lessa, T. B. da S., Cavalcante, L. F. (2016) Effect of humic substances and nitrogen fertilization on yellow passion fruit cultivation in the Brazilian semiarid region. *African Journal of Agricultural Research*, 11(35): 3307-3313.
- Silva, R. L., Cavalcante, Í. H. L., de Sousa, K. D. S. M., Galhardo, C. X., Santana, E. A., Lima, D. D. (2015) Qualidade do maracujá amarelo fertirrigado com nitrogênio e substâncias húmicas. *Comunicata Scientiae*, 6(4): 479-487.
- Sondergaard, T. E., Schulz, A., Palmgren, M. G. (2004) Energization of transport processes in plants. Roles of the plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiology*, 136(1): 2475-2482.
- Sousa Junior, J. G. D. A., Cherubin, M. R., Oliveira, B. G., Cerri, C. E., Cerri, C. C., Feigl, B. J. (2018) Three-year soil carbon and nitrogen responses to sugarcane straw management. *BioEnergy Research*, 11: 249-261.
- Sousa, V. S (2000) Níveis de irrigação e doses de potássio aplicadas via fertirrigação por gotejamento no maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sins var. *flavicarpa* Deg.). Tese (Doutorado em Agronomia) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, 178p.
- Strieder, M.; Pires, J.; Da Cunha, G. R.; Vargas, L.; De Castro, R. L.; Remor, C. Aplicação de redutor de crescimento no perfilhamento de cultivares de trigo, em dois níveis de nitrogênio. *In: Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE). Reunião Da Comissão Brasileira De Pesquisa De Trigo E Triticale*, 6.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2017) *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Ed Artmed, 848p.
- Tavares, O. C. H., Santos, L. A., de Araújo, O. J. L., Bucher, C. P. C., García, A. C., Arruda, L. N., Fernandes, M. S. (2019) Humic acid as a biotechnological alternative to increase N-NO₃-or N-NH₄⁺ uptake in rice plants. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 20: 101226.

- Tavares, O. C. H., Santos, L. A., Ferreira, L. M., Sperandio, M. V. L., Da Rocha, J. G., García, A. C., Fernandes, M. S. (2017) Humic acid differentially improves nitrate kinetics under low-and high-affinity systems and alters the expression of plasma membrane H⁺-ATPases and nitrate transporters in rice. *Annals of Applied Biology*, 170(1): 89-103.
- Terrones, R. V., Medina, M. C., Castillo, E. A., Cruz, F. R. (2014) Efecto de los ácidos húmico y fúlvico en el crecimiento de *Passiflora ligularis* cultivada en condiciones de invernadero. *Rebiol*, 34(1): 13-18.
- Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., Polasky, S. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898): 671-677.
- Trani, P. E., Terra, M. M., Tecchio, M. A., Teixeira, L. A. J., Hanasiro, J. (2013) Adubação orgânica de hortaliças e frutíferas. *Campinas: Instituto Agronômico de Campinas*. 1: 16p.
- Trevisan, S., Botton, A., Vaccaro, S., Vezzaro, A., Quaggiotti, S., Nardi, S. (2011) Humic substances affect *Arabidopsis* physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development. *Environmental and Experimental Botany*, 74: 45-55.
- Trinsoutrot, I., Recous, S., Bentz, B., Linères, M., Chèneby, D., Nicolardot, B. (2000) Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. *Soil Science Society of America Journal*, 64(3): 918-926.
- Vaccaro, S., Ertani, A., Nebbioso, A., Muscolo, A., Quaggiotti, S., Piccolo, A., Nardi, S. (2015) Humic substances stimulate maize nitrogen assimilation and amino acid metabolism at physiological and molecular level. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2: 1-12.
- Vieira, R. F., (2017) Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas. 1. ed. Brasília: Embrapa, 163p.

- Weinärtner, M. A., Aldrighi, C. F. S., Medeiros, C. A. B., (2006) *Práticas Agroecológicas: Adubação Orgânica*. 1. ed. Pelotas: Embrapa, 20p.
- Wickland, K. P., Neff, J. C., Aiken, G. R. (2007) Dissolved organic carbon in Alaskan boreal forest: Sources, chemical characteristics, and biodegradability. *Ecosystems*, 10: 1323-1340.
- Yan, J., Li, K., Wang, W., Zhang, D., Zhou, G. (2015) Changes in dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen fluxes across subtropical forest ecosystems at different successional stages. *Water Resources Research*, 51(5): 3681-3694.
- Zandonadi, D. B., Canellas, L. P., Façanha, A. R. (2007) Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H⁺ pumps activation. *Planta*, 225: 1583-1595.
- Zandonadi, D. B., Santos, M. P., Dobbss, L. B., Olivares, F. L., Canellas, L. P., Binzel, M. L., Façanha, A. R. (2010) Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. *Planta*, 231: 1025-1036.
- Zandonadi, D. B., Santos, M. P., Caixeta, L. S., Marinho, E. B., Peres, L. E. P., Façanha, A. R. (2016) Plant proton pumps as markers of biostimulant action. *Scientia Agricola*, 73: 24-28.
- Zanin, L., Tomasi, N., Zamboni, A., Segal, D., Varanini, Z., Pinton, R. (2018) Water-extractable humic substances speed up transcriptional response of maize roots to nitrate. *Environmental and Experimental Botany*, 147: 167-178.
- Zhou, W. J., Sha, L. Q., Schaefer, D. A., Zhang, Y. P., Song, Q. H., Tan, Z. H., Guan, H. L. (2015) Direct effects of litter decomposition on soil dissolved organic carbon and nitrogen in a tropical rainforest. *Soil Biology and Biochemistry*, 81: 255-258.