

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Instituto de Ciências Agrárias - ICA**

**Chauanny Cordeiro de Sousa**

**BIOATIVIDADE DE ÁCIDOS HÚMICOS ISOLADOS DE DIFERENTES FONTES  
NO CRSCIMENTO INICIAL DO FEIJÃO-GUANDU**

**Unai**

**2024**

**Chauanny Cordeiro de Sousa**

**BIOATIVIDADE DE ÁCIDOS HÚMICOS ISOLADOS DE DIFERENTES FONTES  
NO CRSCIMENTO INICIAL DO FEIJÃO-GUANDU**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro (a) Agrônomo (a).

Orientador: Prof. DSc. Leonardo Barros Dobbss  
Coorientadora: MSc. Vitória Costa P. L. A. de França

**Unai**

**2024**

**Chauanny Cordeiro de Sousa**

**BIOATIVIDADE DE ÁCIDOS HÚMICOS ISOLADOS DE DIFERENTES FONTES  
NO CRSCIMENTO INICIAL DO FEIJÃO-GUANDU**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a).

Orientador: Prof. DSc. Leonardo Barros Dobbss

Coorientadora: MSc. Vitória Costa P. L. A. de França

Data de aprovação \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Dra. Katharine Vinholte de Araújo  
Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal - UFVJM

---

MSc. Luanna Vanessa de Souza Cangussú  
Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal - UFVJM

---

Prof. Dr. Leonardo Barros Dobbss  
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

**Unai**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelas oportunidades concedidas, pela força e amparo durante este período.

Expresso minha gratidão à minha família: Maura Luzia Cordeiro da Silva (mãe), Valmi Pereira de Sousa (pai), Chauann Cordeiro de Sousa (irmão) e Bruno Bueno de Sousa (sobrinho), pelo constante apoio, valiosos conselhos e até mesmo pelos necessários puxões de orelha. Em particular, desejo destacar minha mãe por seu inabalável apoio, sendo meu pilar de sustentação e fonte de serenidade, nunca desistindo de mim. Agradeço também ao meu namorado Rogério, e aos meus amigos que me acompanharam durante essa jornada.

Expresso minha sincera gratidão ao corpo docente e técnico por todas as experiências valiosas que me foram proporcionadas, bem como pela sua inestimável paciência ao transmitir conhecimento e orientação.

Agradeço imensamente ao meu orientador, DSc. Prof. Leonardo Barros Dobbss, e à minha coorientadora, MSc. Vitoria Costa Pereira Lopes Alves de França, pela paciência e dedicação em me auxiliar durante a condução do meu experimento e na elaboração do trabalho escrito. Sou grato pelos valiosos conselhos e ensinamentos que me foram oferecidos ao longo desse processo.

## RESUMO

A compostagem e a vermicompostagem são processos sustentáveis que permitem a reciclagem de diferentes tipos de resíduos e a estabilização da matéria orgânica. Os compostos orgânicos produzidos possuem em sua composição substâncias húmicas com bioatividade sobre as plantas. O ácido húmico é a fração das substâncias húmicas com maior capacidade de promover o crescimento das plantas, contudo seus efeitos são altamente dependentes do material de origem. Os ácidos húmicos desempenham um papel crucial no desenvolvimento das plantas por meio de três mecanismos principais: a promoção do crescimento radicular, a ativação da H<sup>+</sup>-ATPase e a melhoria na absorção de nutrientes. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do ácido húmico extraído de compostos produzidos com diferentes biomassas vegetais e vermicomposto de esterco bovino sobre o crescimento radicular inicial e atividade da H<sup>+</sup>-ATPase do feijão guandu. Os tratamentos avaliados foram os seguintes: T1: controle (sem, AH), com solução de CaCl<sub>2</sub> a 2,0 mM; T2: AH de origem amilácea; T3: AH de origem sacarídica; T4: AH de origem oleaginosa; T5: AH de origem lignocelulósica; e T6: AH derivado de vermicomposto. Todos os tratamentos foram realizados utilizando uma solução de CaCl<sub>2</sub> a 2 mM combinada com o AH correspondente. Todos os ácidos húmicos testados demonstraram potencial para promover o crescimento das plantas de feijão-guandu, influenciando positivamente a arquitetura radicular ao melhorar o número, comprimento e densidade das raízes laterais, assim como o comprimento da raiz principal e a área radicular. Além disso, os ácidos húmicos também exerceram um efeito positivo sobre a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase. Com base nos resultados obtidos, os ácidos húmicos provenientes da compostagem lignocelulósica e do vermicomposto de esterco bovino demonstraram superior bioatividade e eficácia na promoção do crescimento das plantas em comparação com os ácidos húmicos originados de outras fontes. Além de promover incrementos morfológicos, esses ácidos húmicos também mostraram habilidade de agir beneficentemente, na grande maioria dos casos, sobre um componente bioquímico específico, que foi a enzima chave do metabolismo energético vegetal (H<sup>+</sup>-ATPase).

**Palavras chave:** 1. *Cajanus cajan* L.; 2. Substâncias húmicas; 3. Compostagem; 4. Vermicompostagem; 5. H<sup>+</sup>-ATPase

## ABSTRACT

Composting and vermicomposting are sustainable processes that allow the recycling of different types of waste and the stabilization of organic matter. The organic compounds produced have in their composition humic substances with bioactivity on plants. Humic acid is the fraction of humic substances with the greatest capacity to promote plant growth, however its effects are highly dependent on the source material. Humic acids play a crucial role in plant development through three main mechanisms: promoting root growth, activating H<sup>+</sup>-ATPase and improving nutrient absorption. Thus, this work aimed to investigate the effects of humic acid extracted from compounds produced with different plant biomasses and bovine manure vermicompost on the initial root growth and H<sup>+</sup>-ATPase activity of pigeonpea. The treatments evaluated were as follows: T1: control (without, AH), with 2.0 mM CaCl<sub>2</sub> solution; T2: AH of starchy origin; T3: AH of saccharide origin; T4: AH of oleaginous origin; T5: AH of lignocellulosic origin; and T6: AH derived from vermicompost. All treatments were carried out using a 2 mM CaCl<sub>2</sub> solution combined with the corresponding AH. All humic acids tested demonstrated potential to promote the growth of pigeon pea plants, positively influencing root architecture by improving the number, length and density of lateral roots, as well as main root length and root area. Furthermore, humic acids also exerted a positive effect on H<sup>+</sup>-ATPase activity. Based on the results obtained, humic acids from lignocellulosic composting and cattle manure vermicompost demonstrated superior bioactivity and effectiveness in promoting plant growth compared to humic acids originating from other sources. In addition to promoting morphological improvements, these humic acids also showed the ability to act beneficially, in the vast majority of cases, on a specific biochemical component, which was the key enzyme in plant energy metabolism (H<sup>+</sup>-ATPase).

**Keywords:** 1. *Cajanus cajan* L.; 2. Humic substances; 3. Composting; 4. Vermicomposting; 5. H<sup>+</sup>-ATPase

## LISTA DE FIGURA

- Figura 1** - Avaliação da massa seca da parte aérea (A), massa seca das raízes (B) em plantas de feijão-guandu submetidos a diferentes fontes de ácido húmico. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  (CONT), ácido húmico amilácea (AMI), sacarídica (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância..... 20
- Figura 2** - Avaliação do número de raízes laterais (A), comprimento de raízes principais (B), densidade de raízes laterais (C ) em plantas de feijão-guandu submetidos a diferentes fontes de ácido húmico. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  2 mM (CONT), ácidos húmicos originários de biomassa: amilácea (AMI), sacarídea (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto de esterco de curral (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância..... 23
- Figura 3** - Avaliação do comprimento das raízes laterais (A), área radicular (B) em plantas de feijão-guandu submetidos a diferentes fontes de ácido húmico. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  2 mM (CONT), ácidos húmicos originários de biomassa: amilácea (AMI), sacarídea (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto de esterco de curral (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância..... 25
- Figura 4** - Análise da atividade da enzima  $\text{H}^+$ -ATPase de membrana plasmática (expressa em micromoles de fosfato inorgânico por miligrama de proteína por minuto) em resposta a diferentes tratamentos com ácidos húmicos. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  2 mM (CONT), ácidos húmicos originários de biomassa: amilácea (AMI), sacarídea (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto de esterco de curral (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância..... 27

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>7</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	7
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	7
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>8</b>
3.1	FEIJÃO-GUANDU .....	8
3.2	SUBSTÂNCIAS HÚMICAS .....	10
3.2.1	<i>COMPOSTAGEM</i> .....	11
3.2.2	<i>VERMICOMPOSTAGEM</i> .....	12
3.3	BIOATIVIDADE DOS ÁCIDOS HÚMICOS RELACIONADOS A ENZIMA H <sup>+</sup> -ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA .....	12
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
4.1	LOCAL DO EXPERIMENTO .....	14
4.2	OBTENÇÃO DE COMPOSTO E VERMICOMPOSTO .....	14
4.3	EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO DE COMPOSTO E VERMICOMPOSTO .....	14
4.4	CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	15
4.5	ANÁLISES MORFOLÓGICAS .....	15
4.6	ANÁLISE DA ATIVIDADE DA ENZIMA H <sup>+</sup> -ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA.....	16
4.6.1	<i>OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ENZIMÁTICOS</i> .....	16
4.6.2	<i>ISOLAMENTO DAS VESÍCULAS DE MEMBRANA PLASMÁTICA E ATIVIDADE ATPásica</i> ...	16
4.7	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	18
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>19</b>
5.1	AVALIAÇÃO DA BIOMASSA .....	19
5.2	AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS RAÍZES.....	21
5.2.1	<i>NÚMERO, COMPRIMENTO E DENSIDADE DE RAÍZES</i> .....	21
5.2.2	<i>COMPRIMENTO DAS RAÍZES LATERAIS E ÁREA RADICULAR</i> .....	24
5.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA H <sup>+</sup> -ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA .....	26
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>28</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>29</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão guandu (*Cajanus cajan*) é amplamente utilizado na recuperação de áreas degradadas, rotação de culturas e adubação verde devido à sua capacidade de melhorar a qualidade do solo. Segundo Azevedo e Silva (2011), o mesmo é eficaz na adubação verde, pois suas raízes profundas ajudam a aumentar o teor de matéria orgânica do solo e a melhorar a retenção de água. Além disso, a sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico contribui para a recuperação de solos degradados, proporcionando nutrientes essenciais para a fertilidade do solo (Baker e Toler, 2007). Na rotação de culturas, ele desempenha um papel crucial na redução da necessidade de fertilizantes sintéticos e no controle de pragas e doenças (Azevedo e Silva, 2011). Sua inclusão no sistema agrícola melhora a estrutura do solo e promove a biodiversidade, o que é fundamental para a saúde do solo a longo prazo. O desenvolvimento radicular do feijão guandu é especialmente importante, pois suas raízes profundas não só aumentam a penetração de água e nutrientes, mas também ajudam a romper camadas compactadas do solo e a melhorar sua porosidade, facilitando o crescimento de outras plantas (Baker e Toler, 2007). Práticas sustentáveis e essenciais na recuperação eficaz de áreas degradadas.

As substâncias húmicas são compostos orgânicos complexos resultantes da decomposição de material vegetal e animal, desempenhando um papel crucial na fertilidade e saúde do solo. Elas são divididas em três frações principais: ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e huminas. Cada uma dessas frações tem características e funções distintas no solo. Os ácidos húmicos são a fração mais estável e de maior peso molecular das substâncias húmicas. Eles são conhecidos por suas propriedades hormonais com ações semelhantes à de hormônios vegetais, como as auxinas, que influenciam diretamente o desenvolvimento radicular das plantas. Os AHs estimulam o crescimento das raízes através da ativação da  $H^+$ -ATPase na membrana plasmática das células radiculares, promovendo a absorção de nutrientes e água, alongação e ramificação das raízes, aumentando a superfície de absorção. A ativação da  $H^+$ -ATPase pelas substâncias húmicas resulta na acidificação da rizosfera, o que facilita a solubilização de nutrientes e sua disponibilidade para as plantas (Nardi *et al.*, 2002; Trevisan *et al.*, 2010). Estudos recentes mostram que essa bioatividade é dependente da origem dos AHs, sendo que os provenientes de fontes como o carvão leonardita tendem a ser mais eficazes devido à sua composição química específica. Isso resulta em um maior potencial de estimular o crescimento radicular e melhorar a absorção de nutrientes (Canellas *et al.*, 2015).

As substâncias húmicas são obtidas a partir da decomposição da matéria orgânica. Entre os métodos mais comuns para obtê-las estão a compostagem e a vermicompostagem. A escolha

da biomassa vegetal utilizada nesses processos é crucial para a qualidade final do composto. A compostagem é um processo biológico aeróbico no qual microrganismos decompõem a matéria orgânica, transformando-a em húmus. Este processo pode ser realizado com diversos tipos de biomassa vegetal, como restos de alimentos, folhas, grama e resíduos agrícolas. A qualidade das substâncias húmicas resultantes da compostagem depende da composição da biomassa inicial, da relação carbono-nitrogênio (C/N), da umidade, da temperatura e da aeração. Estudos mostram que a diversidade de biomassa vegetal utilizada na compostagem pode influenciar significativamente a qualidade do húmus produzido. Por exemplo, a inclusão de resíduos ricos em lignina e celulose, como folhas secas e palha, pode resultar em substâncias húmicas com maior estabilidade e complexidade estrutural (Ameen *et al.*, 2021). A vermicompostagem é um processo semelhante a compostagem, mas envolve a ação de minhocas, principalmente da espécie *Eisenia fetida*, que ajudam a decompor a matéria orgânica. Este processo é conhecido por produzir húmus de alta qualidade, rico em substâncias húmicas, devido à ação sinérgica das minhocas e dos microrganismos. A qualidade das substâncias húmicas na vermicompostagem também depende da biomassa utilizada. Biomassas ricas em resíduos alimentares e esterco animal geralmente produzem vermicomposto com altos níveis de ácidos húmicos e fúlvicos, que são benéficos para o solo e o crescimento das plantas (Singh *et al.*, 2022). A composição química e a estrutura das substâncias húmicas obtidas por compostagem e vermicompostagem são fortemente influenciadas pela natureza da biomassa vegetal utilizada. Biomassas com altos teores de carbono, como serragem e folhas secas, tendem a produzir compostos com maior estabilidade e menor atividade biológica imediata. Por outro lado, resíduos vegetais ricos em nitrogênio, como restos de vegetais e esterco, produzem compostos mais ricos em nutrientes e com maior atividade biológica (Bhat *et al.*, 2021). Além disso, a presença de compostos fenólicos, taninos e outros metabólitos secundários nas biomassas vegetais pode influenciar a formação e a qualidade das substâncias húmicas. Biomassas vegetais variadas resultam em substâncias húmicas com diferentes propriedades químicas e biológicas, impactando a eficácia dos compostos no solo (Garg *et al.*, 2020).

O trabalho busca explorar a relação entre a produção de substâncias húmicas e a melhoria do crescimento das plantas, detalhando como diferentes tipos de resíduos influenciam no desenvolvimento das raízes. Identificar quais biomassas produzem substâncias húmicas mais eficazes pode otimizar a recuperação de solos degradados, ajudando na seleção dos melhores materiais para compostagem e vermicompostagem. Além disso, o trabalho destaca que o uso

eficiente de resíduos orgânicos pode promover práticas agrícolas mais sustentáveis, reduzindo a dependência de fertilizantes químicos e beneficiando o meio ambiente.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Investigar os efeitos do ácido húmico extraído de compostos produzidos com diferentes biomassas vegetais e vermicomposto de esterco bovino sobre o crescimento radicular inicial e atividade da  $H^+$ -ATPase no feijão guandu.

### **2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Realizar compostagem de resíduos oriundos de diferentes biomassas agrícolas e vermicompostagem produzida com esterco bovino e extrair seus ácidos húmicos;
- Realizar análises morfológicas das raízes do feijão-guandu, incluindo número de raízes, comprimento das raízes principais e laterais, densidade de raízes laterais e área radicular;
- Avaliar a massa seca das raízes e parte aérea do feijão-guandu, submetidos aos diferentes tratamentos;
- Analisar a atividade da enzima  $H^+$ -ATPase de membrana plasmática nas plantas de feijão-guandu tratadas com ácidos húmicos, por meio da obtenção de extratos enzimáticos e isolamento das vesículas de membrana plasmática.
- Identificar as fontes de ácido húmico que obtiveram maior bioatividade sobre o feijão guandu.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 FEIJÃO-GUANDU

O feijão-guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) conhecido como guandu e feijão-de-árvore, é uma leguminosa da família Fabaceae que é cultivada há séculos na Índia para produção de grãos. É um arbusto vertical, com uma haste única que pode chegar a 1-2 metros de altura, apresentando leve ramificação e revestimento por pelos. Suas raízes, profundas (até 3 metros), noduladas e com raízes laterais, contribuem para melhorar a estrutura do solo, aumentando sua porosidade e facilitando a infiltração de água. Durante a era da escravidão, o feijão-guandu foi introduzido no Brasil, adaptando-se facilmente ao solo e clima brasileiros. Ele é amplamente cultivado no Nordeste do país devido à sua adaptação ao clima local. Posteriormente, espalhou-se para as Guianas, onde passou a ser cultivado como alimento para animais (Dolphin *et al.*, 2017; Santos e Cordeiro, 2019; Lima, 2023). Cultivadas em regiões tropicais e semi-tropicais, suas sementes são ricas em proteínas de alta qualidade, fibras dietéticas, vitaminas do complexo B, minerais essenciais e compostos antioxidantes (Yang *et al.*, 2013; Teixeira e López, 2022).

A versatilidade do feijão-guandu proporcionou a utilização deste em diversos sistemas de cultivo, incluindo solteiro, consorciado, horticultura, uso como cerca, em bordaduras de campo e como quebra-vento. No entanto esse potencial esbarra no entrave da sensibilidade de alguns estresses abióticos, incluindo alagamento, geada, seca, estresse térmico, salinidade e deficiência de nutrientes. Essas condições podem ter efeitos prejudiciais, impactando negativamente o crescimento e a produtividade da cultura, causando danos às estruturas celulares, perturbando o equilíbrio fisiológico e resultando na redução da absorção de água e nutrientes (Rawal e Navarro, 2019; Teixeira e López, 2022; Yang *et al.*, 2013).

Na recuperação de áreas degradadas, o feijão-guandu fixa nitrogênio atmosférico através de uma simbiose com bactérias *Rhizobium*, melhorando a fertilidade do solo e reduzindo a necessidade de fertilizantes sintéticos (Malik *et al.*, 2017). Oliveira *et al.* (2020) mostram que ele melhora a matéria orgânica e a atividade microbiana do solo, restaurando sua estrutura e capacidade de retenção de água. Na rotação de culturas, o feijão-guandu quebra ciclos de pragas e doenças e melhora a estrutura do solo e a disponibilidade de nutrientes para culturas subsequentes. Nascimento *et al.* (2018) destacam que sua inclusão aumenta a produtividade e a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Além disso, como adubo verde, o feijão-guandu cresce rapidamente e produz muita biomassa. Quando incorporado ao solo, libera nitrogênio e fósforo, melhorando a fertilidade do solo a longo prazo. Sá *et al.* (2019) indicam que ele pode

reduzir custos com fertilizantes e contribuir para a sustentabilidade ambiental ao diminuir a lixiviação de nutrientes.

Estudos exploram a relação C/N, especialmente em relação à fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a qualidade dos resíduos da cultura, devido à capacidade do feijão-guandu de fixar nitrogênio atmosférico, enriquecendo o solo e reduzindo a necessidade de adubação nitrogenada (Giller *et al.*, 2015). Gwata *et al.* (2006) avaliaram a eficácia da FBN e o uso eficiente do carbono em diferentes genótipos, destacando a capacidade do mesmo em promover a fertilidade do solo em sistemas agrícolas sustentáveis. Singh *et al.* (2016) encontraram uma correlação positiva entre a relação C/N e a eficiência da fixação de nitrogênio, sugerindo que uma relação C/N equilibrada pode promover uma melhor utilização de nitrogênio e maior rendimento da cultura.

Kumar *et al.* (2014) analisando a variabilidade genotípica em características de raiz e fixação de nitrogênio em diferentes genótipos de feijão-guandu, destacaram uma diversidade considerável na capacidade de enraizamento entre os genótipos, ressaltando a importância da seleção cuidadosa de características radiculares favoráveis. Esta seleção é crucial para otimizar não apenas a eficiência da fixação de nitrogênio, mas também o rendimento da cultura. Em outro estudo significativo, Pramanik *et al.* (2016) investigaram os traços de raiz em genótipos de feijão-guandu cultivados em condições de sequeiro e os resultados indicaram que os genótipos com raízes mais profundas e extensas demonstraram maior eficiência na absorção do nitrogênio disponível no solo, enfatizando a importância crucial do sistema radicular na absorção eficiente de nutrientes, especialmente em contextos de estresse hídrico, o que influencia diretamente o desempenho da cultura.

O sistema radicular é crucial na adaptação e produtividade da cultura do feijão-guandu, onde estudos revelam que o mesmo apresenta um sistema radicular extenso e bem desenvolvido, adaptado para explorar o solo em busca de nutrientes e água, conferindo à cultura uma notável capacidade de tolerância ao estresse e favorecendo seu crescimento em diversos ambientes e isso seria devido por exemplo ao impacto do sistema radicular dessa cultura nas comunidades microbianas (Sarker *et al.*, 2017).

Souframanien *et al.* (2015) evidencia que o uso de marcadores moleculares revelou uma ampla diversidade genética em diferentes acessos de feijão-guandu. As variedades locais mostraram uma grande variedade genética em comparação com as variedades comerciais, e uma clara estrutura genética foi observada entre os acessos, refletindo a diversidade geográfica e ecológica desta espécie (Souframanien *et al.*, 2015). Assim como observado por Hamwiah *et*

*al.* (2013), a alta diversidade genética é uma fonte valiosa para o desenvolvimento de variedades melhoradas, com resistência a estresses bióticos e abióticos, além de outras características agronomicamente importantes.

Bajaj *et al.* (2019) destacam que o feijão-guandu Super N apresenta uma taxa de fixação de nitrogênio mais eficiente do que as variedades convencionais, resultando em um aumento significativo na produtividade e na qualidade dos solos em que é cultivado. Além disso, pesquisas como as de Santos *et al.* (2020) evidenciam que o feijão-guandu Super N possui teores mais elevados de proteínas, vitaminas e minerais em comparação com outras variedades de feijão-guandu. Isso o torna uma opção valiosa para a segurança alimentar e a melhoria da nutrição, especialmente em áreas onde a deficiência de nutrientes é uma preocupação.

### **3.2 SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**

A matéria orgânica do solo (MOS) desempenha um papel fundamental na melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, aumentando sua produtividade, especialmente em regiões tropicais (Primo, Menezes e Silva, 2011). Segundo Brady e Weil (2008), a MOS é uma fonte crucial de nutrientes para as plantas, fornecendo uma série de elementos essenciais para o desenvolvimento vegetal e a produtividade agrícola. A presença de matéria orgânica também promove a agregação do solo, melhorando sua estrutura e capacidade de retenção de água e nutrientes (Lal, 2004).

Além disso, a MOS desempenha um papel importante na ciclagem de nutrientes, liberando nutrientes para as plantas e facilitando sua reciclagem no ecossistema, sustentando a fertilidade do solo a longo prazo (Kibblewhite *et al.*, 2008). A estabilidade do carbono no solo, é fundamental para mitigar as mudanças climáticas, assim como também é influenciada pela presença de matéria orgânica (Lal, 2004).

As frações da matéria orgânica do solo (MOS), incluindo as substâncias húmicas (SHs), são essenciais para a compreensão da origem da MOS, dos processos de humificação e do potencial de retenção de nutrientes em diferentes sistemas de cultivo e ecossistemas (Tombácz e Meleg 1990). Essas frações são definidas operacionalmente com base em suas solubilidades em meio aquoso, relacionadas ao pH da solução extratora, conforme descrito por Tombácz e Meleg (1990), citado por Benites, Madari e Machado (2003). As substâncias húmicas (SHs) representam entre 80 e 90% da composição da MOS em alguns casos e desempenham um papel significativo na produtividade do solo (Chen *et al.*, 2002; Jayaganesh *et al.*, 2010; Ihss, 2014; e Souza *et al.*, 2018). Por outro lado, as substâncias não húmicas, compostas por polissacarídeos, aminoácidos, açúcares, proteínas e ácidos orgânicos de massa

molar reduzida, têm um curto período de permanência no solo devido à sua composição simples, o que favorece uma alta taxa de decomposição por microrganismos (Campos, 2021).

As substâncias húmicas, fração ácidos húmicos e fúlvicos, desempenham diversas funções vitais para as plantas e solos, como retenção de nutrientes, transporte de nutrientes, estímulo ao crescimento das plantas e proteção contra estresses abióticos (Stevenson, 1994; Canellas *et al.*, 2002; Nardi *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2004; Zandonadi *et al.*, 2007; Canellas *et al.*, 2010).

### **3.2.1 COMPOSTAGEM**

O manejo orgânico do solo, abrange a reciclagem da biomassa, a preservação dos resíduos de culturas, a compostagem orgânica, a cobertura morta e outras práticas que favorecem a reciclagem de nutrientes (Oliveira *et al.*, 2004). O uso de compostos orgânicos como elemento central em sistemas de produção orgânica é amplamente adotado globalmente. No entanto, sua eficácia, conforme indicado por Souza (1998), varia dependendo do sistema, do processo de preparo e das matérias-primas utilizadas, o que pode resultar em variações consideráveis de qualidade e custos.

Os resíduos orgânicos sofrem transformações metabólicas quando expostos em condições adequadas de umidade, aeração e a presença de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, actinomicetos, protozoários, algas, larvas, insetos, entre outros (Aquino, Oliveira e Loureiro, 2005). Esses microrganismos utilizam a matéria orgânica como fonte de matéria e energia, promovendo a digestão dos resíduos e a liberação de nutrientes como nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), os quais são transformados em formas minerais disponíveis para as plantas, em um processo chamado mineralização (Kiehl, 1985). Durante essa decomposição, os microrganismos absorvem carbono (C) e nitrogênio (N). O tempo necessário para que ocorra a decomposição e mineralização é influenciado pela relação entre C e N da matéria-prima, conforme estabelecido por Kiehl (1985).

A relação Carbono/Nitrogênio (C/N) desempenha um papel crucial no processo de fermentação da matéria orgânica e na absorção de Nitrogênio pelas plantas, onde relação C/N acima de 30/1 indica uma fermentação mais lenta, levando os microrganismos a capturarem o Nitrogênio do solo, o que pode resultar em deficiência para as plantas. Com uma relação C/N entre 20/1 e 30/1, há um equilíbrio na liberação de N durante a fermentação, enquanto com uma relação abaixo de 20/1, ocorre uma liberação de N para o meio, favorecendo sua absorção pelas plantas. Esterco de bovinos, aves e suínos são comumente usados como material de baixa

relação C/N para enriquecer o composto, mas também podem ser utilizadas tortas de mamona, resíduos de fábricas de chocolates e outras leguminosas (Formentini, 2008).

### **3.2.2 VERMICOMPOSTAGEM**

A vermicompostagem é um processo de compostagem em dois estágios: no primeiro estágio, a fração orgânica dos resíduos é compostada até atingir a temperatura ambiente, seguindo métodos convencionais, como o sistema aberto (Kiehl, 1985); no segundo estágio, minhocas são adicionadas à fração orgânica compostada para converter o material em húmus após um período determinado (Harris *et al.*, 1990; Farias, 2001).

O adubo orgânico produzido pelas minhocas conhecido como vermicomposto ou húmus de minhoca, envolve as espécies vermelha-da-califórnia (*Eisenia foetida* e *E. andrei*) e a noturna africana (*Eudrilus eugeniae*), que dependem de um alto teor de matéria orgânica em sua dieta (Aquino, Oliveira e Loureiro, 2005). O resíduo orgânico alimentar das minhocas passa por transformações em seu trato digestivo, favorecendo a formação de matéria orgânica estabilizada (Aquino, 2009).

Durante o processo de maturação do vermicomposto, alguns polímeros se decompõem lentamente, enquanto outros se incorporam ao húmus, resultando na mineralização e humificação das moléculas presentes no vermicomposto. O grau de maturação está intimamente relacionado com a disponibilidade aumentada de nutrientes e substâncias húmicas. Durante essa fase, há uma redução nas perdas de nutrientes, especialmente N-NO<sub>3</sub>, além de uma diminuição na relação C/N, nos teores de lenhina e hidratos de carbono, e um aumento na relação ácidos húmicos/ácidos fúlvicos (AH/AF). Essa relação é considerada o melhor indicador do grau de maturação do vermicomposto, sendo desejável que seja superior a 1 (Lourenço, 2014). Valores inferiores a 20/1, segundo Morel *et al.* (1985), indicam um grau de maturação aceitável. No entanto, em algumas situações, esse valor pode ser superior a 20/1, mesmo em materiais relativamente maduros, devido à presença de carbono orgânico em moléculas resistentes à degradação, como a lenhina, o que dificulta sua disponibilidade para os microrganismos.

### **3.3 BIOATIVIDADE DOS ÁCIDOS HÚMICOS RELACIONADOS A ENZIMA H<sup>+</sup>-ATPase DE MEMBRANA PLASMÁTICA**

Responsáveis pela translocação de íons através da membrana celular utilizando a energia do ATP, as ATPases do tipo P desempenham funções essenciais na geração do potencial de membrana e na expulsão de íons prejudiciais. Estudos recentes evidenciaram alterações estruturais durante o transporte iônico, destacando a importância dessas enzimas. Embora

compartilhem características estruturais semelhantes, como os domínios proteicos conservados, a atividade das ATPases do tipo P é estritamente controlada por elementos reguladores. No entanto, os mecanismos de regulação ainda não foram completamente elucidados, cabendo mais estudos como o presente. Em resumo, as ATPases do tipo P desempenham um papel fundamental na biologia, participando de processos cruciais, como a contração muscular e a regulação iônica celular (Kuhlbrandt, 2004).

Façanha *et al.* (2002) abordam sobre a influência da substância húmica (SH) na absorção de nutrientes pelas plantas, sugerindo que o possível aumento na permeabilidade da membrana plasmática (MP) devido à ação surfactante dos SH e à ativação da H<sup>+</sup>-ATPase de MP é frequentemente associado a esse fenômeno. No entanto, questiona-se se o aumento na permeabilidade da MP e a dissolução do potencial transmembrana são benéficos para as plantas, considerando a importância do controle da permeabilidade para a homeostase celular. Por outro lado, salientam que o gradiente eletroquímico gerado pela H<sup>+</sup>-ATPase de MP desempenha um papel crucial em processos vitais do desenvolvimento vegetal, como a energização de sistemas secundários de transporte de íons para a absorção de macro e micronutrientes, bem como no aumento da plasticidade da parede celular, facilitando o crescimento e a divisão celular (Façanha *et al.*, 2002). Este último processo está relacionado à teoria do crescimento ácido, onde a extrusão de prótons mediada pela H<sup>+</sup>-ATPase induz a acidificação do apoplasto, ativando enzimas específicas que atuam na parede celular, aumentando sua flexibilidade e permitindo o alongamento celular (Rayle e Cleland, 1992).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO**

O ensaio foi realizado na Fazenda Experimental Santa Paula, pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), localizada no município de Unaí, Minas Gerais, MG. A fazenda está localizada a uma altitude de 640 m e possui as seguintes coordenadas geográficas 16°21'50" de latitude sul e 46°54'15" de longitude oeste. O experimento foi conduzido ao ar livre, garantindo 70% de exposição à luz solar. O Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Sistemas Agropecuários - AGROPECLAB, foi utilizado para a extração dos ácidos húmicos.

### **4.2 OBTENÇÃO DE COMPOSTO E VERMICOMPOSTO**

Os compostos foram obtidos mediante a mistura de esterco bovino na proporção 30:1 e materiais de diferentes biomassas e seus respectivos subprodutos, a fim de ter a relação (subproduto:esterco) antes da realização da compostagem (KIEHL, 1985). Para o composto proveniente da biomassa sacarídica e oleaginosa, utilizou-se restos de cultura de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e soja (*Glycine max* L.), a biomassa lignocelulósica, obtida do subproduto do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.); e, por fim, a biomassa amilácea, utilizou-se a farinha do grão de milho (*Zea mays* L.) (CAMPOS, 2021).

Os compostos foram produzidos em caixas minhobox (sem adição de minhocas) por aproximadamente 4 meses. A cada três dias foi realizado o monitoramento dos parâmetros críticos da compostagem, umidade, temperatura, pH e aeração. Após a conclusão do processo, os compostos resultantes foram submetidos à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C por 48 horas, seguida de peneiramento através de malha de 4 mm para posterior extração de ácidos húmicos (CAMPOS, 2021).

O vermicomposto foi obtido após adição de minhocas vermelha-da-califórnia (*Eisenia foetida* e *E. andrei*) por 30 dias a um produto pré-humificado oriundo da compostagem de esterco bovino (proporção de 30:1 serragem: esterco).

### **4.3 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO DE COMPOSTO E VERMICOMPOSTO**

Após obtenção de compostos e vermicomposto, realizou-se a extração dos AH, tratando-os com uma solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> na proporção 1:10 (m/v) durante 4 horas em agitação e posteriormente o material será centrifugado (15 min, 5000g) para gerar a separação das

substâncias húmicas (AH + AF) das huminas. Para a separação dos AH dos AF será necessário a acidificação do meio, reduzindo seu pH para uma faixa entre 1 e 2, mediante a adição de HCl 6 mol L<sup>-1</sup>. Desta forma os AH serão precipitados e posteriormente, através de centrifugação (15 min, 5000g) serão separados e lavados com água destilada várias vezes até teste negativo para a presença de cloreto realizado com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>). Após a lavagem os AH serão titulados até pH 7,0 com com KOH 0,01 mol L<sup>-1</sup>. Em sequência, os AH serão colocados em membranas de diálise com tamanho de exclusão de 1000 Da e submetidos à diálise contra água destilada até o equilíbrio da condutividade elétrica (CE) do sistema. Após a diálise, os AH serão congelados e secos por liofilização para posterior utilização.

#### **4.4 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO**

Sementes de feijão guandu da variedade Super N foram semeadas em bandejas de polietileno, contendo como substrato areia e vermiculina na proporção 1:1. Treze dias após a germinação das sementes as plântulas foram transplantadas para vasos Leonard, sendo cada parcela experimental constituída por três plantas. Para a confecção dos vasos Leonard garrafas PET de 2L foram cortadas ao meio e pintadas com tinta preta para evitar a penetração de luz e, consequentemente, a proliferação de fungos e bactérias. Na parte superior de cada vaso, foi colocada uma gaze presa por um elástico, e a parte interior preenchida com uma mistura de areia e vermiculita na proporção 1:1. Após o transplante, as plântulas foram submetidas a um processo de aclimação por 72 horas, período no qual receberam apenas água. Posteriormente, foram adicionadas as soluções de CaCl<sub>2</sub> 2,0 mM ou CaCl<sub>2</sub> 2 mM + ácido húmico, na parte inferior do vaso Leonard de acordo com os tratamentos. As soluções de ácido húmico foram preparadas a partir dos ácidos húmicos purificados, provenientes da compostagem de diferentes biomassas (amilácea, sacarídea, oleaginosa e lignocelulósica) e de vermicomposto de esterco bovino. O meio mínimo (CaCl<sub>2</sub> 2 mM) foi utilizado a fim de se evitar qualquer influência dos nutrientes, que poderiam funcionar de maneira sinérgica com as SH, estimulando o desenvolvimento radicular e o metabolismo das plântulas (PINTON *et al.*, 1999b). A cada intervalo de 3 a 5 dias, procedeu-se à verificação da necessidade de reposição da quantidade de solução.

#### **4.5 ANÁLISES MORFOLÓGICAS**

As plantas foram submetidas aos tratamentos por vinte dias e após esse período foram removidas, cuidadosamente, do substrato e suas raízes lavadas em água corrente para garantir

a remoção de quaisquer resíduos superficiais. Em seguida, as plantas foram dispostas, ordenadamente, sobre cartolina preta para registro fotográfico e obtenção das variáveis número, comprimento e densidade média das raízes laterais, comprimento das raízes principais e área radicular, com auxílio do software EZ-Rhizo 2.

Após o registro fotográfico, as raízes e a parte aérea de cada planta foram, cuidadosamente, separadas e acondicionadas em sacos de papel para secagem em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65°C por 48 horas. Após a secagem, a massa seca parte aérea e radicular foram pesadas individualmente em uma balança de precisão, proporcionando dados de peso em gramas por planta.

## **4.6 ANÁLISE DA ATIVIDADE DA ENZIMA H<sup>+</sup>-ATPase DE MEMBRANA PLASMÁTICA**

### **4.6.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ENZIMÁTICOS**

As amostras das plantas, compreendendo apenas raízes, foram coletadas e submetidas à maceração em nitrogênio líquido. Posteriormente, foi adicionada uma solução de homogeneização composta por tampão fosfato de potássio 0,1 M com pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (PEIXOTO *et al.*, 1999). Após a homogeneização, o material foi filtrado através de quatro camadas de gaze e centrifugado a 12.000 g por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante resultante foi então utilizado como extrato bruto para análises subsequentes.

### **4.6.2 ISOLAMENTO DAS VESÍCULAS DE MEMBRANA PLASMÁTICA E ATIVIDADE ATPásica**

As vesículas de membrana plasmática (MP) foram isoladas das raízes de plântulas de feijão-guandu, crescidas na presença ou ausência do AH produzido com diferentes biomassas vegetais,, utilizando-se centrifugação diferencial, como descrito por DeMichelis e Spanswich (1986), com algumas modificações (Façanha e de Meis, 1995).

Resumidamente, 10 g (massa fresca) de raízes de plântulas de feijão-guandu foram homogeneizadas usando grau e pistilo em 20 mL de meio de extração gelado contendo 250 mM de sacarose, 10% de glicerol (m:v), 0,5% de PVP-40 (polivinilpirrolidona-40 KDa), 2 mM de EDTA (ácido etileno diamino tetracético) 0,2% de BSA (Albumina Sérica Bovina) (m:v) e 0,1 M de tampão Tris [tris-(hidroximetil) aminometano] -HCl, pH 8,0. As soluções-estoque

utilizadas na preparação foram mantidas em geladeira. Imediatamente antes do uso, foram adicionados 150 mM de KCl, 2 mM de DTT (ditiotreitól) e 1 mM de PMSF (fluoreto de metilfenilsulfonil). Na manipulação das raízes até a obtenção do homogenato, bem como nas centrifugações, a temperatura foi controlada para não exceder 4° C. Além disso, o pH do tampão de extração foi monitorado durante o procedimento, mantendo-se na faixa de 7,5-8,0. Após a maceração, o homogenato resultante foi filtrado através de quatro camadas de gaze e submetido à centrifugação em uma centrífuga himac CP (HITACHI) à 8.000 g durante 15 minutos para a remoção de células não rompidas e núcleos. O sobrenadante foi coletado e submetido a uma nova centrifugação a 10.000 g por 15 minutos em uma ultracentrífuga himac CP 85b (HITACHI), utilizando-se o rotor P70 para o isolamento das mitocôndrias. O precipitado foi coletado e ressuspenso em 1 mL de solução tampão (meio de ressuspenção: glicerol 15 % (v:v), DTT 1 mM, PMSF 1 mM, 10 mM de Tris-HCl pH 7,6 e EDTA 1 mM) e armazenado em freezer a -70°C. O sobrenadante foi submetido à nova centrifugação, agora a 100.000 g por 40 minutos. O precipitado dessa nova centrifugação, denominado “fração microsomal”, foi ressolubilizado em meio de ressuspenção. As vesículas foram coletadas e utilizadas imediatamente ou congeladas em N<sub>2</sub> líquido e armazenadas a -70°C antes do uso. A concentração de proteína total contida na preparação foi dosada pelo método descrito por Bradford (1976).

A atividade ATPásica foi determinada pela medida da liberação de Pi segundo o método colorimétrico clássico descrito por Fiske e Subbarrow (1925). A reação foi iniciada com a adição da proteína e parada através da adição de ácido tricloroacético (TCA) gelado para uma concentração final de 10% (v/v). A revelação do Pi hidrolisado foi realizada mediante a adição de 0,5 mL da mistura contendo Molibdato de Amônio 2% em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 % + Ácido Ascórbico 1 % (100:1) e, após 15 minutos, efetuou-se a leitura em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2000 no comprimento de onda de 750 nm. Nessa reação, o fosfato foi incorporado dentro de um complexo fósforo-molibdênio e reduzido com ácido ascórbico para formar a cor azul. Composição do meio de reação: 10 mM de Mops [ácido 3-(N-morfino) propano sulfônico]-Tris pH 6,5, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>, 100 mM de KCl, 1 mM de ATP e 50 µg de proteína. Cerca de 80-95% da atividade da H<sup>+</sup>-ATPase das vesículas medida foi inibida por 0,2 mM de vanadato, um inibidor muito eficiente da ATPase do tipo P (DeMichelis e Spanswick, 1986). Em todos os experimentos, a atividade hidrolítica da H<sup>+</sup>-ATPase foi medida a 30 °C, com ou sem vanadato, e a diferença entre essas duas atividades foi atribuída à atividade específica da ATPase tipo P.

#### **4.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA**

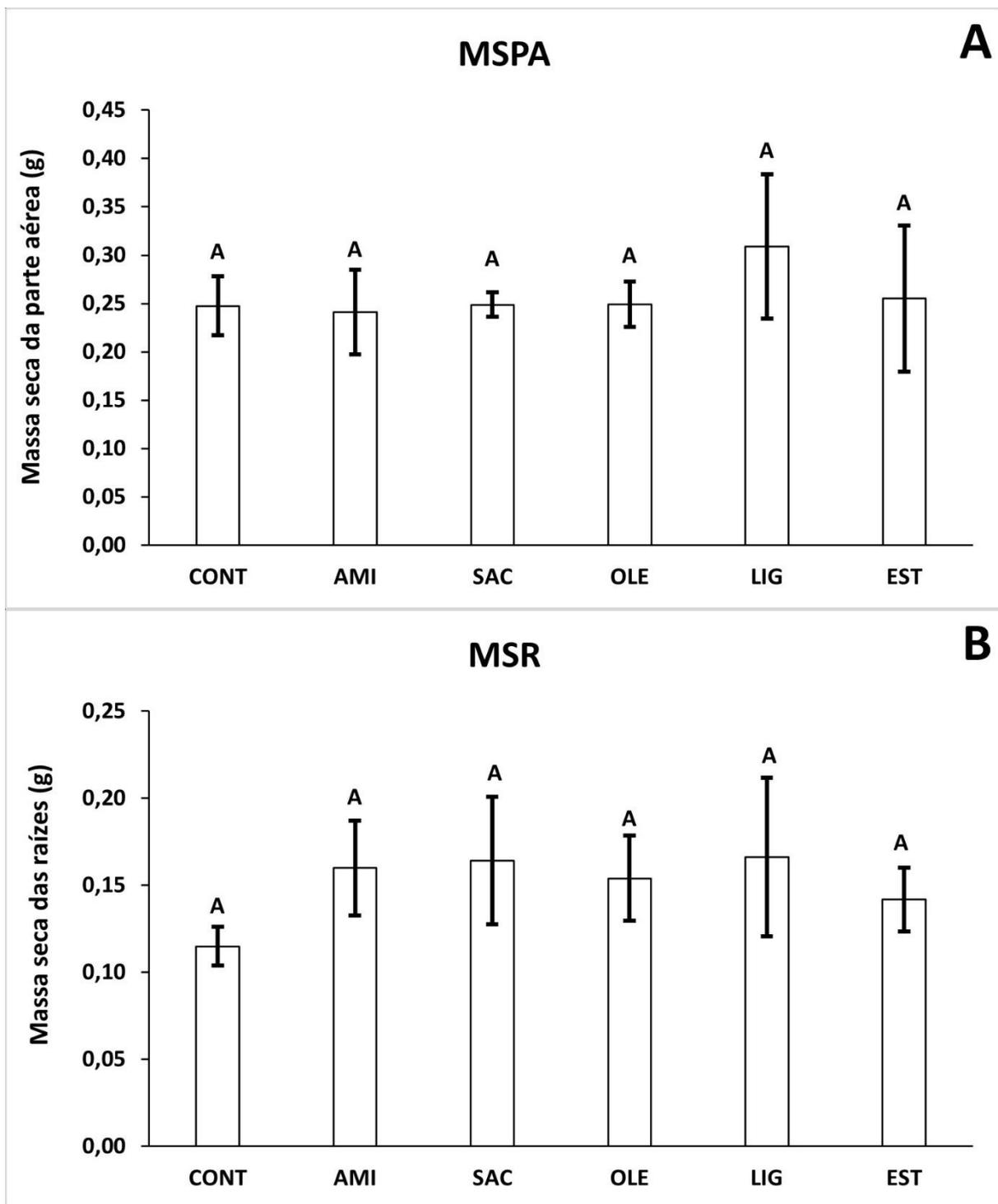
O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela experimental composta por três plantas. Os tratamentos testados foram: T1: controle (sem AH); T2: AH de natureza amilácea; T3: AH de natureza sacarídica; T4: AH de natureza oleaginosa; T5: AH de natureza lignocelulósica e T6: AH de vermicomposto.

Os dados apresentados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Quando significativos, as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de  $p < 0,05$ . Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software SISVAR (Ferreira, 2019) desenvolvido pela Universidade Federal de Lavras (UFLA).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA**

Ao observar as Figuras 1A e 1B, observa-se que não houve uma diferença significativa entre os tratamentos e o grupo controle. Isso sugere que os diferentes tratamentos aplicados não tiveram um impacto relevante sobre a massa seca da parte aérea e raízes de plântulas de feijão-guandu em comparação com o tratamento controle (somente cloreto de cálcio).



**Figura 1** - Avaliação da massa seca da parte aérea (A), massa seca das raízes (B) em plantas de feijão-guandu submetidos a diferentes fontes de ácido húmico. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  (CONT), ácido húmico

amilácea (AMI), sacarídica (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância.

## **5.2 AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS RAÍZES**

### **5.2.1 NÚMERO, COMPRIMENTO E DENSIDADE DE RAÍZES**

A Figura 2A representa o número de raízes laterais, revelando que todos os tratamentos incrementaram essa característica em relação ao controle, com destaque para o ácido húmico derivado de fonte lignocelulósica, que apresentou o maior número de raízes laterais em comparação com todos os outros tratamentos. Em seguida, os ácidos húmicos provenientes de esterco bovino e biomassa sacarídea, contudo esse não diferiu estatisticamente do AH de origem oleaginosa. O tratamento controle foi o que apresentou o menor número médio de raízes laterais mostrando o efeito benéfico dos ácidos húmicos sobre o crescimento radicular. Pesquisas têm demonstrado que ácidos húmicos, especialmente aqueles derivados de materiais orgânicos como lignina, celulose e esterco, têm o potencial de promover o desenvolvimento radicular e a formação de raízes laterais em diversas espécies vegetais (Canellas *et al.*, 2015; El-Nemr *et al.*, 2018).

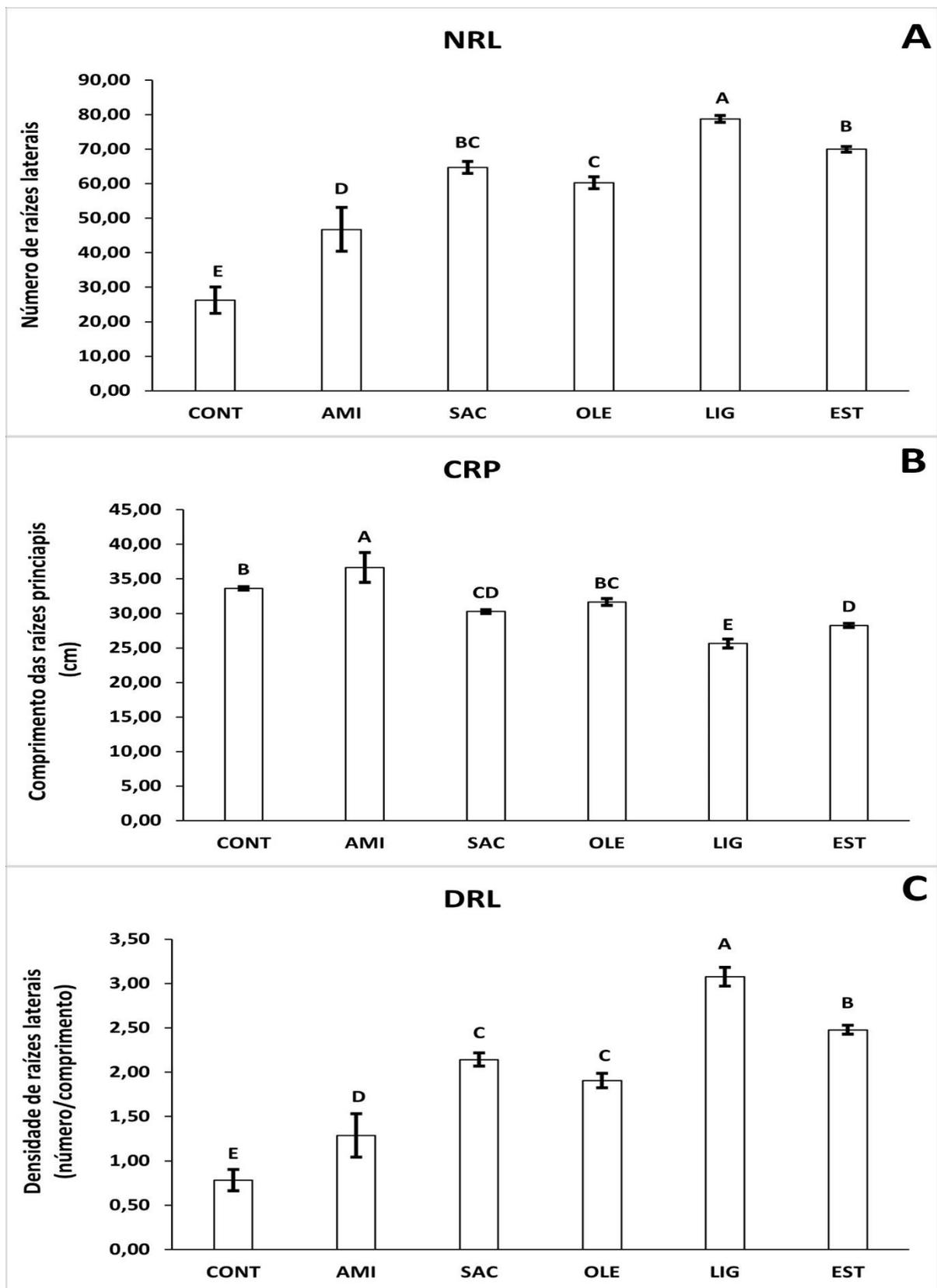
Os ácidos húmicos são conhecidos por conter uma variedade de compostos orgânicos complexos que são conhecidos por estimular o crescimento radicular. Esses compostos podem incluir o fitormônio auxina responsável pelo crescimento primário das plantas (Nardi *et al.*, 2007; Canellas *et al.*, 2015).

Na Figura 2B, referente ao comprimento das raízes principais, tanto o ácido húmico derivado de fonte lignocelulósica quanto o ácido húmico proveniente da vermicompostagem com esterco bovino, demonstraram os menores valores. Isso sugere uma ação tipo hormonal dos ácidos húmicos, pois o tratamento com diferentes concentrações de auxina sintética (AIA ou AIB) promovem o encurtamento das raízes principais e aumento no número de raízes laterais (Zandonadi *et al.*, 2007 e Canellas *et al.*, 2019), conforme observado no presente trabalho, onde todos os tratamentos com os materiais húmicos, com exceção para o de origem amilácea, encurtaram as raízes principais das plântulas de feijão-guandu em comparação com o controle ( $p < 0,05$ ).

Na Figura 2C, foi analisada a densidade de raízes laterais (razão entre o número e o comprimento das raízes), revelando que o ácido húmico derivado de lignocelulose e da vermicompostagem com esterco bovino apresentaram densidade radicular maior em comparação com as demais fontes, sendo que o primeiro citado anteriormente se destaca. Essa

diferença na densidade de raízes laterais entre os tratamentos anteriores pode ser atribuída a várias razões. Primeiramente, o ácido húmico oriundo da compostagem de biomassa de origem lignocelulósica pode conter compostos orgânicos específicos que estimulam o crescimento e a ramificação radicular de maneira mais eficaz do que o vermicomposto de esterco. Estudos têm demonstrado que os ácidos húmicos podem influenciar positivamente o desenvolvimento das raízes laterais, aumentando sua densidade (Canellas *et al.*, 2015). O ácido húmico de origem lignocelulósica pode conter nutrientes em formas mais facilmente disponíveis para as plantas, o que pode promover um maior desenvolvimento das raízes laterais. Por outro lado, o vermicomposto de esterco pode liberar nutrientes de forma mais lenta, o que pode resultar em um estímulo mais vagaroso ao crescimento radicular (Kong *et al.*, 2016).

Estudos anteriores destacaram que a composição específica do ácido húmico, incluindo os tipos e concentrações de compostos orgânicos complexos presentes, pode desempenhar um papel crucial nos efeitos sobre o crescimento radicular das plantas (Smith *et al.*, 2018).



**Figura 2** - Avaliação do número de raízes laterais (A), comprimento de raízes principais (B), densidade de raízes laterais (C) em plantas de feijão-guandu submetidos a diferentes fontes de ácido húmico. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  2 mM (CONT), ácidos húmicos originários de biomassa: amilácea (AMI), sacarídea (SAC),

oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto de esterco de curral (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância.

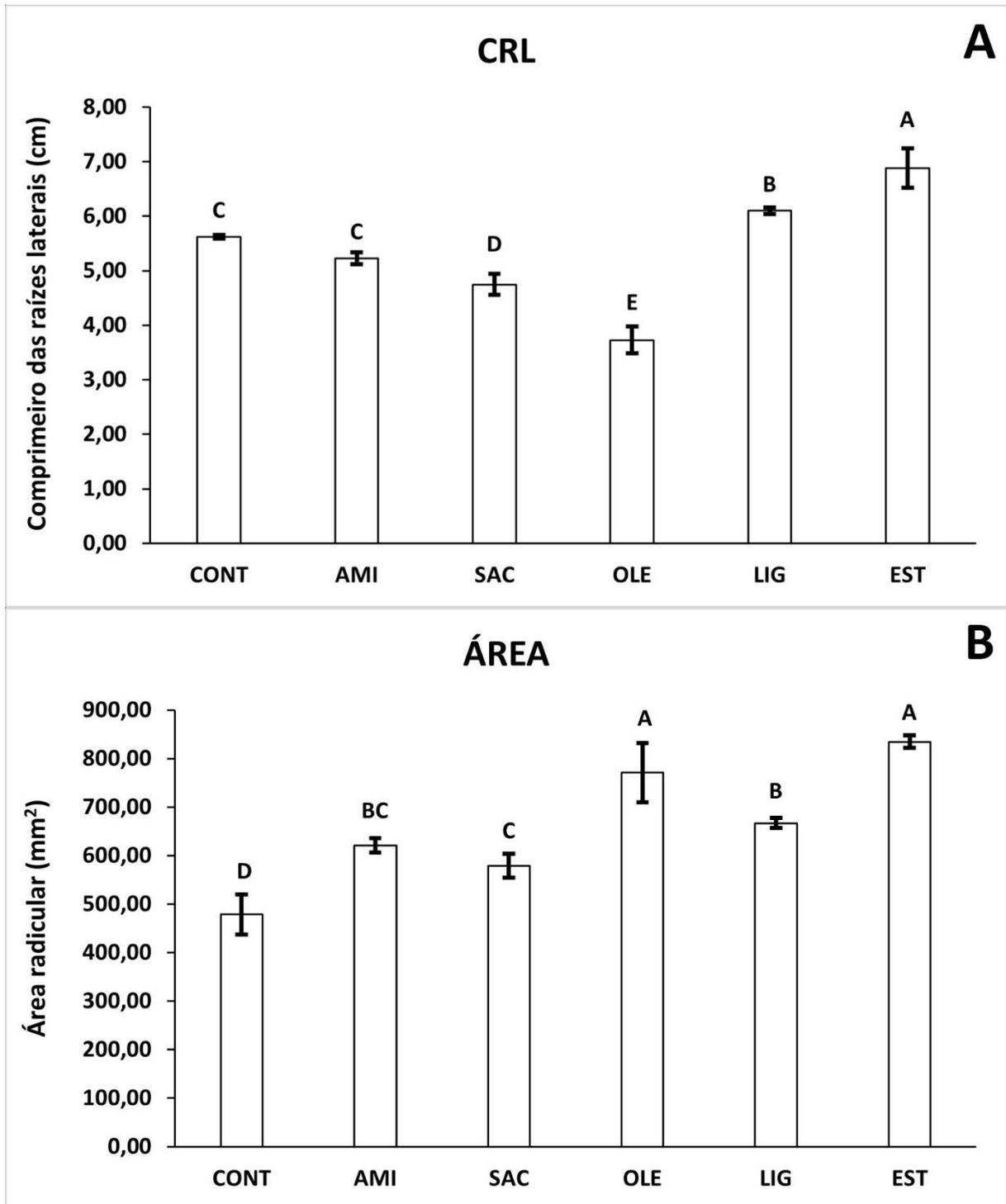
### **5.2.2 COMPRIMENTO DAS RAÍZES LATERAIS E ÁREA RADICULAR**

Ao analisar os dados apresentados na Figura 3A, constata-se que as diferentes fontes dos ácidos húmicos influenciaram no comprimento das raízes laterais do feijão-guandu. Verificou-se que as plantas tratadas com ácidos húmicos provenientes da vermicompostagem com esterco bovino e compostos de origem lignocelulósica obtiveram resultados favoráveis, porém o proveniente da vermicompostagem destacou-se como o mais eficaz. Nesse contexto, os resultados demonstraram que as plantas tratadas com ácido húmico de vermicomposto exibiram um comprimento de raízes laterais significativamente superior em comparação com as plantas de todos os outros tratamentos. Esse resultado indica uma resposta positiva dos AH de vermicomposto e de origem lignocelulósica (em menor magnitude) ao comprimento de raízes laterais. Pesquisas realizadas por Nardi *et al.* (2002) e Canellas *et al.* (2002) demonstraram que o ácido húmico pode induzir a proliferação de raízes laterais, resultando em um sistema radicular mais extenso e eficiente na absorção de água e nutrientes do solo. O efeito positivo desses AH sobre o comprimento das raízes laterais pode ser explicado pelos seus diversos benefícios para o desenvolvimento das plantas, tais como: a formação de micorrizas, o estímulo a enzimas do metabolismo das plantas, o incremento na absorção de nutrientes e uma maior produtividade (Nardi *et al.*, 2002; Barea *et al.*, 2005; Trevisan *et al.*, 2010; Zandonadi *et al.*, 2013; Canellas *et al.*, 2015).

Na Figura 3B, foi evidenciado que o tratamento com AH oriundo de vermicomposto da compostagem de biomassas de origem oleaginosa se destacaram significativamente quando comparados com os demais tratamentos. Por outro lado, o tratamento controle (meio mínimo  $\text{CaCl}_2$  2,0 mM) registrou a menor área radicular, indicando uma resposta inferior em termos de área radicular. Um estudo conduzido por Canellas *et al.* (2002), De Pascale *et al.* (2012), Zandonadi *et al.* (2010) demonstrou que AH pode promover o crescimento radicular por meio da promoção da divisão celular e do aumento da atividade de enzimas envolvidas no metabolismo radicular. Esses processos podem contribuir para o aumento da área radicular conforme observado na Figura 3B.

A relação entre o comprimento das raízes laterais e a área radicular pode ser explicada pela natureza das raízes laterais em expandir a área de absorção das plantas no solo. Conforme observado por Lynch (1995), raízes laterais mais longas e densas podem explorar um volume

de solo maior, resultando em uma área radicular expandida que facilita a absorção de água e nutrientes. Essa associação entre comprimento das raízes laterais e área radicular é crucial para entender o impacto positivo dos AH oriundo de vermicomposto da compostagem de biomassas de origem oleaginosa sobre o crescimento radicular.



**Figura 3** - Avaliação do comprimento das raízes laterais (A), área radicular (B) em plantas de feijão-guandu submetidos a diferentes fontes de ácido húmico. Os tratamentos incluem controle  $\text{CaCl}_2$  2 mM (CONT), ácidos

húmicos originários de biomassa: amilácea (AMI), sacarídea (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto de esterco de curral (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância

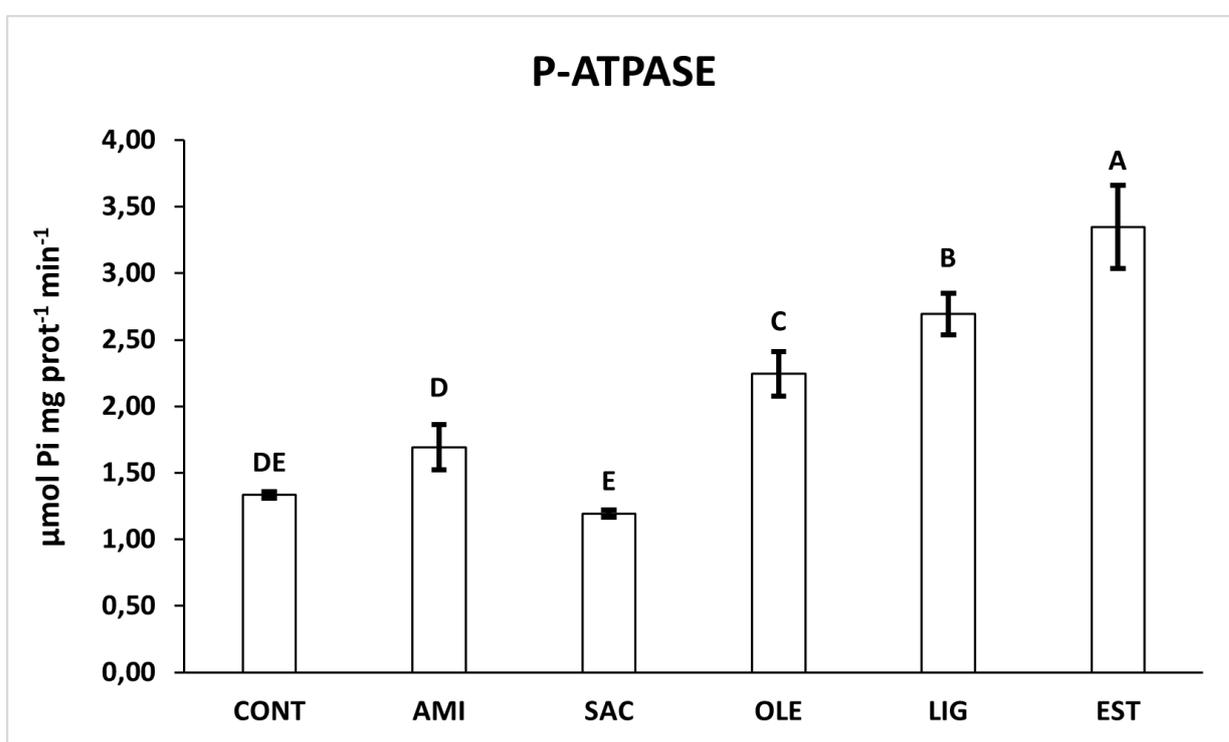
### **5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA H<sup>+</sup>-ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA**

A Figura 4 mostra os efeitos dos diferentes AH sobre a atividade da enzima P-H<sup>+</sup>-ATPase (H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática). Os resultados apresentados na Figura apontaram diferença estatística entre os tratamentos avaliados. O AH oriundo de vermicomposto, que já havia se destacado em muitos dos resultados de morfologia radicular, outra vez se mostrou o mais eficaz na estimulação da atividade da H<sup>+</sup>-ATPase, evidenciando uma diferença estatisticamente significativa quando comparado com todos os outros tratamentos avaliados.

Esse AH parece desempenhar um papel importante na regulação do transporte de íons nas células vegetais. Isso pode melhorar processos metabólicos cruciais para o crescimento das plantas, devido à sua composição rica em substâncias orgânicas complexas que interagem diretamente com as células vegetais. Essas interações estimulam a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase de forma mais eficiente do que outras fontes de ácido húmico, aumentando assim seu potencial para impulsionar o crescimento das plantas. Estudos anteriores indicaram que o esterco é uma fonte abundante de matéria orgânica e nutrientes, enquanto o ácido húmico de origem lignocelulósica pode aumentar a disponibilidade de nutrientes e melhorar a estrutura do solo (Nardi *et al.*, 2000; Canellas e Olivares, 2014). O tratamento controle e o ácido húmico derivado do composto de biomassa sacarídea foram os que tiveram as atividades enzimáticas mais baixas. O AH de origem sacarídea, inclusive, pode ter inibido a atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase devido à sua composição química específica e às complexas interações que existem entre os AH e essa enzima. Essas descobertas destacam a complexidade dos efeitos desses materiais húmicos sobre os processos bioquímicos vegetais, ressaltando a importância de considerar suas interações em estudos e práticas agrícolas (Nardi *et al.*, 2002; Gianfreda *et al.*, 2005; Sairam *et al.*, 2005; Canellas *et al.*, 2011; Canellas *et al.*, 2013; Zandonadi *et al.*, 2013).

Os AH são reconhecidos por sua capacidade de modular uma série de processos metabólicos e fisiológicos nas plantas, incluindo a regulação do transporte iônico através das membranas celulares. Um estudo realizado por Canellas *et al.* (2002) demonstrou que o ácido húmico pode influenciar positivamente a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase em células vegetais, facilitando o transporte de íons essenciais, como potássio (K<sup>+</sup>) e cálcio (Ca<sup>2+</sup>), através das

membranas celulares. Isso sugere que o ácido húmico pode desempenhar um papel crucial na regulação do balanço iônico e no fornecimento de nutrientes para as células vegetais. No entanto, a eficácia do AH pode variar dependendo da sua origem e composição química. Um estudo conduzido por Trevisan *et al.* (2010) comparou os efeitos de diferentes fontes de ácido húmico na atividade da H<sup>+</sup>-ATPase em plantas de milho. Essas análises sugerem que a composição específica do ácido húmico, influenciada pela sua fonte de origem, pode afetar sua capacidade de modular a atividade da H<sup>+</sup>-ATPase e, conseqüentemente, o transporte de íons nas células vegetais.



**Figura 4** - Análise da atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática (expressa em micromoles de fosfato inorgânico por miligrama de proteína por minuto) em resposta a diferentes tratamentos com ácidos húmicos. Os tratamentos incluem controle CaCl<sub>2</sub> 2 mM (CONT), ácidos húmicos originários de biomassa: amilácea (AMI), sacarídea (SAC), oleaginosa (OLE), lignocelulósica (LIG) e vermicomposto de esterco de curral (EST). Letras iguais em cada figura indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo Tukey a 5% de significância

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As evidências experimentais obtidas nesse estudo possibilitaram aceitar a hipótese delimitada na tentativa de responder o questionamento desse trabalho, ou seja, os AH demonstraram capacidade de modificar benéficamente a arquitetura radicular e estimular a atividade da  $H^+$ -ATPase de membrana plasmática de plantas de feijão-guandu e esses efeitos são dependentes de fontes específicas utilizadas para a extração. A partir dos resultados as principais conclusões que puderam ser obtidas foram:

- 1) AH provenientes de diferentes compostagens e vermicompostagem de esterco bovino, possuem potencial para beneficiar o crescimento de feijão-guandu, contudo sua eficácia varia conforme a origem;
- 2) Além de promover incrementos morfológicos, esses AH também mostraram habilidade de agir benéficamente, na grande maioria dos casos, sobre um componente bioquímico específico que foi a enzima chave do metabolismo energético vegetal ( $H^+$ -ATPase).
- 3) O ácido húmico proveniente de composto de natureza lignocelulósica e vermicomposto de esterco bovino demonstraram possuir maior bioatividade sobre o feijão guandu;

## REFERÊNCIAS

**AMEEN, A.; AHMAD, S.; ALI, A.; KHALID, A.; MAHMOOD, T.** Impact of different organic wastes on the chemical composition of compost and humic acid production. *Environmental Technology & Innovation*, v. 24, p. 101-866, 2021.

**AQUINO, A. M. de.** *Vermicompostagem*. Seropédica, RJ: [s.n.], 2009. 6 p.

**AQUINO, A. M. de; OLIVEIRA, A. M. G.; LOUREIRO, D. C.** Integrando compostagem e vermicompostagem na reciclagem de resíduos orgânicos domésticos. Seropédica, RJ: [s.n.], 2005. 4 p.

**AZEVEDO, M. A.; SILVA, R. A.** O feijão guandu (*Cajanus cajan*) como adubo verde. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 2011.

**BAJAJ, B. S.; BAINS, K.; KAUR, J.** Super N pigeonpea: An efficient nitrogen fixer. *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 21, n. 5, p. 1035-1045, 2019.

**BAKER, D.; TOLER, R.** Cover crops and soil fertility. *Soil Science Society of America Journal*, 2007.

**BAREA, J. M.; PALENZUELA, J.; AZCÓN-AGUILAR, C.** Mycorrhizal fungi in the rhizosphere of plants and their interactions with soil organic matter. In: *The Role of Mycorrhizas in Ecosystems*. Springer, 2005.

**BENITES, V. M.; MADARI, B.; MACHADO, P. L. O. de A.** Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. Rio de Janeiro, RJ: [s.n.], 2003. 7 p.

**BHAT, S. A.; SINGH, J.; VIG, A. P.; SABA, S.** Comparative analysis of vermicompost quality produced from different plant materials: Implications for soil fertility. *Journal of Environmental Management*, v. 287, p. 112-284, 2021.

**BRADY, N. C.; WEIL, R. R.** *The Nature and Properties of Soils*. Prentice Hall, 2008.

**CAMPOS, A. R. DE M. C.** Amenização de estresses biótico e abiótico em plantas de sorgo tratadas com diferentes ácidos húmicos. Dissertação de doutorado, Diamantina. Universidade Federal Dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2021.

**CANELLAS, L. P.; DANTAS, D. J.; AGUIAR, N. O.; PERES, L. E. P.; ZSÖGÖN, A.; OLIVARES, F. L.** Probing the hormonal activity of fractionated molecular humic components in tomato auxin mutants. *Annals of Applied Biology*, v. 167, n. 1, p. 75-85, 2015.

**CANELLAS, L. P.; DANTAS, D. J.; AGUIAR, N. O.; PERES, L. E. P.; ZSÖGÖN, A.; OLIVARES, F. L.; FAÇANHA, A. R.** Probing the hormonal activity of fractionated molecular humic components in tomato auxin mutants. *Annals of Applied Biology*, v. 157, n. 2, p. 215-227, 2010.

**CANELLAS, L. P.; DOBBSS, L. B.; OLIVEIRA, A. L.; CHAGAS, J. G.; AGUIAR, N. O.; RUMJANEK, V. M.; OLIVARES, F. L.** Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. *European Journal of Soil Biology*, v. 94, p. 103-125, 2019.

**CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.** Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2014.

**CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; JONES, D. L.; NEBBIOSO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A.** Humic substances in biological agriculture. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, v. 58, p. 1-13, 2011.

**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. 176, p. 1-11, 2013.

**CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; OKOROKOVA-FACANHA, A. L.; FACANHA, A. R.** Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, v. 130, n. 4, p. 1951-1957, 2002.

**CHEN, Y.; SENESI, N.; HUANG, P. M.** Soil organic matter: Chemical and structural properties. In: HUANG, P. M.; SENESI, N.; ZHANG, B. C. (Eds.). *Interactions of Soil Minerals with Natural Organic Matter and Microbes*. Soil Science Society of America, p. 249-273, 2002.

**CHEN, Y.; SENESI, N.; SCHNITZER, M.** Information provided on humic substances by ESR, <sup>13</sup>C-NMR and IR spectra. *Soil Science Society of America Journal*, v. 68, n. 2, p. 192-211, 2004.

**DeMICHELIS, M. I.; SPANSWICH, R. M.** H<sup>+</sup>-pumping driven by vanadate sensitive ATPase in membrane vesicles from corn roots. *Plant Physiology*, v. 81, p. 542-547, 1986.

**DOLPHEN, R.; PONGWICHIAN, P.; LADPALA, P.** Biomass production and root development of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) grown in association with maize (*Zea mays* L.) and harvested at different growth stages. *Agriculture and Natural Resources*, v. 51, n. 1, p. 49-55, 2017.

**EL-NEMR, M. A.; EL-SHERIF, E. S.; EL-HADY, M. M.** The impact of different sources of humic acids on root growth and development in various plant species. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v. 181, n. 2, p. 250-259, 2018.

**FARIAS, C. A.** Resíduos orgânicos alternativos nos processos de compostagem e vermicompostagem. 2001. 130 f. Dissertação de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2001.

**FAÇANHA, A. R.; de MEIS, L.** Inhibition of maize root H<sup>+</sup>-ATPase by fluoride and fluoroaluminate complexes. *Plant Physiology*, v. 108, p. 241-246, 1995.

**FAÇANHA, A. R.; SODEK, L.** Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

**FISKE, C. F.; SUBBAROW, Y.** The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, v. 66, p. 375, 1925.

**FORMENTINI, E. A.** Cartilha sobre adubação verde e compostagem. 2008.

**GARG, V. K.; GUPTA, R.; SUTHAR, S.** Influence of substrate composition on the humification and chemical properties of vermicompost produced from different plant biomasses. *Waste Management*, v. 102, p. 66-76, 2020.

**GIANFREDA, L.; RAO, M. A.; CATION, T.** Enzyme activities and organic matter content of humic acids. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 37, n. 6, p. 987-997, 2005.

**GILLER, K. E.; WITTER, E.; CORBEELS, M.** Conservation agriculture and smallholder farming in Africa: The heretics' view. *Field Crops Research*, v. 182, p. 75-84, 2015.

**GWATA, E. T.; WOFFORD, D. S.; BOOTE, K. J.; MACKAY, D.** Nitrogen fixation, nitrogen balance and carbon utilization efficiency in pigeonpea and groundnut. *African Journal of Biotechnology*, v. 5, n. 3, p. 188-195, 2006.

**HAMWIEH, A.; UDUPA, S. M.; CHOUMANE, W.; SARKER, A.; DREYER, F.** Trait-specific genotypic diversity among a collection of guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, v. 60, n. 7, p. 2217-2233, 2013.

**INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY (IHSS).** What are humic substances?

**JAYAGANESH, S.; AMBIKAPATHY, V.; BOOPATHY, R.; KRISHNAMOORTHY, R.; VASANTHI, P.** Influence of humic substances on soil fertility and crop productivity—a review. *Agricultural Reviews*, v. 31, n. 4, p. 270-275, 2010.

**KIBBLEWHITE, M. G.; RITZ, K.; SWIFT, M. J.** Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 363, n. 1492, p. 685-701, 2008.

**KIEHL, E. J.** Fertilizantes orgânicos. São Paulo: Ceres, 1985. 492 p.

**KONG, D.; GUO, D.; ZHAO, J.; LIU, Y.; WANG, Y.** Effects of different organic amendments on growth, root development, and nutrient availability in plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v. 16, n. 4, p. 987-1000, 2016.

**KUMAR, S.; KUMAR, V.; KUMAR, R.; SINGH, N. P.** Genotypic variability in root characteristics and nitrogen-fixation of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.). *Legume Research-An International Journal*, v. 37, n. 1, p. 51-57, 2014.

**LAL, R.** Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science*, v. 304, n. 5677, p. 1623-1627, 2004.

**LIMA, F. L. O.** Atividade biológica do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) e sua possibilidade de utilização como método suplementativo do mosto cervejeiro. 2023. 55 f. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, 2023.

**LOURENÇO, N. M. G.** Manual de Vermicompostagem e Vermicultura para a Agricultura Orgânica. [s.l.]: Publindústria Edições Técnicas, p. 230, 2014.

**LYNCH, J. P.** Root architecture and plant productivity. *Plant Physiology*, v. 109, n. 1, p. 7-13, 1995.

**MALIK, R. S.; SINGH, M.; YADAV, J.; MALIK, R. K.** Leguminous cover crops: An appropriate choice for sustainable agriculture. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, v. 5, n. 6, p. 839-846, 2017.

**NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A.** Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 34, n. 11, p. 1527-1536, 2000.

**NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A.** Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 34, n. 11, p. 1527-1536, 2002.

**NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A.** Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 39, n. 4, p. 1527-1536, 2007.

**NASCIMENTO, C. M.; SILVA, J. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NASCIMENTO, A. F.** Use of *Cajanus cajan* L. in crop rotation system: A review. *International Journal of Agronomy*, v. 2018, p. 1-10, 2018.

**OLIVEIRA, F. N. S.; LIMA, H. J. M.; CAJAZEIRA, J. P.** Uso da compostagem em sistemas agrícolas orgânicos. Fortaleza, Ce: [s.n.], p. 17, 2004.

**OLIVEIRA, A. C.; SILVA, D. V.; SALGADO, L. T.** Use of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) for phytoremediation and soil fertility recovery. *International Journal of Phytoremediation*, v. 22, n. 10, p. 1036-1046, 2020.

**PASCALE, S.; GAGLIARDI, F.; MANNA, M.** Humic acids as growth promoters of root systems: Effects on cell division and enzyme activity. *Plant Growth Regulation*, v. 66, n. 1, p. 91-101, 2012.

**PINTON, R.; VARANINI, Z.; NANNIPIERI, P.** The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. New York: Marcel Dekker, 1999.

**PRAMANIK, P.; KUMAR, A.; SINGH, R. K.; AGARWAL, S. K.; KUMAR, V.; RAJ, A.** Root traits and nitrogen-use efficiency in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes grown under rain-fed conditions. *The Journal of Agricultural Science*, v. 154, n. 5, p. 830-842, 2016.

**PRIMO, D. C.; MENEZES, R. C.; SILVA, T. O.** Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro. *Scientia Plena*, v. 7, n. 5, 2011.

**RAWAL, V.; NAVARRO, D. K.** The Global Economy of Pulses. 2019.

**SÁ, M. A. C. DE; SILVA, R. R.; SÁ, F. V. DA S.** Nutrient cycling and yield of upland rice in succession to cover crops. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 54, e01502, 2019.

**SAIRAM, R. K.; DESHMUKH, P. S.** Enzymatic activities and biochemical changes in plants treated with humic acids from different sources. *Journal of Plant Physiology*, v. 162, n. 6, p. 651-662, 2005.

**SANTOS, A. V. C. DOS; CORDEIRO, S. Z.** *Cajanus cajan* (L.) Millsp. 2019.

**SANTOS, R. S.; SILVA, P. A.; OLIVEIRA, M. J.** Nutritional enhancement of Super N pigeonpea: Higher protein, vitamins, and minerals content. *Journal of Food Quality and Nutrition*, v. 14, n. 4, p. 287-299, 2020.

**SINGH, A.; KUMAR, V.; MISHRA, S. K.; KUMAR, R.; SINGH, P. K.; SINGH, N. K.** Variability, heritability and genetic advance for nitrogen fixation and yield attributing traits in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. *Legume Research-An International Journal*, v. 39, n. 1, p. 106-110, 2016.

**SINGH, J.; KAUR, A.; VIG, A. P.; SABANAS, P. S.** Vermicomposting of different organic materials using *Eisenia fetida*: Quality assessment and economic feasibility. *Bioresource Technology*, v. 350, 126-897, 2022.

**SARKER, U.; MUKHERJEE, A.; SARKAR, A.; HOSSAIN, M. S.; CHOWDHURY, M. A.; KHAN, A. M.** Root system architecture and rhizosphere microbial communities in pigeon pea. *Applied Soil Ecology*, v. 114, p. 152-161, 2017.

**SMITH, A. B.; JONES, C. D.; JOHNSON, E. F.** Influence of Humic Acid Source and Composition on Plant Growth and Root Development. *Journal of Agricultural Science*, v. 156, n. 4, p. 431-445, 2018.

**SOUFRAMANIEN, J.; REDDY, K. S.; REDDY, S. S.; SHARMA, H. C.** Assessment of genetic diversity in guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) using inter simple sequence repeat markers. *Crop Journal*, v. 3, n. 6, p. 491-499, 2015.

**SOUZA, L. G. A.; SAMPAIO, E. V. S. B.; MONTENEGRO, A. A. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.** Effect of humic substances on soil properties and nutrient dynamics. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 42, e0170166, 2018.

**STEVENSON, F. J.** Humus chemistry: genesis, composition, reactions. New York: Wiley, 1994.

**TEIXEIRA, E. M. G. F.; LÓPEZ, R. E. da S.** (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) *Fabaceae*: uma revisão dos principais constituintes químicos e atividades farmacológicas. *Revista Fitos*, v. 16, n. 2, p. 215-230, jun. 2022.

**TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S.** Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors. *Plant Signaling & Behavior*, v. 5, n. 7, p. 635-643, 2010.

**YANG, C.; ZHANG, S.; HU, W.; CHEN, S.; SHI, X.** Nutritional composition and protein quality of guandu (*Cajanus cajan*) seeds from Yunnan Province, China. *Food Chemistry*, v. 141, n. 4, p. 4187-4193, 2013.

**ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; BUSATO, J. G.; PERES, L. E. P.; FAÇANHA, A. R.** Plant physiology as affected by humified organic matter. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 19, n. 1, p. 53-60, 2007.

**ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; BUSATO, J. G.; PERES, L. E. P.; FAÇANHA, A. R.; FERNANDES-VALÉRIO, K. C.** Plant physiology as affected by humified organic matter. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 22, n. 2, p. 103-116, 2010.

**ZANDONADI, D. B.; ARISAWA, R. M.; FERREIRA, L. S.; NAKAGAWA, M. S.; GARCIA, M. V.; CORDOVA, M. C.** Humic acid and glyphosate alter the structure of *Arabidopsis thaliana* root system through modification of the levels of endogenous hormones. *Plant and Soil*, v. 366, n. 1-2, p. 143-156, 2013.