

**INFLUÊNCIA DO BIOCARVÃO SOBRE OS MICRO-ORGANISMOS
DO SOLO E AS ATIVIDADES DAS BOMBAS DE PRÓTONS**

JÚLIA GALLON BARCELOS

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2016**

INFLUÊNCIA DO BIOCÁRVÃO SOBRE OS MICRO-ORGANISMOS DO SOLO E AS ATIVIDADES DAS BOMBAS DE PRÓTONS

JÚLIA GALLON BARCELOS

Dissertação 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 Mestrado em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Luciana Aparecida Rodrigues
Co-orientador: Prof. Alessandro Coutinho Ramos

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2016

INFLUÊNCIA DO BIOCÁRVÃO SOBRE OS MICRO-ORGANISMOS DO SOLO E AS ATIVIDADES DAS BOMBAS DE PRÓTONS

JÚLIA GALLON BARCELOS

Dissertação 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 Mestrado em Produção Vegetal

Aprovada em 29 de março de 2016

Comissão Examinadora

Prof. Alessandro Coutinho Ramos (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Coorientador)

Prof. Fábio Lopes Olivares (Ph.D., Ciência do solo) – UENF

Prof. Inga Gonçalves de Azevedo (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) - SEEDUC

Prof. Luciana Aparecida Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Orientador)

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCT / UENF**

166/2016

Barcelos, Júlia Gallon

Influência do biocarvão sobre os micro-organismos do solo e as atividades das bombas de prótons / Júlia Gallon Barcelos. – Campos dos Goytacazes, 2016.

95 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) -- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Solos. Campos dos Goytacazes, 2016.

Orientador: Luciana Aparecida Rodrigues.

Coorientador: Alessandro Coutinho Ramos.

Área de concentração: Solos e nutrição de plantas.

Bibliografia: f. 70-84.

1. BIOCÁRVÃO 2. MICRO-ORGANISMOS 3. BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS 4. BOMBAS DE PRÓTONS 5. MAMOEIRO I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Solos II. Título

CDD 631.4

*“Não seja empurrado por seus problemas,
seja conduzido pelos seus sonhos...”*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por se fazer presente em todos os momentos da minha vida e por ter me dado forças de chegar até o final;

Aos meus pais, Maria Lucia e Wilson, pelo amor incondicional e por todos os esforços e paciência em prol da minha formação profissional;

Ao Luiz Antônio, por todo o carinho, ajuda e incentivo;

Aos meus irmãos, André e Murilo, pela amizade e companheirismo;

Ao meu namorado João Eduardo, por estar ao meu lado em todos os momentos, seja eles bons ou ruins, por todo amor e carinho nessa fase da minha vida;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de realização deste curso; e também pelo suporte financeiro da bolsa;

À professora Dr. Luciana Aparecida Rodrigues, pelas orientações, ensinamentos, paciência a mim dispensada;

Ao professor Dr. Alessandro Coutinho Ramos, de um coração enorme e sempre disposto a ajudar com todo carinho e sabedoria;

Ao grupo do Solos, em especial ao professor Dr. Cláudio Roberto Marciano, por sempre está disposto a ajudar e ceder seu laboratório para uso com fins científicos (nem sempre);

Ao técnico de laboratório Ederaldo, por toda ajuda;

Ao professor Fábio Lopes Olivares, pela orientação, por ter cedido o laboratório e materiais, por disponibilizar ajuda, que foi fundamental para realização deste trabalho;

Às alunas, Manuela e Bruna, por toda ajuda, risadas e momentos ótimos compartilhados no laboratório;

Ao professor Arnoldo Rocha Façanha, por disponibilizar o laboratório e reagentes com toda boa vontade;

Aos alunos do LMGV, por toda simpatia e companheirismo;

Aos amigos de laboratório, por todos os momentos, todas as risadas, conselhos, em especial a Carol, além de ser minha companheira de laboratório, foi também minha companheira de república, diga-se de passagem, com o nome mais criativo (CAJU);

Aos amigos, de longa data e aos que fiz nessa jornada; Amanda, Antônio, Katherine, Juju, Gabi, Freddy.... e muitos outros;

Em particular ao Sávio, por tudo que você fez por mim, por toda a paciência, por puxar minha orelha, por sempre me obrigar a estudar, eu tenho certeza que se eu cheguei aqui hoje, foi porque você esteve ao meu lado;

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação;

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Biocarvão	3
2.2. Micro-organismos do solo e materiais orgânicos destinados ao uso na agricultura.....	5
2.3. Influência do biocarvão na atividade microbiana do solo.....	9
2.4. Mamoeiro.....	10
2.5 Bombas de Prótons.....	11
3. TRABALHOS.....	13
EFEITO DO BIOCARVÃO ASSOCIADO OU NÃO A COMPOSTO ORGÂNICO OU URÉIA SOBRE A POPULAÇÃO MICROBIANA EM ESPODOSSOLO.....	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	36

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
A MODULAÇÃO DIFERENCIAL DAS BOMBAS DE PROTONS É O CENTRO DA RESPOSTA DE CRESCIMENTO DE <i>Carica papaya</i> MEDIADA PELO BIOCARVÃO.....	41
RESUMO.....	42
ABSTRACT.....	43
INTRODUÇÃO.....	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	46
Condições de cultivo e análise das características de crescimento das plantas	46
.....	
Isolamento de membrana.....	50
Determinação da atividade H ⁺ -ATPásica e H ⁺ -pirofosfatásica.....	50
Monitoramento do gradiente de H ⁺	51
Análise estatística dos dados.....	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
Parâmetros de crescimento.....	52
Acúmulo de macro e micronutrientes na parte aérea e raiz.....	55
Atividade hidrolítica e de transporte inicial e acoplamento das ATPases e V-PPase.....	58
CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
4. RESUMO E CONCLUSÃO.....	69
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

RESUMO

BARCELOS, Júlia G. Msc. – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2016. INFLUÊNCIA DO BIOCARVÃO SOBRE OS MICRO-ORGANISMOS DO SOLO E AS ATIVIDADES DAS BOMBAS DE PRÓTONS. Orientador: Luciana Aparecida Rodrigues. Co-orientador: Alessandro Coutinho Ramos.

A qualidade central do biocarvão é sua estrutura porosa, que influencia diretamente as características físicas, químicas e biológicas do solo e, indiretamente, fornece outros benefícios como retenção de água e maior disponibilidade de nutrientes. Essas alterações no solo podem influenciar positivamente ou negativamente a microbiota do solo. Outro fator que deve ser considerado é a influência direta e indireta do biocarvão sobre o crescimento e produtividade de culturas de interesse agrícola. Estas respostas irão depender do tipo de biocarvão, das características físicas e químicas do solo e dos condicionadores e adubos adicionados no solo. Foram realizados dois experimentos. O primeiro experimento objetivou avaliar o efeito do biocarvão, do composto orgânico e da adubação nitrogenada sobre a população microbiana do solo em três fases: logo após incubação por vinte dias, após o cultivo de mucuna e após a deposição e decomposição da mucuna nos vasos. O segundo experimento objetivou avaliar o efeito do biocarvão sobre os parâmetros de

crescimento das plantas e atividades das bombas de H^+ -ATPases em mudas de *Carica papaya* L. No primeiro experimento foi verificado que logo após a incubação do solo, e após a decomposição da mucuna o biocarvão proporcionou efeito positivo sobre os níveis populacionais de fungos crescidos em meio caldo nutriente sólido, porém não houve efeitos significativos após o plantio da mucuna. A aplicação de composto orgânico, de nitrogênio ou do biocarvão não influenciou o tamanho das populações de bactérias fixadoras de nitrogênio em meio semi-sólido com malato como fonte de carbono. Os efeitos benéficos mais evidentes da aplicação do biocarvão no solo ocorreram para os fungos e bactérias totais, principalmente nas fases iniciais e no manejo controle, indicando a importância do biocarvão em solos com baixos teores de N e de matéria orgânica. No segundo experimento verificou-se que plantas tratadas com biocarvão apresentaram incrementos significativos em todos os parâmetros de crescimento e um aumento considerável no acúmulo de nutrientes tanto na parte aérea como na raiz. Foi observado que as bombas de H^+ , P-ATPase e V-ATPase foram ineficientes em comparação ao controle, porém, houve uma eficiência nas bombas V-PPase.

ABSTRACT

BARCELOS, JÚLIA GALLON, Msc. INFLUENCE ON BIOCHAR SOIL MICROORGANISMS AND PROTONS ACTIVITIES PUMPS. Advisor: Luciana Aparecida Rodrigues. Co-advisor: Alessandro Coutinho Ramos.

The central quality of biochar is its porous structure, which directly influences the physical, chemical and biological soil and indirectly provides other benefits such as water retention and increased availability of nutrients. These changes in the soil can influence positively or negatively the soil microbiota. Another factor that should be considered is the direct and indirect influence of biochar on growth and productivity of crops of agricultural interest. These responses will depend on the type of biochar, the physical and chemical characteristics of the soil and conditioners and fertilizers added to the soil. Two experiments were conducted. The first experiment aimed to evaluate the effect of biochar, the organic compound and nitrogen fertilization on soil microbial population in three stages: after incubation for twenty days, after the velvet bean cultivation and after the deposition and decomposition of mucuna in the vessels. The second experiment aimed to evaluate the effect of biochar on the growth parameters of plants and activities of H⁺-ATPase pumps in *Carica papaya* L. Seedlings. In the first experiment it was found that after the incubation periods, and after decomposition of Mucuna biochar provided positive effect on the population levels of fungi grown on solid nutrient broth, but no significant effects after planting mucuna. The

application of organic compost increased the population density of total bacteria only after the planting of mucuna. The application of organic compound, nitrogen or biochar did not influence the size of populations of nitrogen-fixing bacteria in semi-solid medium with malate as carbon source. In the second experiment it was found that plants treated with biochar showed significant increases in all parameters of growth and a considerable increase in the accumulation of nutrients in both the aerial part and the roots. It was observed that pumps H⁺, P-ATPase and V-ATPase were inefficient compared to the control, however, there was a performance in the V-PPase pumps.

1. INTRODUÇÃO

O biocarvão, conhecido também pelo termo biochar (biocarvão em inglês) é o resultado do processo de pirólise de material vegetal e/ou animal, em um local teor de oxigênio controlado (Britannica Academic, 2016). A ideia de utilização do biocarvão e a importância para a sociedade inicialmente seria para a mitigação dos gases de efeito estufa e a manutenção de C-orgânico no solo (Galinato et al., 2011; Oleszczuk et al., 2013) tendo em vista a maior estabilidade do C (carbono) do biocarvão comparativamente a aquele presente no material de origem (material vegetal), contribuindo para promover incrementos no teor de C edáfico, e conseqüentemente sequestro de carbono (Sohi et al., 2010).

O biocarvão tem atraído a atenção da comunidade científica, também, por causa das suas promissoras aplicabilidades em diferentes áreas, a nível ambiental e econômico (Qian et al., 2015). Dentre os principais focos de estudados estão as mudanças que pode promover nas características físicas, químicas e biológicas do solo (Lehmann et al., 2011), podendo elevar as reservas presentes de carbono e nutrientes, além de atuar como condicionante do solo (International Biochar Initiative, 2015).

O efeito do biochar nas características biológicas do solo deve-se à estrutura porosa que o biocarvão criando um hábitat ideal para proliferação de micro-organismos aeróbicos nesses poros (Steinbeiss et al., 2009). Foi verificado por Liu et al (2016) que solo incubado com microrganismos previamente selecionados e biocarvão proveniente de palha de milho apresentou aumentos

significativos na solubilização do K comparativamente ao tratamento com incubação desses microrganismos em ausência do biocarvão.

O pH do biocarvão normalmente é alcalino, sendo que sua aplicação no solo pode elevar o pH alterando a disponibilidade de nutrientes (Novais et al., 2007). Variações no pH do solo podem alterar o potencial elétrico das membranas celulares, alterando o padrão de absorção de nutrientes (Marschner, 2012).

O potencial de utilização do biocarvão na agricultura requer estudos mais apurados para se entender qual o real impacto que esse material pode causar nas características do solo e sobre as culturas. Sendo assim o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do biocarvão associado ao composto orgânico e a adubação nitrogenada sobre a população microbiana do solo e ainda o efeito do biocarvão sobre os parâmetros de crescimento e as atividades das bombas de próton em mudas de *Carica papaya* L.

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Biocarvão

A Terra Preta de Índio foi descoberta em 1870, na Amazônia. São manchas profundas de solo escuro, muito fértil, diferente do solo pobre existente em quase toda a região, os quais são altamente intemperizados, ácidos, com baixa capacidade de troca catiônica (CTC), baixa fertilidade e, conseqüentemente, com baixo potencial de produção agrícola. As terras pretas de índio contêm três vezes mais fósforo e nitrogênio, se comparado a solo comum (Rezende et al., 2011). Nestes solos foi observado grande quantidade de material pirolizado, responsável por esse incremento na fertilidade. A partir desse material foram iniciados trabalhos na tentativa de reproduzir os mesmos efeitos em diferentes materiais vegetais.

O termo biocarvão teve origem a partir do modo de produção, conhecido como “pirólise lenta”, em que ocorre à queima do material na ausência de oxigênio, em taxas de aquecimento relativamente lentas, e pico de temperatura baixa. No entanto, o termo foi estendido para produtos de pirólise rápida, com temperaturas elevadas e menor intervalo para a queima (Sohi et al., 2010). A pirólise pode originar vários produtos a partir de matéria orgânica vegetal e animal, como, por exemplo, o carvão animal, carvão vegetal, grafite e o próprio biocarvão, sendo que os resultados serão diferentes para cada técnica empregada, dando origem a produtos diferenciados em relação as suas propriedades físico-químicas.

O biocarvão é um produto rico em carbono (Lehmann e Joseph 2009), cuja porção orgânica é formada, principalmente, por compostos aromáticos, que consistem em anéis de seis átomos de carbono ligados entre si, sem oxigênio (O) ou hidrogênio (H) (Koelmans et al., 2006). Nestes compostos aromáticos ocorre a retenção do carbono, resultando na permanência prolongada deste elemento no solo (Petter et al. 2012), razão pela qual, o uso do biocarvão vem sendo indicado para a aplicação nos solos agrícolas, uma vez que a fertilidade do solo é melhorada com a aplicação do biocarvão pela elevação das reservas presentes tanto de carbono quanto de elementos essenciais para as plantas na sua composição (Nóbrega, 2011), além de atuar como condicionador/condicionante de solo (International Biochar Initiative, 2015). Também vem sendo indicado para a gestão de resíduos, para a produção de energia e para a mitigação dos problemas de origem climáticas, tendo em vista a redução das emissões do carbono para atmosfera (Ramanathan et al., 2008).

Para avaliar a possibilidade da adoção da utilização do biocarvão em escala global na agricultura (Steiner, 2007) é necessária mais informação sobre o desempenho os diferentes tipos de biomassa (resíduos) para a sua produção e os efeitos da sua aplicação em diferentes solos e em diferentes condições climáticas (Day et al., 2005).

As características físicas, químicas do biocarvão variam de acordo com sua matéria prima (matéria orgânica de origem) e são fundamentais para entender a funcionalidade e a maneira de como o biocarvão irá contribuir para modificar e potencializar as propriedades do solo (Atkinson et al., 2010). Por possuir uma composição heterogênea, o biocarvão pode apresentar diferentes particularidades em sua estrutura, como superfície hidrofílica e hidrofóbica, propriedades ácidas e básicas, que vão reagir com as substâncias encontradas no solo (Lua et al., 2004).

Na fabricação do biocarvão, a temperatura é o principal fator responsável pelo nível de carbono perdido e pela mudança física que ocorre durante a pirólise, sendo também responsável pela presença de micro-poros devido à perda de água durante a desidroxilação, aumentando, assim, a superfície específica (Bagreev et al., 2001) e a quantidade de sítios químicos reativos. A alta porosidade auxilia na redução de emissões de gases que causam o efeito estufa, principalmente dos provenientes de adubações nitrogenadas (Bhatia et al., 2010), e retenção da água

no solo (Glaser et al., 2002). Segundo Barrow, 2012, essa estrutura interna complexa fornece um nicho adaptativo potencialmente valioso para os microrganismos e para produções subsequentes de biofilmes.

2.2. Microrganismos do solo e materiais orgânicos destinados ao uso na agricultura.

O solo é constituído pelo balanço entre frações líquida (água e materiais dissolvidos), gasosa (gases atmosféricos) e sólida (minerais e matéria orgânica), (Leite e Araújo, 2007).

A atividade microbiana é altamente concentrada nas primeiras camadas do solo, realizando diversas funções essenciais para o seu funcionamento, como a decomposição da matéria orgânica associada à mineralização de nutrientes, solubilização de minerais em formas disponíveis às plantas e degradação de substâncias tóxicas (Araújo e Monteiro, 2007).

Técnicas como a cobertura vegetal do solo, a incorporação de restos vegetais, a adubação orgânica e a aplicação de húmus de minhocas, permitem a manutenção da atividade microbiana e melhora os níveis de fertilidade do solo mantendo a sustentabilidade agrícola (Andreola e Fernandes, 2007).

Os principais fatores que afetam os microrganismos do solo são: diversidade e labilidade de substratos de carbono para as demandas energéticas, nutrientes minerais, composição e força iônica da solução do solo, pH, composição e pressão atmosférica, umidade, potencial redox, temperatura e radiação solar, profundidade e cobertura vegetal, interações entre organismos e impactos antropogênicos. Esses fatores agem simultaneamente e geralmente estão inter-relacionados, por isso, é difícil modificar um deles sem modificar outros (Moreira e Siqueira, 2006). Como os microrganismos também possuem seus próprios requerimentos nutricionais, parte dos nutrientes liberados durante o processo de decomposição pode ser imobilizada na biomassa microbiana. Dentre os elementos que são frequentemente imobilizados destacam-se o N, P e S (Junior e Mendes, 2007). Com a decomposição de materiais orgânicos vegetais e animais uma parte dos nutrientes mineralizados pode ser utilizada pelas plantas, por isso são empregados na agricultura na forma de composto orgânico.

A compostagem e a vermicompostagem já está bem estabelecida nos sistemas agrícolas, notadamente nos cultivos em sistema de agricultura familiar ou nos cultivos orgânicos. Diversos tipos de materiais orgânicos são utilizados para produção de compostos orgânicos, como por exemplo, esterco fresco de animais, restos de culturas, leguminosas, etc., através dos processos de fermentação aeróbica e anaeróbica (Santos et al., 2014). A compostagem é definida como um processo aeróbico controlado, desenvolvido por uma população diversificada de micro-organismos, efetuada em duas fases distintas: na primeira ocorrem as reações bioquímicas mais intensas, predominante termofílicas; na segunda, chamada de fase de maturação, ocorre o processo de humificação (Pereira Neto, 1987). O composto pode, também, passar por um processo de vermicompostagem, que é o resultado da combinação da ação de minhocas e dos micro-organismos que habitam seus intestinos, dando origem ao vermicomposto (Albanel et al., 1988).

O composto orgânico possui cor escura, é rico em húmus e sua composição varia de acordo com a natureza da matéria-prima utilizada (Cunha, 2008). O benefício proporcionado pelo composto orgânico para o solo não é apenas o de fornecer nutrientes para as plantas, mas, principalmente de atuar melhorando suas propriedades físicas e biológicas (Oliveira et al., 2004), promovendo a solubilização de nutrientes em solos minerais, melhorando a estrutura (granulação) do solo, favorecendo uma maior atividade microbiana, promovendo a elevação da capacidade de troca cátions do solo, melhoria da capacidade tampão do pH do solo e redução da toxidez por pesticidas e de outras substâncias tóxicas (Campanhola e Valarini, 2001; Oliveira et al., 2004; Petry et al., 2012).

Outra prática conservacionista na agricultura que tem como objetivo auxiliar a fertilização dos solos, aumentando a diversidade da biota é a adubação verde (Silva et al., 2013). A prática da adubação verde proporciona diversas vantagens como: aumento do teor de matéria orgânica, da retenção da água no solo e da capacidade de troca de cátions, redução dos índices de erosão, da perda de nutrientes e da quantidade de plantas invasoras e ataque de pragas e doenças, (Alcântara et al., 2000). O adubo verde pode ser utilizado em associação, sucessão ou rotação com a cultura comercial (Gomes et al., 2005). As principais espécies utilizadas como adubação verde, são as leguminosas (Alcântara et al., 2000) que, além de proporcionarem benefícios similares aos obtidos com as

outras espécies empregadas para essa prática, formam associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, incorporando quantidades expressivas de nitrogênio nos sistemas de cultivo (Corrêa et al., 2014).

A aquisição de nitrogênio (N) através do mecanismo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) é utilizada pelos diferentes tipos de ecossistemas do planeta. Em 1883 foi realizada a primeira descrição de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (Deaker et al., 2004), conhecidas também como diazotróficas.

Os organismos diazotróficos podem ser encontrados em vida livre, associados ou em simbiose com as plantas. Em razão de sua capacidade de sobreviver em ambientes deficientes em nitrogênio, as bactérias diazotróficas associativas podem enriquecer seletivamente a rizosfera, local em que habitam (Kuss et al., 2007). A FBN é uma importante via de incorporação de nitrogênio ao ecossistema, e constantemente é reciclado para a atmosfera principalmente pela ação de organismos decompositores da matéria orgânica do solo, podendo ser por meio da morte e decomposição das bactérias diazotróficas ou das plantas associadas ou em simbiose com essas bactérias (Marin et al., 1999).

A adubação verde está se tornando uma prática comum nos sistemas de produção, sendo importantes os estudos relacionados principalmente com a taxa liberação dos nutrientes, quantidade de N na biomassa vegetal, e formas de manejo que proporcionem a liberação de nutrientes para a cultura agrícola na época de maior demanda nutricional (Diniz et al., 2007). Nas plantas, o nitrogênio é um componente essencial em várias reações além de fazer parte da estrutura da molécula da clorofila, de enzimas e de proteína (Taiz e Zeiger, 2006).

Diniz (2011) avaliou doses de adubo verde (0, 3, 6, 9 t ha⁻¹) na produção de brócolis, com adição doses de composto orgânico e dois tratamentos testemunhas: 100% da recomendação nitrogenada na forma mineral e testemunha absoluta, sem adubação. O adubo verde foi aplicado no dia do transplântio dos brócolis. Aos 60 dias após o transplântio, a área do dossel das plantas que receberam as doses de adubo verde foi significativamente maior do que a área do dossel das plantas da testemunha absoluta, e a área do dossel das plantas de brócolis que receberam 9 t ha⁻¹ de adubo verde + composto foi superior à das plantas que receberam 25 t ha⁻¹ de composto orgânico, indicando o potencial de uso desses materiais.

Segundo Hernani et al. (1995), o manejo da matéria orgânica mediante rotação de culturas, adubação verde e consorciação de culturas pode proporcionar melhor aproveitamento de adubos químicos e possibilitar redução nos custos com adubação nitrogenada mineral, uma vez que possibilita o aumento da atividade microbiana do solo.

Os micro-organismos do solo podem ser considerados bons indicadores da qualidade do solo, devido a sua capacidade de responder rapidamente a mudanças advindas de alteração no manejo ou uso da terra, além de que a atividade microbiana reflete a influência conjunta de todos os fatores que regulam a degradação da matéria orgânica e a transformação dos nutrientes. Dessa forma, um solo de alta qualidade deve possuir atividade biológica intensa e possuir populações microbianas diversificadas (Chaer et al., 2014). Outro grupo de micro-organismos importante no crescimento e nutrição das plantas são as bactérias promotoras de crescimento vegetal, também conhecidas como PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria) (Glick, 2012). Estas bactérias recebem tal denominação por atuarem promovendo o crescimento das plantas através de vários processos, através da disponibilização de nutrientes, da produção de reguladores de crescimento vegetal e/ou proteção contra fitopatógenos (Glick, 2012).

As interações microbianas no solo podem ser importantes para os diferentes processos microbiológicos e bioquímicos, e proporcionam um aumento na produção de alimentos, além da conservação da qualidade ambiental (Leite e Araújo, 2007). Porém, algumas práticas realizadas, como a adubação ou remoção de elementos pelas culturas e o tipo de manejo (plantio convencional ou direto, sistema orgânico ou convencional), podem influenciar benéficamente ou não as interações microbianas no solo (Araújo e Monteiro, 2007). De acordo com Araújo et al., (2001) a adubação orgânica ou convencional aumenta a atividade e a biomassa microbiana, porém, a nodulação, fixação biológica do nitrogênio, e a micorrização são prejudicados pela alta adubação nitrogenada e fosfatada, respectivamente.

2.3. Influencia do biocarvão na atividade microbiana do solo

Pouco se sabe sobre os efeitos do biocarvão nos micro-organismos do solo e conseqüentemente, sobre o balanço de carbono no solo (Glaser, 2006). A variabilidade estrutural que o biocarvão pode ter de acordo com o seu material de origem dificulta ainda mais o entendimento desses efeitos.

A estrutura do biocarvão permite a manutenção da umidade, criando um hábitat ideal para proliferação de micro-organismos aeróbicos nesses poros (Steinbeiss et al., 2009). Além disso, o biocarvão proporciona modificações físico-químicas no solo resultando no aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) do solo. Esta CTC permite a adsorção de elementos minerais que, por sua vez, podem atuar sobre o crescimento microbiano e sobre a taxa de mineralização de compostos orgânicos (Muhammad et al., 2014). Além disso, o biocarvão geralmente apresenta pouco N inorgânico o que, de acordo com Atkinson et al., (2010) pode favorecer o crescimento das bactérias diazotróficas.

A alteração da atividade microbiana do solo devido a aplicação do biocarvão foi verificado através de métodos como análise do DNA genômico total (O'Neil et al., 2007), contagem em placa (Jin, 2010; Liang et al., 2010).

A influência do biocarvão na atividade de fungos micorrizicos foi verificada por Warnock et al. (2007). De acordo com estes autores pelo menos quatro mecanismos poderiam explicar como o biocarvão pode alterar a abundância total e/ou atividade dos fungos micorrizicos no solo e nas raízes das plantas. Primeiro, o biocarvão adicionado ao solo altera a disponibilidade de nutrientes além de causar modificações nos parâmetros físico-químicos do solo que influenciam a relação entre as plantas hospedeiras e fungos micorrizicos. Segundo, a adição do biocarvão no solo pode proporcionar alterações em outros micro-organismos do solo, como por exemplo, bactérias auxiliadoras micorrizicas (MHB) ou bactérias solubilizadoras de fosfato (PSB). Terceiro, a alteração dos processos de sinalização dos fungos micorrizicos com as raízes das plantas pelo biocarvão e quarto, a utilização dos poros do biocarvão como habitat para organismos herbívoros de hifas.

2.4. Mamoeiro

O mamoeiro cultivado comercialmente (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, a qual está dividida em cinco gêneros, com 31 espécies: *Carica* (21 espécies), *Jacaratia* (6 espécies), *Cylicomorpha* (2 espécies), *Jarilla* (1 espécie) e *Horovitzia* (1 espécie) (Dantas e Neto, 2000). Ainda não se sabe a verdadeira origem do mamoeiro, porém, Faria et al. (1994) sugerem que esta espécie tenha sido originada no nordeste da América do Sul, mais precisamente na parte alta da Bacia Amazônica e só após a descoberta do Novo Mundo, o mamoeiro foi distribuído nos trópicos, principalmente na África e Ásia.

Atualmente, Brasil se destaca entre os maiores produtores mundiais de mamão (Fontes et al., 2012; Pinto et al., 2013). A alta produção começa com mudas de qualidade obtidas através da escolha de um adequado sistema de irrigação, recipientes, substratos e fertilizantes, principalmente os de liberação lenta (Paixão et al., 2012). A qualidade do mamão também é influenciada por fatores de pré-colheita, como densidade de plantio e adubação, os quais podem reduzir a vida útil do fruto (Godoy et al., 2010).

O mamoeiro pode ser propagado por meio de processos vegetativos, entretanto a propagação seminífera continua sendo o meio tradicional para a formação de plantios comerciais no Brasil. A produção através deste processo é lenta e irregular, podendo ser influenciada por diversos fatores, como estágio de maturação dos frutos, repouso pós-colheita de frutos, tipo de secagem, remoção de sarcotesta, tamanho da semente, posição da semente no fruto e condições de armazenamento (Cardoso et al., 2009).

Sabendo da importância da cultura do mamão e sua deficiência, estudos sobre variabilidade genética são fundamentais, pois o cultivo do mamoeiro é vulnerável a fatores bióticos e abióticos, como ataque de pragas e doenças, variações climáticas, estresse hídrico e estresse salino, assim, a caracterização e a exploração dessa variabilidade genética podem revelar recursos genéticos de grande valor (Dantas et al., 2015). Diversos países trabalham na variabilidade genética e atualmente existem cerca de 30 espécies de *Carica* sp. em todo o mundo, a fim de preservar, caracterizar e avaliar o germoplasma existente, isso porque a modificação genética é uma das maiores preocupações atuais (Cabello et al., 2014).

No Brasil, a maior parte da cultura do mamão encontra-se implantada em solos de baixa fertilidade (norte do Estado do Espírito Santo e Extremo Sul da Bahia), principalmente no que se refere aos níveis de fósforo, o que leva à utilização de altas doses de fertilizantes, sendo eles de 180 a 400 de N, 90 a 300 de P₂O₅, 72 a 449 de K₂O em g planta⁻¹ nos dois primeiros anos de cultivo. Essas variações nas doses recomendadas estão ligadas não só às diferenças edafoclimáticas, mas também às produtividades esperadas e condições de irrigação. Altas quantidades de nutrientes, como o N, P e K são exportadas pelos frutos, sendo necessária a adubação no solo para a reposição desses elementos a cada ano de produção (Oliveira et al., 2004). A redução dos custos com adubação pode ser obtida com manejos que incluam a entrada de material orgânico no solo.

2.5 Bombas de Prótons

As proteínas que desempenham função em gradientes iônicos foram reveladas por meio de estudos bioquímicos e biofísicos. As bombas são proteínas de membrana que realizam o transporte ativo primário de íons como o H⁺ ou Ca²⁺ e podem também ser caracterizadas como eletrogênicas ou eletroneutras. Na membrana plasmática de plantas, fungos e bactérias, assim como no tonoplasto das plantas e outras endomembranas de plantas e animais, o próton (H⁺) é o principal íon que é transportado eletrogenicamente. A H⁺-ATPase da membrana plasmática é um sistema que gera um gradiente de potencial eletroquímico de H⁺ através da membrana plasmática, enquanto a H⁺-ATPase vacuolar e a H⁺-pirofosfatase (H⁺-PPase) geram o mesmo gradiente transmembranar para o interior do lúmen do vacúolo e também cisternas do Golgi (Taiz & Zeiger, 2006).

Na membrana plasmática das plantas, as mais importantes bombas são as H⁺ e Ca²⁺-ATPases e bombeiam o íon para o meio exterior, ou apoplasto. Conseqüentemente, outro mecanismo é necessário para direcionar a absorção ativa da maioria dos nutrientes, chamado transporte secundário de H⁺. Nele os solutos podem ser transportados pela membrana, a favor de um gradiente eletroquímico, por meio da combinação do H⁺ com o íon. Este tipo de co-

transporte é denominado de transporte secundário de H^+ (Morsomme & Boutry, 1999).

A H^+ -ATPase do tipo P é uma glicoproteína transmembranar com importantes funções no desenvolvimento da célula vegetal. É uma bomba eletrogênica que hidrolisa ATP para gerar um movimento de H^+ em direção ao apoplasto, este gradiente de prótons atua como uma força motriz para viabilizar transporte ativo de íons e outros metabólitos, por meio de sistemas secundários de transporte que realizam o co-transporte de íons H^+ acoplado ao transporte de substâncias para dentro e fora da célula (Hu-Cheng et al., 2003). A H^+ -ATPase vacuolar e a H^+ -pirofosfatase (H^+ -PPase) geram o gradiente transmembranar do tonoplasto, a membrana do vacúolo, e também nas membranas das cisternas do Golgi e retículo endoplasmático. Sabe-se que as H^+ -ATPases de células vegetais em contato direto com bactérias fixadoras de nitrogênio geram gradientes eletroquímicos que coordenam e facilitam o movimento de malato e amônio entre a planta e o bacterióide (Day et al., 1995).

3. TRABALHOS

**EFEITO DO BIOCARVÃO ASSOCIADO OU NÃO A COMPOSTO ORGÂNICO
E URÉIA SOBRE A POPULAÇÃO MICROBIANA EM ESPODOSSOLO**

RESUMO

O trabalho objetivou avaliar o potencial do biocarvão, do composto orgânico e da ureia aplicados individualmente ou associados sobre o crescimento de micro-organismos de Espodosolo em diferentes fases de avaliação: fase 1: após a incubação do solo (20 dias); fase 2: após o cultivo deste solo com mucuna (*Mucuna aterrima*); e fase 3: após a deposição e decomposição da mucuna nos vasos. Os tratamentos constaram de um fatorial 2x2x2, sendo: ausência e presença de biocarvão x ausência e presença de composto orgânico x ausência e presença da adubação nitrogenada (ureia). Na fase 1 (pós incubação) o biocarvão apresentou efeito positivo sobre os níveis populacionais de fungos e de bactérias totais crescidos em meio caldo nutriente sólido onde não foi aplicado N ou composto orgânico (controle). Sem a aplicação do biocarvão o composto orgânico aumentou a densidade populacional das bactérias totais. A aplicação de composto, de N ou do biocarvão não influenciou o tamanho das populações de bactérias fixadoras de nitrogênio em meio semi-sólido com malato como fonte de carbono. O biocarvão não promoveu efeitos negativos sobre a população de fungos totais, bactérias totais e bactérias diazotróficas no solo. No presente trabalho os efeitos benéficos mais evidentes da aplicação do biocarvão no solo ocorreram para os fungos e bactérias totais, principalmente nas fases iniciais e no manejo controle, indicando a importância do biocarvão em solos com baixos teores de N e de matéria orgânica.

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the potential of biochar, organic compound and urea applied individually or associates about the growth Spodosol of microorganisms in different evaluation phases: Phase 1: After incubation of the soil (20 days); Phase 2: After the cultivation of soil with velvet beans (*Mucuna aterrima*); and Phase 3: After the deposition and decomposition of *Mucuna* in the vessels. The treatments are contained in a 2x2x2 factorial, with: absence and presence of biochar x absence and presence of organic compound x absence and presence of nitrogen fertilizer (urea). In phase 1 (after incubation) biochar had a positive effect on the population levels of total fungi and bacteria grown on solid nutrient broth which was not applied N or organic compound (control). Without the application of biochar the organic compound increases the density of total bacteria. The application of the compound, N or biochar not influence the size of populations of nitrogen-fixing bacteria in semi-solid medium with malate as carbon source. Biochar did not cause negative effects on the population of total fungi, total bacteria and nitrogen fixing bacteria in the soil. In this work the most obvious benefits of the application of biochar in the soil occurred for fungi and total bacteria, especially in the early stages and management control, indicating the importance of biochar in soils with low levels of nitrogen and organic matter.

INTRODUÇÃO

No Norte Fluminense as áreas de restinga da Baixada Campista, são caracterizadas pela presença de Espodosolos (Carvalho Filho et al., 2003). Estes solos, apresentam grandes restrições ao cultivo das plantas devido sua textura arenosa (cerca de 95% de areia), baixa CTC, soma de bases e teor de matéria orgânica. Os cultivos nesses solos requerem altas adubações, notadamente de nitrogênio e potássio, que apresentam grandes perdas onerando o manejo da adubação, sendo recomendada a prática da aplicação de matéria orgânica para melhorar suas condições químicas, físicas e biológicas (Freire, 2013), as quais podem ser fornecidas na forma de composto orgânico ou adubo verde.

O composto orgânico pode fornecer até 97 % da CTC do solo e complexar elementos tóxicos como o Al, além de imobilizar temporariamente o P na biomassa o que diminui a ocorrência de P não lábil. Por aumentar a diversidade de espécies microbianas o composto orgânico diminui a chance de ocorrência de doenças devido à competição, antibiose, parasitismo ou predação e indução sistêmica de resistência do hospedeiro, além de funcionar como um estimulante fito-hormonal, resultando em plantas mais equilibradas (Freire, 2013). Micro-organismos do solo podem ser considerados como bons indicadores da qualidade do solo, por sua capacidade de responder rapidamente a mudanças advindas da alteração no manejo ou uso da terra e pelo fato de que a atividade microbiana

reflete a influência conjunta de todos os fatores que regulam a degradação da matéria orgânica e a transformação dos nutrientes (Chaer et al., 2014).

As interações microbianas do solo são importantes para os diferentes processos microbiológicos e bioquímicos e proporcionam um aumento na produção de alimentos, além da conservação da qualidade ambiental (Leite e Araújo, 2007). Dentre elas estão as interações entre bactérias comensais e fungos micorrízicos, as quais estão envolvidas na sinalização e colonização micorrízica de raízes de plantas (Warnock et al., 2007). Além das bactérias promotoras de crescimento vegetal, também conhecidas como PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria), que são capazes de promover o crescimento das plantas através de diferentes mecanismos (Barretti et al., 2009; Glick, 2012) de fundamental importância no sistema solo-planta. Algumas práticas de cultivo como adubação ou remoção de elementos pelas culturas e tipo de manejo (plantio convencional ou direto, sistema orgânico ou convencional) podem influenciar benéficamente ou não as interações microbianas no solo (Araújo e Monteiro, 2007).

O biocarvão, também conhecido como biochar, vem sendo testado para aplicação no solo visando o aumento da fertilidade. O biocarvão é produzido pela chamada decomposição térmica do material orgânico (biomassa como madeira, cama de frango, esterco ou folhas) sob baixas pressões parciais de oxigênio (O_2), podendo ser a baixas temperaturas ($<700\text{ }^\circ\text{C}$) (Prins et al., 2006), denominada pirólise lenta; ou através da pirólise ultra rápida (PUR) que utiliza altas temperaturas e dispositivos que permitem altas velocidades de aquecimento a curto tempo de residência (poucos segundos) (Luengo et al., 2008)

O que torna o biocarvão atraente como condicionador do solo é sua estrutura altamente porosa, sendo responsável pela retenção de água, além de aumentar a superfície específica e por consequência a CTC do solo (Glaser et al., 2002). Segundo Barrow (2012), a estrutura interna complexa do biocarvão fornece um nicho adaptativo potencialmente valioso para os micro-organismos e subsequente de biofilmes. Assim, a adição do biocarvão no solo pode melhorar as propriedades químicas e físicas do solo e modificar a densidade populacional e atividade de micro-organismos (Jindo et al., 2012). Essas modificações nos atributos do solo podem ser uma ferramenta importante na recuperação dos Espodossolos localizados no Norte Fluminense que apresentam grandes

restrições ao cultivo das plantas e que atualmente vem sendo utilizado para o cultivo do coco. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do biocarvão, do composto orgânico da adubação nitrogenada e a interação desses fatores sobre o crescimento de bactérias diazotróficas, fungos e bactérias totais do solo após o período de incubação, após cultivo de adubo verde e após a decomposição do adubo verde.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na casa de vegetação do laboratório de solos (CCTA) da UENF – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, com o delineamento experimental em blocos casualizados (6 blocos) em esquema fatorial 2x2x2, sendo: ausência e presença de biocarvão x ausência e presença de composto orgânico x ausência e presença da adubação nitrogenada para coqueiro (Sobral, 2002), que foi de 116,45 mg dm⁻³ (correspondendo a 50% da dose recomendada para coqueiro) aplicado na forma de ureia.

O experimento constou de três fases. Fase 1: incubação de 3,2 dm⁻³ do solo (a 60% da capacidade de campo) com os tratamentos, por 20 dias em sacolas plásticas fechadas e com renovação do ar a cada sete dias. Após esse período foram coletadas amostras de 10 g do solo para avaliação microbiológica e o restante do solo foi colocado em vasos, onde foram cultivadas plantas de mucuna correspondendo a fase 2 do experimento.

As sementes de mucuna foram semeadas em copo plástico descartável e após a germinação foram transferidas para os vasos (duas plântulas por vaso), sendo irrigadas diariamente e cortadas aos 40 dias após o transplântio. Na ocasião do corte da mucuna, foram coletadas novas amostras do solo dos vasos (10 g) à cerca de 5 cm de profundidade para nova avaliação microbiológica.

Metade da biomassa fresca das plantas de mucuna foram picadas e depositadas sobre o solo dos vasos, os quais foram cobertos com sacolas plásticas perfuradas para evitar a perda do material vegetal. Os vasos receberam

150 mL de água a cada sete dias durante cinco meses, quando foram coletadas novas amostras de solo para avaliação microbiológica correspondendo a etapa 3 do experimento.

Os vasos foram confeccionados com dois anéis de PVC (15 cm diâmetro) com 15 cm de altura cada, sendo que o primeiro anel recebeu os tratamentos e o segundo anel teve somente solo (sem tratamentos). O resumo das fases do experimento pode ser observado na Figura 1.

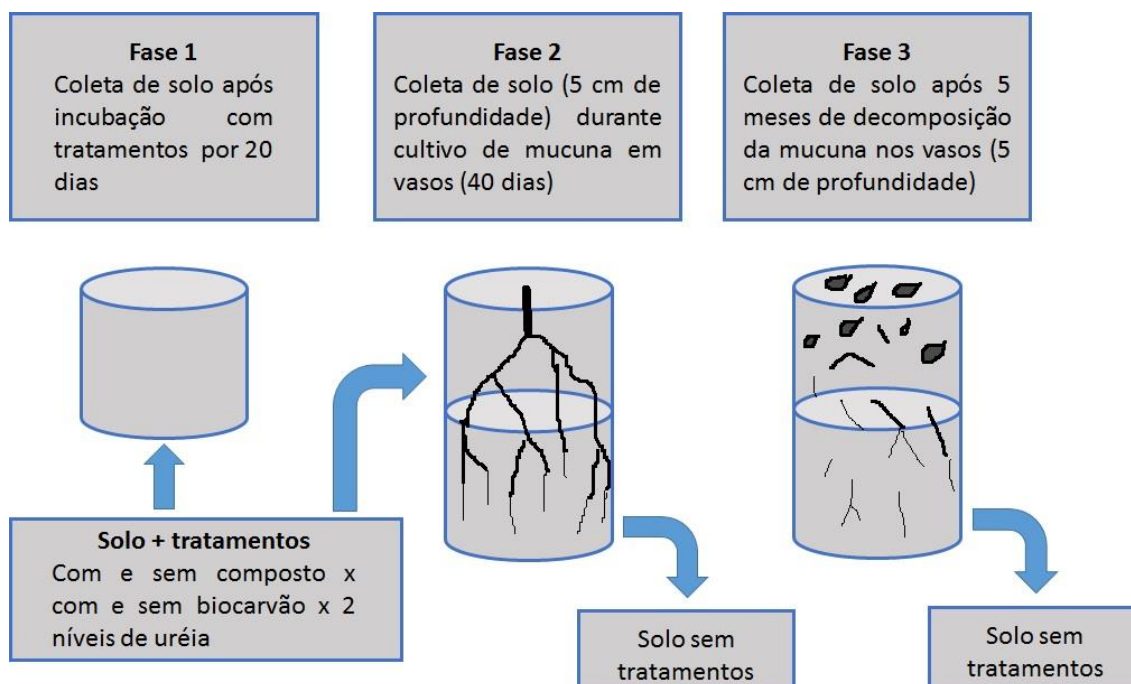


Figura 1. Esquema das três fases da condução do experimento. Nas fases 2 e 3 o solo com os tratamentos foram condicionados somente na porção superior dos vasos (0 – 15 cm) onde também foram coletadas as amostras para avaliação microbiana.

O solo do experimento foi coletado em um coqueiral de área de restinga na profundidade de 0 – 40 cm, sendo classificado como Espodossolo (Carvalho Filho et al., 2003) e como Gleyic Entic Podzols segundo a classificação da FAO (Gardi et al., 2014).

Quadro 1. Caracterização química do solo utilizado na instalação do experimento (Metodologia de acordo com EMBRAPA, 1997).

pH*	5,40
P (mg dm ⁻³) **	9,00
K (mg dm ⁻³) **	29,00
Ca (cmol _c dm ⁻³) ***	1,50
Mg (cmol _c dm ⁻³) ***	0,40
Al (cmol _c dm ⁻³) ***	0,10
H + Al (cmol _c dm ⁻³) ****	3,3
Na (cmol _c dm ⁻³) **	0,08
SB (cmol _c dm ⁻³)	2,10
T (cmol _c dm ⁻³)	5,4
t (cmol _c dm ⁻³)	2,2
C (%)	1,10
m (%)	5,00
V (%)	35,00
MO (g dm ⁻³) *****	19,1
Fe (mg dm ⁻³) **	7,00
Cu (mg dm ⁻³) **	0,2
Zn (mg dm ⁻³) **	1,90
Mn (mg dm ⁻³) **	1,40
B (mg dm ⁻³) **	0,48

*pH em água; **Mehlich (H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹ + HCl 0,05 mol L⁻¹), ***KCl 1 mol L⁻¹, **** Acetato de cálcio pH 7, ***** dicromato de potássio/colorimétrico.

O biocarvão utilizado foi produzido a partir da pirólise de cama de aviário a 700 °C, pelo SPPT Pesquisas Tecnológicas Ltda, Mogi-Mirim, SP. Foi utilizado 1% do volume do vaso no tratamento com biocarvão.

O composto orgânico foi produzido a partir de coco triturado e compostado com esterco bovino, sendo utilizado 10% do volume total do solo no tratamento com composto.

Quadro 2. Caracterização química do biocarvão e do composto orgânico utilizado no experimento (Metodologia de acordo com EMBRAPA, 1997).

	Unidade	Biocarvão*	Composto orgânico*
pH ¹		8,9	6,4
Umidade	%		41,6
N	g kg ⁻¹	42,91	12,3
P ₂ O ₅	g kg ⁻¹	27,62	2,6
K ₂ O	g kg ⁻¹	62,32	5,9
Ca	g kg ⁻¹	6,7	5,4
Mg	g kg ⁻¹	9,04	2,1
S	g kg ⁻¹	5,20	
C	g kg ⁻¹	331,20	824
Fe	mg kg ⁻¹	1621	2816
Cu	mg kg ⁻¹	636	19
Zn	mg kg ⁻¹	588	50
Mn	mg kg ⁻¹	588	92

¹pH em água; * Digestão total

As avaliações microbiológicas foram realizadas a partir do método de diluição seriada. Para tal, foram coletadas 10 g de amostras de solo, colocadas em recipientes de vidro de 100 mL e adicionados 90 mL de solução salina estéril (8,5 g/L de NaCl). Os vidros foram colocados em incubadora shaker a 170 rpm por 30 minutos para a decantação do solo (solução A).

Um mL da solução A foi transferida para tubos de ensaio, contendo um volume de 9 mL de solução salina (esterilizada) correspondendo a diluição 10⁻². Novamente um mL dessa diluição foi transferida para outros tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina. Esse procedimento foi realizado sucessivamente até a diluição 10⁻⁶ (Figura 2).

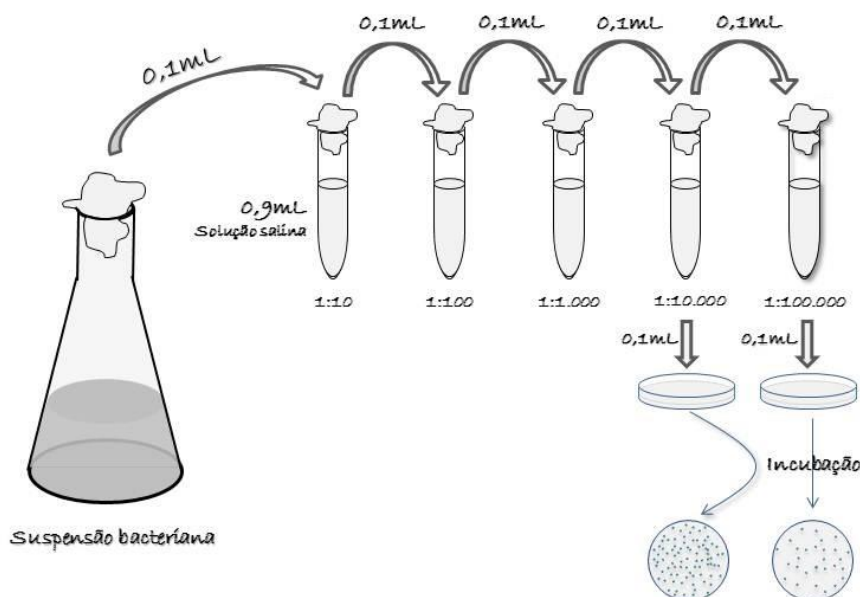


Figura 2. Técnica de diluição seriada para determinação do número de unidades formadoras de colônias de fungos e bactérias no solo.

A análise das bactérias e fungos totais para as três fases do experimento, foi realizada em placas de Petri, com aproximadamente 20 mL do meio NB (0,5% peptona, 0,3% extrato de carne, 0,2% K_2HPO_4 , 0,05% KH_2PO_4) acrescido de 10 g L^{-1} de agar. Uma alíquota de 100 μL das diluições 10^{-5} e 10^{-6} de todas as amostras foram semeadas com o auxílio da alça de Drigalski sobre toda a superfície das placas, as quais foram colocadas para incubação em BOD a 30 °C, sendo monitoradas diariamente quanto a presença de colônias ou contaminações. Após cerca de 5 dias de incubação foi realizada a contagem total de UFC (Unidade Formadora de Colônia) de fungos e bactérias.

Para avaliação das bactérias diazotróficas, foram retiradas alíquotas de 100 μL das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} e inoculadas na parte central de recipientes de 16 mL de capacidade, contendo 5 mL do meio semi-sólido JNFB A B C 20, livres de N, composto por: ácido málico (5g L^{-1}), K_2HPO_4 (sol. 10%, 5 mL L^{-1}), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (sol. 10 %, 2 mL L^{-1}), NaCl (sol. 10 %, 1 mL L^{-1}), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (sol. 1 %, 2 mL L^{-1}), Fe-EDTA (sol. 1,64 %, 4 mL L^{-1}), azul de bromotimol (sol. 0,5 % em 0,2N de KOH, 2 mL L^{-1}), solução de micronutrientes para meio de cultura (2 mL L^{-1}), vitamina para meio de cultura (1 mL L^{-1}), KOH (4,5 g) e agar (1,6 g). O pH foi ajustado para 6,5 (Döbereiner et al., 1995).

Os recipientes foram fechados com tampão de algodão e colocados em BOD a 30°C por aproximadamente uma semana. Nesse período foram avaliadas, visualmente, a presença ou não de película aerotóxica que se forma na parte superior do recipiente. Em seguida os valores encontrados foram calculados e transformados através da tabela de McCrady para número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas.

Os dados de todas as análises foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e a diferença entre os tratamentos foi aferida através do Teste de Tukey a um nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os fungos totais na primeira fase (Fase 1 - após o período de incubação), as estimativas populacionais ficaram abaixo do limite de detecção para diluição utilizada (Figura 3) nos tratamentos controle e com aplicação do composto independente da aplicação do biocarvão. O mesmo ocorreu com a aplicação do N, mas sem a aplicação do biocarvão. A aplicação de N juntamente com o biocarvão e do N + composto com e sem biocarvão proporcionou um incremento da densidade populacional de fungos, sendo maior com a aplicação do biocarvão e composto orgânico. O biocarvão somente proporcionou aumento na UFC para fungos totais quando aplicado junto com o N no solo.

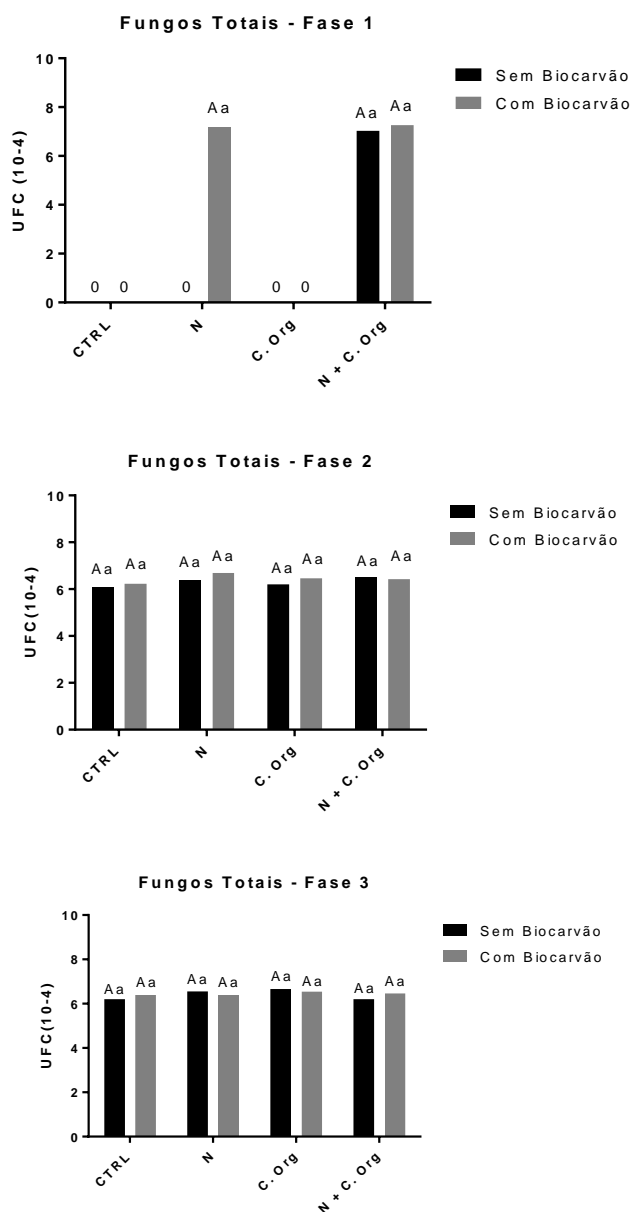


Figura 3. Fungos totais em espodossolo submetido a quatro manejos: Controle (CTRL), Nitrogênio (N), Composto Orgânico (C. Org.) e Nitrogênio mais Composto Orgânico (N + C.Org.) em presença e ausência de biocarvão. Aos 20 dias após o início da incubação do solo (Fase 1), após o cultivo da mucuna (Fase 2) e após a decomposição da mucuna depositada nos vasos (Fase 3). Dados transformados em log (x+1) e submetidos ao Teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam a aplicação e não aplicação do biocarvão dentro de cada manejo. Letras minúsculas comparam os diferentes manejos sem a aplicação do biocarvão e com a aplicação do biocarvão. UFC = Unidade Formadora de Colônia.

Após o cultivo (fase 2) e após a decomposição da mucuna (fase 3), para todos os tratamentos foi possível quantificar as populações de fungos totais, porém não houve diferenças significativas nas populações entre os tratamentos. Neste caso, a aplicação ou não do N, do composto orgânico ou do biocarvão não influenciou significativamente nos resultados. No manejo controle e com composto a densidade populacional dos fungos no curso da fase 1 para a fase 2 e 3 demonstrou ser crescente, sugerindo a recuperação da atividade microbiana do solo. Os resultados obtidos na fase 1 indicam a importância do biocarvão em proporcionar um rápido incremento nas colônias dos fungos no solo quando aplicado junto com o N no solo.

De acordo com Atkinson et al. (2010) os diferentes grupos de fungos presentes no solo vão ter uma resposta distinta na presença do biocarvão. É importante ressaltar que a composição do biocarvão, a quantidade e os diferentes tipos de solo vão proporcionar diferentes respostas para a microbiota presente no solo.

Para bactérias totais (Figura 4) a aplicação do biocarvão proporcionou aumento na população no controle e no manejo com a aplicação de N+composto orgânico na fase 1 e na fase 3. Por outro lado, nestas fases 1 e 3 no manejo com composto orgânico foi verificado que a aplicação do biocarvão diminuiu a população de bactérias totais. Quando não foi aplicado o biocarvão foi verificada, no manejo controle, menor população de bactérias totais quando comparado aos demais manejos (aplicação de N, composto orgânico e N+composto orgânico) nas fases 1 e 2. Nas comparações entre os tratamentos com a aplicação do biocarvão a população de bactérias foi maior com a aplicação conjunta de N + composto orgânico nas fases 2 e 3, enquanto na fase 1 a maior população de bactéria foi verificada no manejo N e N + composto orgânico.

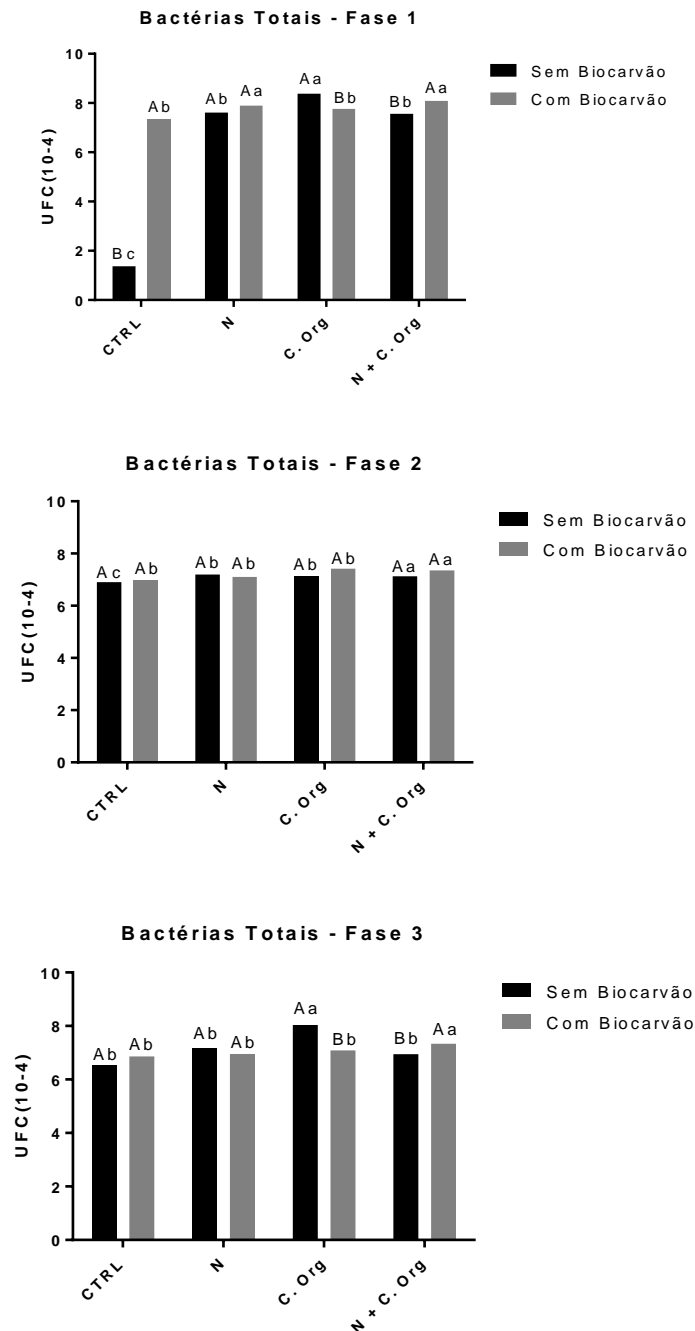


Figura 4. Bactérias totais em espodossolo submetido a quatro manejos: Controle (CTRL), Nitrogênio (N), Composto Orgânico (C. Org.) e Nitrogênio mais Composto Orgânico (N + C.Org.) em presença e ausência de biocarvão. Aos 20 dias após o início da incubação do solo (Fase 1), após o cultivo da mucuna (Fase 2) e após a decomposição da mucuna depositada nos vasos (Fase 3). Dados transformados em $\log(x+1)$ e submetidos ao teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam a aplicação e não aplicação do biocarvão dentro de cada manejo. Letras minúsculas comparam os diferentes manejos sem a aplicação do biocarvão e com a aplicação do biocarvão. UFC = Unidade Formadora de Colônia.

Prayogo et al. (2014) observaram que a quantidade de biomassa bacteriana foi aumentada pela aplicação de biocarvão no solo. Além disso, as concentrações de biocarvão influenciam a composição da comunidade microbiana, no entanto, o efeito do biocarvão foi menor do que o efeito do tempo na formação da estrutura da comunidade. No presente experimento a menor quantidade das populações detectáveis de bactérias na fase 1 no tratamento controle (sem N, sem composto e sem biocarvão) indicou baixa atividade microbiana do solo e a necessidade de entrada de composto orgânico ou do biocarvão juntamente com o N no sistema, para dar subsídios para o crescimento da população de bactérias totais.

Nas três fases do ensaio foi verificada a presença de populações de bactérias diazotróficas utilizadoras de malato (Figura 5), sem diferença significativa entre os manejos adotados ou a aplicação ou não do biocarvão.

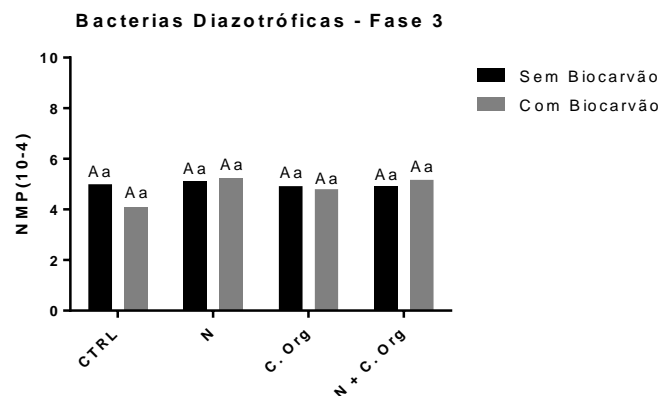
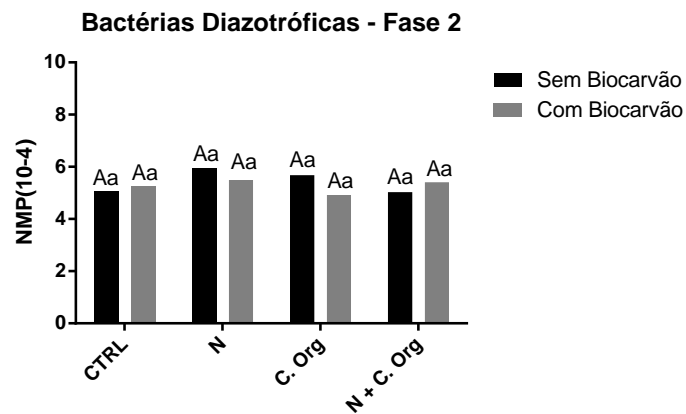
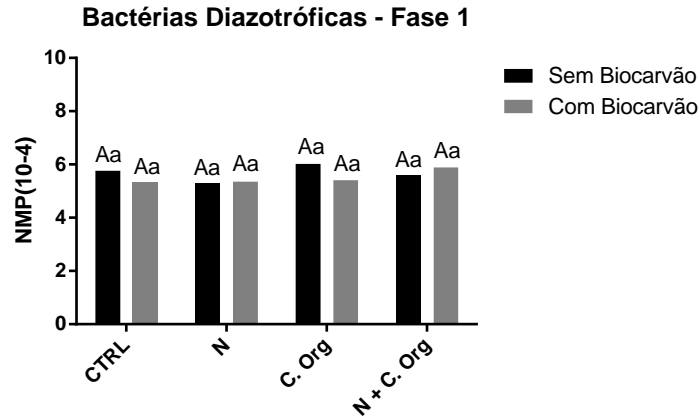


Figura 5. Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas submetido a quatro manejos: Controle (CTRL), Nitrogênio (N), Composto Orgânico (C. Org.) e Nitrogênio mais Composto Orgânico (N + C.Org.) em presença e ausência de biocarvão. Aos 20 dias após o início da incubação do solo (Fase 1), após o cultivo da mucuna (Fase 2) e após a decomposição da mucuna depositada nos vasos (Fase 3). Dados transformados em log (x+1) e submetidos ao teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam a aplicação e não aplicação do biocarvão dentro de cada manejo. Letras minúsculas comparam os diferentes manejos sem a aplicação do biocarvão e com a aplicação do biocarvão. NMP= Número Mais Provável.

De acordo com Atkinson et al. (2010) o biocarvão geralmente tem pouco N inorgânico, o que pode favorecer as bactérias diazotróficas, sendo uma vantagem competitiva para a colonização do biocarvão, no entanto isso não foi verificado no presente experimento. Noyce et al (2015) avaliando as respostas microbiana do solo após 2 anos de aplicação do biocarvão em floresta temperada verificaram que a adição de 5 mg ha^{-1} de biocarvão não foi nem benéfica nem tóxica para os micro-organismos do solo, sugerindo que o biocarvão pode ser aplicado ao solo sem que isso afete negativamente a comunidade microbiana do solo. Esta resposta foi semelhante ao observado no presente trabalho para as bactérias diazotróficas, uma vez que não foram verificados aumentos ou reduções significativas dessas bactérias.

Quilliam et al. (2013), estudando o efeito do biocarvão em bactérias diazotróficas, comenta sobre a importância de estudos em campo a longo prazo com diferentes doses de biocarvão para determinar a influência dessas aplicações nos organismos fixadores de N e para o fornecimento de dados que possam auxiliar nas decisões de gestão agronômicas e estratégias de mitigação das mudanças climáticas. No presente trabalho os efeitos benéficos mais evidentes da aplicação do biocarvão no solo ocorreram para os fungos e bactérias totais, principalmente nas fases iniciais e no manejo controle, indicando a importância do biocarvão em solos com baixos teores de N e de matéria orgânica.

CONCLUSÃO

O biocarvão promoveu um efeito positivo sobre as densidades populacionais de fungos e bactérias totais do solo aos 20 dias após a sua aplicação ao solo onde não foi aplicado N ou composto orgânico.

Sem a aplicação do biocarvão o composto orgânico aumentou a densidade populacional das bactérias totais.

A aplicação do composto orgânico, do N ou do biocarvão não influenciou na dinâmica populacional das bactérias diazotróficas.

O biocarvão não promoveu efeitos negativos sobre a população de fungos totais, bactérias totais e bactérias diazotróficas no solo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelha, M. (2010) Manual de monitorização microbiológica ambiental. Curso de especialização tecnologia em qualidade ambiental, 1-35.
- Abujabhah, I.S., Bound, S.A., Doyle, E., Bowman, J.P. (2016) Effects of biochar and compost amendments on soil physico-chemical properties and the total community within a temperate agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 98:243-253.
- Akkinson, C.J., Fitzgerald, J.D., Hips, N.A. (2010) Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant Soil*, 337:1-18.
- Araújo, A.S.F., Monteiro, R.T.R. (2007) Indicadores biológicos da qualidade do solo. *Bioscience Journal*, 23:66-75.
- Barretti, P.B., Romeiro, R.S., Mizubuti, E.S.G., Souza, J.T. (2009) Seleção de bactérias endofíticas de tomateiro como potenciais agentes de biocontrole e de promoção de crescimento. *Ciência e Agrotecnologia*, 33:2038-2044.
- Barrow, C.J. (2012) Biochar: Potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography*, 34:21-28.

- Carvalho Filho, A., Lumbreras, J.F., Wittern, K.P., Lemos, A.L., Santos, R.D., Calderano Filho, B., Calderano, S.B., Oliveira, R.P., Aglio, M.L.D., Souza, J.S., Chaffin, C.E. (2003) Mapa de reconhecimento de baixa intensidade dos solos do estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- Chaer, G.M., Gaiad, S., Santos, A.B., Grochoski, R. (2014) Caracterização microbiológica do solo. Parte IV: A biologia dos solos. In: Prado, R.B., Fidalgo, E.C.C., Bonnet, A. Monitoramento de revegetação do COMPERJ. Brasília.
- Döbereiner, J., Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. (1995) Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Seropédica.
- Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997) Manual de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro.
- Freire, L.R. (2013) Manual de calagem adubação do estado do Rio de Janeiro. Brasília, p. 430.
- Gardi, C., Angelini, M., Barceló, S., Comerma, J., Cruz, G.C., Encina Rojas, A., Jones, A., Krasilnikov, P., Santos, M., Brefin, M.L., Montanarella, L., Ugarte, M.O., Schad, P., Rodríguez, V.M.I., Vargas, R. (2014) Atlas de suelos de América Latina Y el Caribe. Unión Europea, p. 76.
- Glaser, B., Lehman, J., Zech, W. (2002) Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soil in the tropics with charcoal – a review. *Biol Fertil Soils*, 35:219:230.
- Glick, B.R. (2012) Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and application científica. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>. Acesso 07 de março de 2015.
- Jindo, K., Sánchez-Monedero, M.A., Hernández, T., García, C., Furukawa, T., Matsumoto, K. (2012) Biochar influences the microbial community structure

during manure composting with agricultural wastes. *Science of the Total Environment*, 416:476-481.

Kookana, R.S., Sarmah, A.K., Van Zwieten, L., Krull, E., Singh, B. (2011) Chapter three – biochar application to soil agronomic and environmental benefits and unintended consequences. *Advances in Agronomy*, 112:103-143.

Leite, L.F.C., Araújo, A.S.F. (2007) Ecologia microbiana do solo. Teresina, Embrapa Meio-Norte, p. 24.

Luengo, C.A., Feffi, F.E.F., Bezzon, G. (2008) Pirólise e torrefação de biomassa. In: Cortez, L.A.B., Lora, E.E.S., Gómez, E.O. Biomassa para energia. Campinas, p. 333-351.

Noyce, G.L., Basiliko, N., Fulthorpe, R., Sackett, T.E., Thomas, S.C. (2015) Soil microbial responses over 2 years following biochar addition to a north temperate forest. *Biology and Fertility of Soils*, 51:649-659.

Prayogo, C., Jones, J.E., Baeyen, J., Bending, G.D. (2014) Impact of biochar on mineralisation of C and N from soil and willow litter and its relationship with microbial community biomass and structure. *Biology and Fertility of Soils*, 50:659-702.

Prins, M.J., Ptasinski, K.J., Janssen, F.J.J.G. (2006) Torrefaction of wood. Weight loss kinetics. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 77:28-34.

Quilliam, R.S., Deluca, T.H., Jones, D.L. (2013) Biochar application reduces nodulation but increases nitrogenase activity in clover. *Plant and Soil*, 366:83-92.

Sobral, L.F. (2002) Adubação do coqueiro. In: Fontes, H.R., Ferreira, J.M.S., Siqueira, L.A. Sistema de produção para cultura do coqueiro. MAPA.

Warnock, D.D., Lehman, J., Kuyper, T.W., Rillig, M.C. (2007) Mycorrhizal responses to biochar in soil – concepts and mechanisms. *Plant and Soil*, 300:9-20.

**A MODULAÇÃO DIFERENCIAL DAS BOMBAS DE PROTONS É O CENTRO
DA RESPOSTA DE CRESCIMENTO DE *Carica papaya* MEDIADA PELO
BIOCARVÃO**

RESUMO

O biocarvão é uma alternativa promissora, por ser uma tecnologia de emissões negativas (negative emissions technologies NETs), sendo visado para diminuir o impacto causado pela agricultura. Sabendo das qualidades do biocarvão, é notável a importância da sua utilização como tecnologia inovadora para promover o aumento da produção, minimizando os impactos negativos dos gases do efeito estufa e dos fertilizantes utilizados em demasia na agricultura, porém, são necessários estudos mais específicos para entendimento da influência do biocarvão nas plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do biocarvão no crescimento, nutrição das plantas de *Carica papaya* L. e nas atividades das bombas de H^+ isoladas das raízes deste vegetal. Plantas tratadas com biocarvão apresentaram incrementos significativos em todos os parâmetros de crescimento e um aumento considerável no acúmulo de nutrientes tanto na parte aérea como na raiz. Houve uma redução na atividade das bombas P-ATPase e V-ATPase, e um aumento na atividade da V-PPase, porém, são necessários mais estudos para a real influência do biocarvão nas bombas de H^+ .

ABSTRACT

Biochar is a promising alternative, as a negative emissions technology (negative emissions technologies NETs), which aimed to reduce the impact of agriculture. Knowing the biochar qualities, it is remarkable the importance of using biochar as innovative technology to promote increased production, minimizing the negative impacts of greenhouse gases and fertilizers used excessively in agriculture. However, we need more specific studies to understand the influence of biochar in plants. The objective of this study was to evaluate the influence of biochar on growth and nutrition of plants *Carica papaya* L. and the activities of H⁺ pumps isolated from the roots of this plant. Plants treated with biochar showed significant increases in all parameters of growth and a considerable increase in the nutrient accumulation in the shoot and root. There was a decrease in the activity of the pumps P-ATPase and V-ATPase, and an increase in the activity V-PPase, however, further studies are needed to understand the actual influence of biochar on H⁺ pumps.

INTRODUÇÃO

Atualmente estima-se que a marca da população mundial esteja em 8 bilhões de habitantes (ONU, 2008), sendo que esse número tende a aumentar cada vez mais com o passar dos anos. Consequentemente a necessidade do aumento da produção na agricultura é inquestionável e desta forma o emprego de fertilizante se torna de fundamental importância para suprir a crescente demanda por alimentos (Casarin, 2012). A agricultura é considerada uma grande fonte de emissão antrópica de gases do efeito estufa (GEE), principalmente de fertilizantes que possuem óxido nitroso (N_2O) na sua composição, o qual representa 60% desta emissão em relação aos demais gases (Bhatia et al., 2010) e possui um potencial de aquecimento global 298 vezes maior do que o dióxido de carbono (CO_2) (Forster et al., 2007).

Com o aumento da emissão dos gases poluentes a principal consequência é o aumento da temperatura, que afeta drasticamente o clima e influencia negativamente a fauna, flora e os ecossistemas (Tavoni et al., 2015). Para evitar esse aquecimento, o cenário mais recente traz, através da avaliação de modelos integrados (integrated assessment models IAMs), a implantação de tecnologias de emissões negativas (negative emissions technologies NETs) em grande escala, ou seja, tecnologias que resultem na remoção de CO_2 /GEE da atmosfera (Riahi et al., 2015).

Entre essas tecnologias destaca-se o biocarvão, cuja utilização no solo, representa um papel significativo no sequestro e retenção de CO_2 da atmosfera

(Major et al., 2010). Existem quatro benefícios gerais para aplicação de carbono pirogênico no solo agrícola: sequestro de C, redução de emissão de N_2O , incremento dos níveis de carbono orgânico do solo e aumento do rendimento das culturas (Kauffman et al., 2014). Durante o processo de formação do biocarvão a maior parte dos macros e micronutrientes e cerca de metade do N existentes na matéria-prima retornam para o solo quando este biocarvão é utilizado como corretivo/condicionador do solo, promovendo assim a maior disponibilidade de nutrientes para as plantas (Laird et al., 2010). O aumento da porosidade e exposição de cargas altera a CTC do biocarvão promovendo, assim, uma maior retenção de nutrientes e água e maior disponibilidade de nutrientes para as plantas.

A absorção de nutrientes pelas plantas e a compartimentalização dos mesmos no vacúolo das células vegetais é dependente de um gradiente de prótons (H^+) gerado por proteínas específicas da membrana plasmática e do tonoplasto (Sondergaard et al., 2004). As H^+ -ATPases do tipo P, estão presentes na membrana plasmática de células vegetais e realizam o transporte de prótons para a região do apoplasto, enquanto as H^+ -ATPases do tipo V e H^+ -PPases transportam H^+ para o interior do vacúolo (Taiz e Zeiger, 2002). Estas proteínas são fundamentais para a regulação de diversos processos celulares, como a manutenção do pH citosólico e também a formação de um gradiente eletroquímico que energiza as membranas facilitando os transportadores secundários, permitindo a entrada de nutrientes nas células assim como a sua acumulação no vacúolo (Falhof et al., 2016).

Dito isto, é notável a importância da utilização do biocarvão como tecnologia inovadora para promover o aumento da produção, minimizando os impactos negativos dos gases do efeito estufa e dos fertilizantes utilizados em demasia na agricultura. Assim, a hipótese deste trabalho é que o biocarvão influencia positivamente o crescimento nas plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) e também as atividades das bombas de H^+ . Para isso traçou-se os seguintes objetivos: avaliar a influência do biocarvão no crescimento e nutrição das plantas de *Carica papaya* L. e nas atividades das bombas de H^+ isoladas das raízes deste vegetal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro em um delineamento experimental inteiramente casualizado, constando de dois tratamentos (controle e aplicação com biocarvão) e 6 repetições. O experimento foi realizado em um delineamento experimental inteiramente casualizado, constando de dois tratamentos (controle e tratado com biocarvão) e 6 repetições.

Condições de cultivo e análise das características de crescimento das plantas

O biocarvão utilizado no experimento foi obtido da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), através do professor Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares, sendo produzido a partir da pirólise de cama de aviário a 700°C, pelo SPPT Pesquisa Tecnológicas Ltda. em Mogi-Mirim, SP, seguindo a metodologia descrita por Lin et al. (2012). A análise química do biocarvão pode ser observada na Tabela 1. Os tratamentos consistiram da aplicação e não aplicação do biocarvão no solo na quantidade de 1% do volume do vaso em 6 repetições.

O solo foi coletado no município de São Francisco de Itabapoana, apresentando textura argilosa. Após a coleta, o solo foi seco ao ar e à sombra por 5 dias e as amostras foram então encaminhadas ao laboratório de rotina de análise de solos da Universidade Federal do Rio de Janeiro para a realização das análises químicas cuja análise do solo original (Tabela 2). O solo recebeu 0,29 g

dm⁻³ de calcário (PRNT 80%), foi homogeneizado e incubado mantido a 60% da sua capacidade de campo. Após 30 dias da calagem o solo foi adubado com 15 mg dm⁻³ de P na forma de fosfato de Araxá e também recebeu o biocarvão (para os tratamentos com biocarvão) que foi adicionado em 1 % v/v em vasos de 4 dm³.

Tabela 1. Caracterização química do biocarvão utilizado no experimento (Metodologia de acordo com EMBRAPA, 1997).

Características	Unidade	Biocarvão*
pH ¹		8,9
Umidade	%	
N	g kg ⁻¹	42,91
P ₂ O ₅	g kg ⁻¹	27,62
K ₂ O	g kg ⁻¹	62,32
Ca	g kg ⁻¹	6,7
Mg	g kg ⁻¹	9,04
S	g kg ⁻¹	5,20
C	g kg ⁻¹	331,20
Fe	mg kg ⁻¹	1621
Cu	mg kg ⁻¹	636
Zn	mg kg ⁻¹	588
Mn	mg kg ⁻¹	588

¹pH em água; *Digestão total

Em seguida, sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden obtidas através da coleta de frutos comercializados e produzidos no Estado do Espírito Santo foram lavadas para a retirada do tegumento e cinco sementes foram semeadas em cada vaso contendo os tratamentos

Aos 30 dias após o semeio foi realizado um desbaste mantendo-se uma única planta de porte médio em cada vaso. As plantas foram irrigadas diariamente com água deionizada e monitoradas quanto ao aparecimento de pragas, doenças e sintomas de deficiência nutricional. Aos 80 dias após o semeio as plantas do

tratamento controle apresentaram sintomas de deficiência nutricional, desta forma, as plantas de todos os tratamentos receberam 25 mg dm⁻³ de N e 100 mg dm⁻³ K nas formas de ureia e KCl, respectivamente.

Os indicadores de crescimento foram avaliados em três repetições coletadas aleatoriamente após 150 dias do início do experimento. A altura da parte aérea foi medida com auxílio de uma régua milimetrada, o diâmetro do colo foi medido com um paquímetro digital. Em seguida, a parte aérea foi coletada na altura do coleto (rente ao solo), foi seca em estufa de circulação forçada de ar à 60° C por 72 horas e por fim, foi pesada para avaliação da massa seca. Foram coletadas amostras de 200 g de solo para análise química (Tabela 2).

Os vasos (sem a parte aérea) foram imersos em água dentro de baldes de 10 dm³ para facilitar a retirada das raízes. As raízes removidas foram colocadas em peneiras de 2 mm, lavadas com jato de água, secas em papel toalha e pesadas para avaliação da massa fresca. As raízes foram então secas em estufa de circulação forçada de ar à 60° C por 72 horas e pesadas para avaliação da massa seca. As outras 3 repetições de cada tratamento foram utilizadas para a análise das bombas de H⁺.

Tabela 2. Caracterização química do solo utilizado utilizando antes da instalação do experimento e após a colheita das plantas de mamão (Metodologia de acordo com EMBRAPA, 1997). (Média de 3 repetições)

Características	Solo original	Solo após a colheita (controle)	Solo após colheita (com biocarvão)
pH*	5,3	5,8	5,9
P (mg dm ⁻³) **	3	7	88
K (mg dm ⁻³) **	100	110	262
Ca (cmol _c dm ⁻³) ***	1,0	1,6	2,7
Mg (cmol _c dm ⁻³) ***	0,5	0,7	1,0
Al (cmol _c dm ⁻³) ***	0,0	0,0	0,0
H + Al (cmol _c dm ⁻³) ****	1,9	1,5	2,1
Na (cmol _c dm ⁻³) **	0,02	0,10	0,29
SB (cmol _c dm ⁻³)	1,8	2,7	4,7
T (cmol _c dm ⁻³)	3,7	4,2	6,8
t (cmol _c dm ⁻³)	1,8	2,7	4,7
C (%)	0,96	0,92	1,32
m (%)	0	0	0
V (%)	48	64	69
MO (g dm ⁻³) *****	16,6	15,9	22,8
Fe (mg dm ⁻³) **	32,0	-	-
Cu (mg dm ⁻³) **	0,4	-	-
Zn (mg dm ⁻³) **	1,4	-	-
Mn (mg dm ⁻³) **	5,9	-	-
B (mg dm ⁻³) **	0,18	-	-

*pH em água; ** Mehlich (H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹ + HCl 0,05 mol L⁻¹), ***KCl 1 mol L⁻¹, **** Acetato de cálcio pH 7, ***** dicromato de potássio/colorimétrico.

Isolamento de Membrana

A preparação da fração microssomal de raízes de *Carica papaya* L. foi realizada através do método de centrifugação diferencial (Giannini e Briskin, 1987). As amostras de tecido fresco de raízes (5g) foram homogeneizadas em meio tamponado usando almofariz e pistilo. O tampão de extração foi composto de sacarose 250 mM, glicerol 10 %, DTT 5 mM, EDTA 5 mM, PVP-40 0,4 %, KCl 100 mM, BSA 0,3 %, PMSF 1 mM, benzamidina 1 mM, Tris-HCl pH 8,0 100 mM, na relação peso de tecido/volume de tampão de 1:2. Toda a manipulação foi realizada na temperatura entre 0 e 4°C. O homogenato resultante foi então filtrado e submetido à centrifugação a 1500 g, durante quinze minutos para a remoção de células não rompidas e núcleos e parede celular. O sobrenadante foi coletado e submetido a uma nova centrifugação a 10.000 g por 15 minutos, para a retirada das mitocôndrias. Estas organelas foram separadas e descartadas a fim de não interferirem nos experimentos futuros. O sobrenadante foi coletado submetido a uma nova centrifugação a 100.000 g, por 45 min. O precipitado dessa última centrifugação foi solubilizado em solução-tampão com glicerol a 15 %, DTT 1 mM, PMSF 1 mM, benzamidina 1 mM, HEPES-KOH 10 mM pH 7,6 e EDTA 1 mM. As amostras foram armazenadas em tubos criogênicos em freezer a -70°C até as análises das atividades ATPásicas e PPásicas. A dosagem de proteína total contida na preparação foi dosada pelo método descrito por Bradford (1976).

Determinação da atividade H⁺-ATPásica e H⁺-pirofosfatásica

A atividade ATPásica e pirofosfatásica foi determinada colorimetricamente, segundo o método descrito por Fiske e Subbarow (1925). A reação foi iniciada

com a adição da proteína e finalizada com a adição de ácido tricloroacético em uma concentração final de 10 % (v/v) após 50 minutos de reação. O meio de reação foi composto por: Hepes-Tris pH 6,5 (membrana plasmática) ou 7,0 (membranas vacuolares) 50 mM, MgSO₄ 3 mM, KCl 100 mM, ATP 1 mM ou PPi 1 mM e 30 µg de proteína. Foram utilizados também inibidores específicos, como o ortovanadato de sódio 0,2 mM (inibidor da ATPase tipo P) e a concanamicina A 5 nM (inibidor da ATPase tipo V). A hidrólise de PPi foi aferida através de sua dependência por K⁺.

Monitoramento do Gradiente de H⁺

O gradiente de prótons foi medido como descrito por Michelis e Spanswick (1986), com algumas modificações propostas por Façanha e de Meis (1998), através do monitoramento da taxa de decréscimo da fluorescência ($\Delta F/\text{min}$) da sonda fluorescente metacromática, 9-amino-6-cloro-2-metoxiacridina (ACMA), excitada com um feixe de comprimento de onda de 415 nm e a emissão captada a 485 nm, utilizando-se um espectrofluorímetro. O ACMA contém um grupo amina que funciona como uma base fraca, e assumindo-se que quando não protonado, este tem capacidade de atravessar livremente a bicamada lipídica da membrana. A protonação da base do grupo amina limita essa capacidade de movimento transmembranar. Logo, a sonda distribui-se através da membrana em função da diferença de pH entre o interior e o exterior das vesículas. O meio de reação foi composto de Tris pH 6,5 ou 7,0 10 mM, KCl 100 mM, ACMA 1,3 µM, MgSO₄ 3 mM, ATP 1 mM ou PPi 1 mM e 30 µg de proteína. O gradiente foi dissipado com NH₄Cl 1,5 mM.

Análise Estatística dos Dados

Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) e a diferença entre os tratamentos foi aferida através do Teste t de *Student* a um nível de 5% de probabilidade com base nos dados médios de 3 repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros de Crescimento

O cultivo de plantas de mamão na presença do biocarvão promoveu aumento significativo na altura (Figura 1A, $P < 0,0064$), diâmetro da base do caule (Figura 1B, $P < 0,0156$), peso seco da parte aérea (Figura 1C e 2A, $P < 0,0156$), peso seco da raiz (Figura 1D e 2B, $P < 0,0098$). Na Figura 2 é possível observar a diferença nas alturas e no crescimento radicular destas plantas quando tratadas com o biocarvão. Os incrementos percentuais observados com a aplicação do biocarvão foram de cerca de 220%, 100 %, 89 % e 86 %, respectivamente para a altura, diâmetro do coleto, peso seco da parte aérea e peso seco do sistema radicular das plantas de mamão.

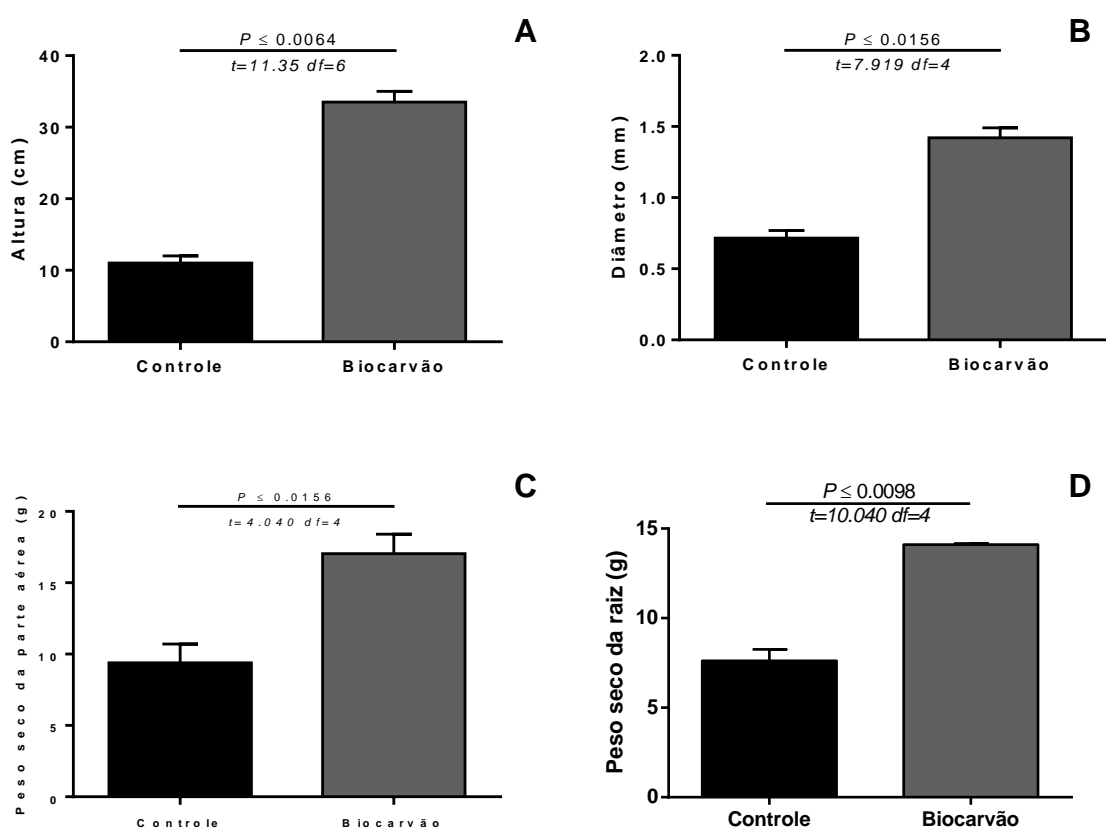


Figura 1. Parâmetros de crescimento de plantas de *Carica papaya* crescendo na ausência (Controle) ou presença do biocarvão (Biochar). Os parâmetros de (A) Altura; (B) Diâmetro do caule; (C) Peso seco parte aérea (D) Peso seco raiz foram avaliados aos 150 dias após o tratamento com Biochar. As médias são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student à nível de 5% de probabilidade. n.s. Diferença não significativa pelo teste t de Student à nível de 5% de probabilidade (n=4).

Vichiato (2005) observaram em mudas de mamoeiro, aos 120 dias após o plantio, o valor máximo de altura de 18,9 cm que foi verificada no tratamento com adubação fosfatada. A aplicação do biocarvão, no presente trabalho, proporcionou altura de 32 cm, aos 150 dias de plantio enquanto o controle apresentou somente 11 cm, indicando que as respostas à aplicação de biocarvão podem ser mais efetivas mesmo quando comparado aos resultados do experimento com adubação fosfatada realizada por Vichiato (2005).

Usman et al. (2016) verificou os efeitos do biocarvão e de resíduos orgânicos em diferentes taxas de aplicação (controle, 4,0, 8,0% de biocarvão) sobre o rendimento e qualidade de *Solanum lycopersicum*, com e sem irrigação com solução salina. Foi observado que o biocarvão promoveu aumento significativo, principalmente quando aplicado em alta concentração, para o crescimento das plantas, produtividade e qualidade de frutos, tanto para as plantas que receberam a solução salina, quanto as que não receberam. O mesmo estudo sugere que a presença do biocarvão seja importante quando a planta se encontra em situação de estresse, onde a aplicação do material pirolisado poderia induzir mudanças fisiológicas que porventura possibilitaria a planta a resistir de maneira mais eficiente a estresses.

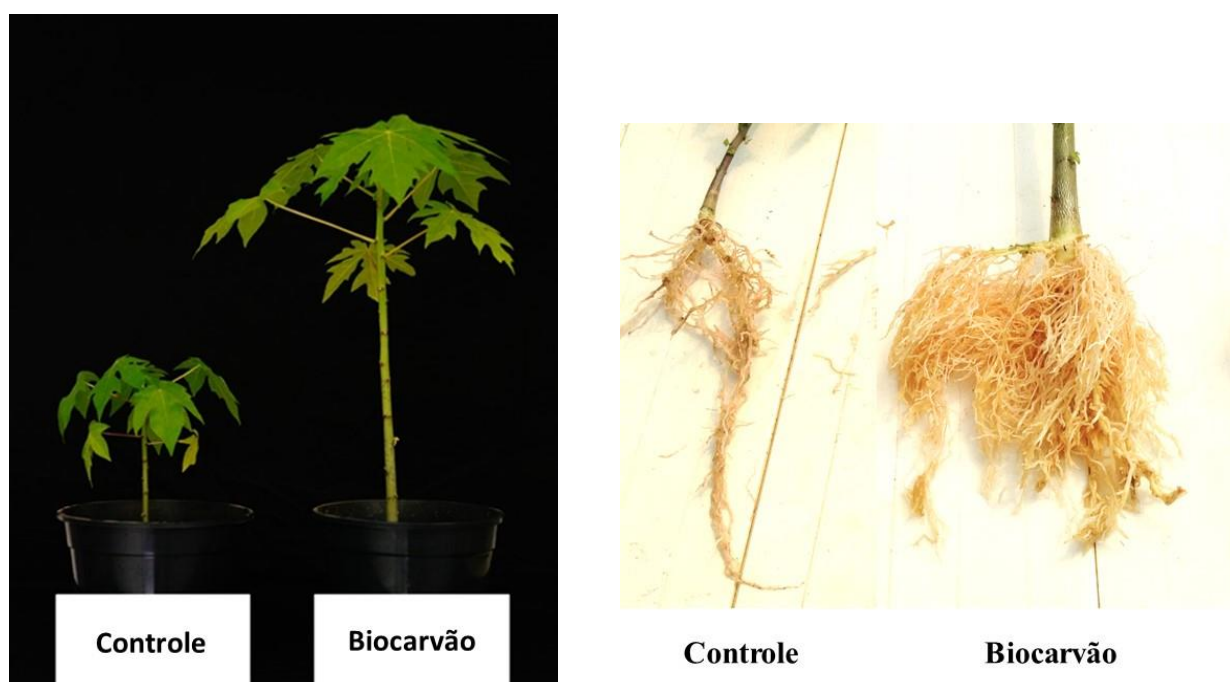


Figura 2. Imagem de plantas de mamão (*Carica papaya* L.) aos 150 dias de cultivo em solo com e sem biocarvão. (A) parte aérea, (B) sistema radicular.

Segundo Olmo et al. (2016), o biocarvão gera efeitos benéficos sobre a proliferação radicular, porém este efeito depende do tipo do biocarvão, assim como da quantidade adicionada ao solo. No presente trabalho, o biocarvão utilizado foi proveniente de cama aviária e influenciou positivamente o sistema

radicular do mamoeiro, corroborando com o estudo de Jeffery et al. (2011), em que entre as matérias-primas para a produção do biocarvão, a cama de frango mostrou ser a mais eficaz em promover o crescimento e produtividade de plantas.

Acúmulo de macro e micronutrientes na parte aérea e na raiz

Plantas tratadas com biocarvão apresentaram aumento significativo no acúmulo de todos os macronutrientes na parte aérea e na raiz das plantas de mamão, exceto para magnésio na raiz ($p \leq 0,8816$) (Figura 3). Foi possível observar também que o biocarvão proporcionou maior acúmulo de micronutrientes na parte aérea e nas raízes das plantas de mamoeiro (Figura 3C e D), exceto para cobre ($p \leq 0,9977$) na parte aérea (Figura 3C) e exceto para cobre ($p \leq 0,9999$) e manganês ($p \leq 0,4767$) na raiz (Figura 3D).

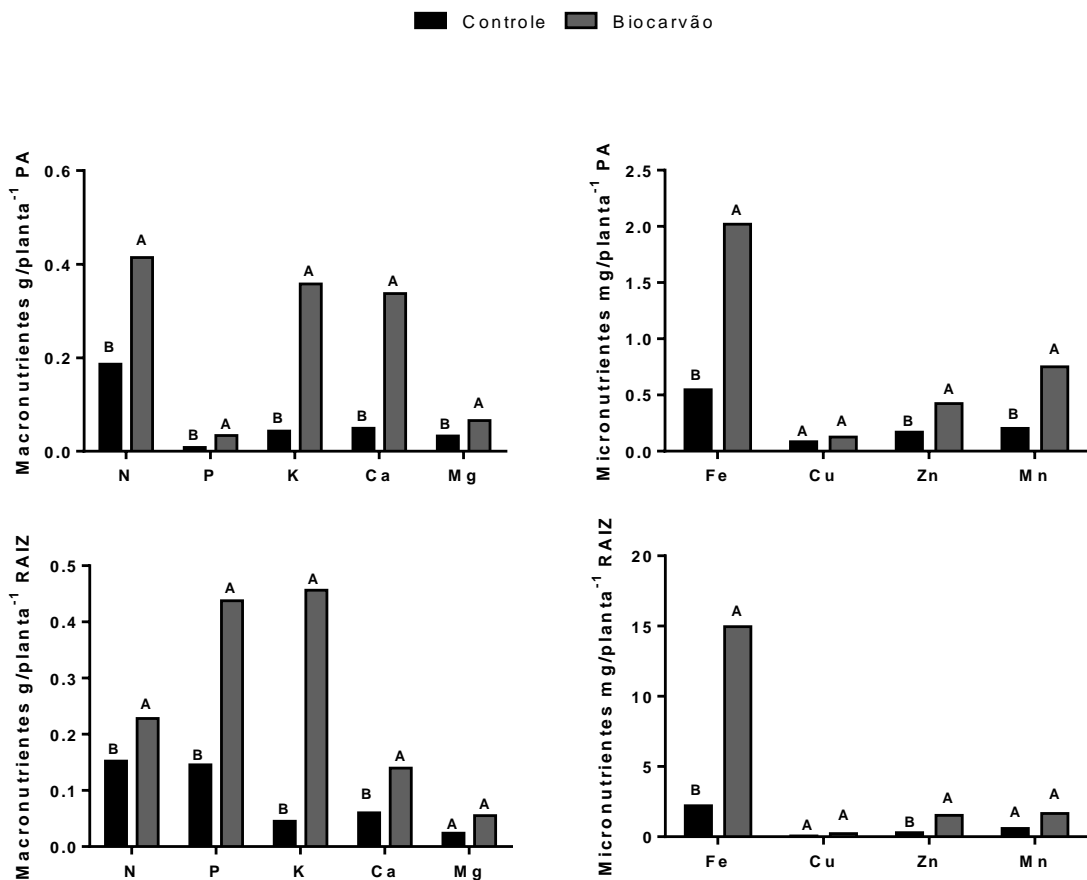


Figura 3. Acúmulo de macro e micronutrientes na parte aérea e na raiz de plantas de mamão aos 150 dias após o início do experimento. Médias seguidas de uma

mesma letra, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (n=3). PA = Parte aérea.

O biocarvão é um material altamente heterogêneo, e dependendo da sua matéria-prima e da temperatura utilizada, as influências sobre o solo irão variar e os impactos podem ser positivos para algumas características do solo e negativamente para outras (Kloss et al., 2012). Os resultados no acúmulo de nutrientes observados na matéria seca da parte aérea e das raízes das plantas de mamão são devido aos teores de nutrientes observados na análise do biocarvão (tabela 1). O biocarvão utilizado apresentava altos teores de N, P, K, Ca, Mg e micronutrientes, notadamente o Fe. Mesmo após a colheita das plantas de mamão, no solo onde foi aplicado o biocarvão foram detectados altos teores de P, K, Ca, Mg, C, indicando que parte dos elementos do biocarvão encontrava-se prontamente disponível refletindo em maior acúmulo e no crescimento da planta (Tabela 2). Além disso, a maior CTC efetiva e total, a saturação de bases (V %) e matéria orgânica do solo indicam alterações positivas nas características químicas desse solo comparativamente ao solo que não recebeu o biocarvão e que proporcionam na melhoria das condições para o bom crescimento das raízes. Efeitos positivos do biocarvão sobre as características, físicas, químicas e biológicas do solo foram verificadas também por, Asai et al. (2009), Glosser et al. (2002) e Jeffery et al. (2011).

A matéria-prima e a temperatura utilizada na produção do biocarvão pode afetar positivamente a disponibilidade de nutrientes no solo (Petter et al., 2012). Este efeito também foi observado por Kim et al. (2016) que sugeriram que o aumento no acúmulo de P no tecido das plantas de trigo tratadas com o biocarvão ocorreu devido a um aumento na disponibilidade de fósforo no solo. No presente estudo o maior acúmulo dos nutrientes nas plantas de mamoeiro provavelmente se deve a maior disponibilidade dos nutrientes no solo provenientes do biocarvão (Tabela 2). Bai et al. (2014), também verificaram aumento significativo no conteúdo de P e N no solo e assim como nas folhas de plantas de macadâmia quando tratadas com biocarvão proveniente da cama de frango, semelhante aos resultados obtidos neste trabalho (Figura 3A).

Propagdee et al. (2014) que relataram que a concentração de Zn é menor na parte aérea comparada a raiz, quando tratadas com biocarvão em todo o

período do cultivo de *Vigna radiata* L. No presente trabalho foi observado que o biocarvão proporciona maior acúmulo de P, K, Fe, Zn e Mn nas raízes comparativamente à parte aérea.

O cálcio (Ca), por outro lado acumulou mais na parte aérea que nas raízes, indicando que para este elemento que não apresenta mobilidade na planta (Taiz e Zediger, 2002), o acúmulo é diferente dos demais.

As respostas positivas no crescimento da parte aérea e raiz das plantas de mamão e no acúmulo de nutrientes, foram reflexo tanto dos teores de nutrientes provenientes do biocarvão utilizado (Tabela 1) quanto dos efeitos deste sobre as características químicas do solo (Tabela 2).

Atividade hidrolítica e de transporte inicial e acoplamento das ATPases e V-PPase

A atividade das P-ATPase, V-ATPase e V-PPase foram determinadas a partir da fração microssomal isolada de raízes de mamoeiro tratadas ou não com biocarvão.

A atividade hidrolítica das P-ATPases foi significativamente ativada nas plantas tratadas com o biocarvão ($P < 0,0001$), sendo esta ativação média de 171,54% em relação as plantas não tratadas. Semelhante, atividade hidrolítica das V-PPase ($P < 0,010$) foi ativada, sendo que a ativação nas plantas tratadas com biocarvão foi de 25,21%. Já a atividade hidrolítica das V-ATPases, foi observada uma inibição significativa ($P < 0,0002$) de 15,33% em relação as plantas não tratadas (Figura 4).

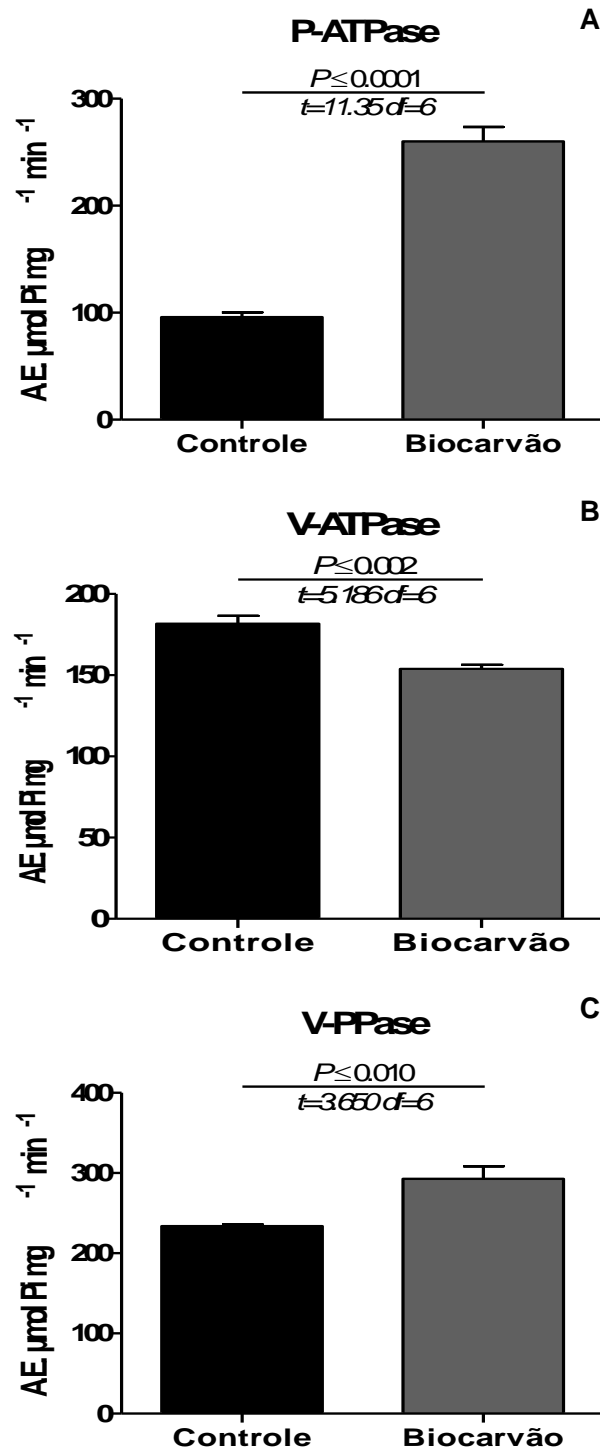


Figura 4. Atividade hidrolítica específica da H^+ -ATPase de membrana plasmática (P-ATPase) e vacuolar (V-ATPase), e da H^+ -Pirofosfatase vacuolar (V-PPase) em vesículas microsossomais isoladas de raízes de *Carica papaya* aos 150 dias após o tratamento com o biocarvão (Biochar). Para cada atividade enzimática, as médias são estatisticamente diferentes pelo teste *t* de Student à nível de 5% de probabilidade ($n=4$).

Em plantas tratadas com o biocarvão, foi possível observar uma inibição significativa ($p < 0,001$) de 90,32% em relação as plantas não tratadas sobre a velocidade inicial de transporte de H^+ da P-ATPase, implicando em um acoplamento 8x menor destas proteínas nestas plantas, em relação ao controle (Figura 5A, 6A). Semelhantemente, plantas tratadas com o biocarvão apresentaram velocidade inicial de transporte de H^+ da V-ATPase 15,89% inferior as plantas controle (Figura 5B). Já em relação as V-PPase o tratamento com o biocarvão promoveu uma ativação significativa ($p < 0,0001$) de 681,31% em relação as plantas controle, sendo que esta ativação também refletiu em um acoplamento 5x maior destas proteínas nestas plantas, em relação ao controle (Figura 5C, 6C).

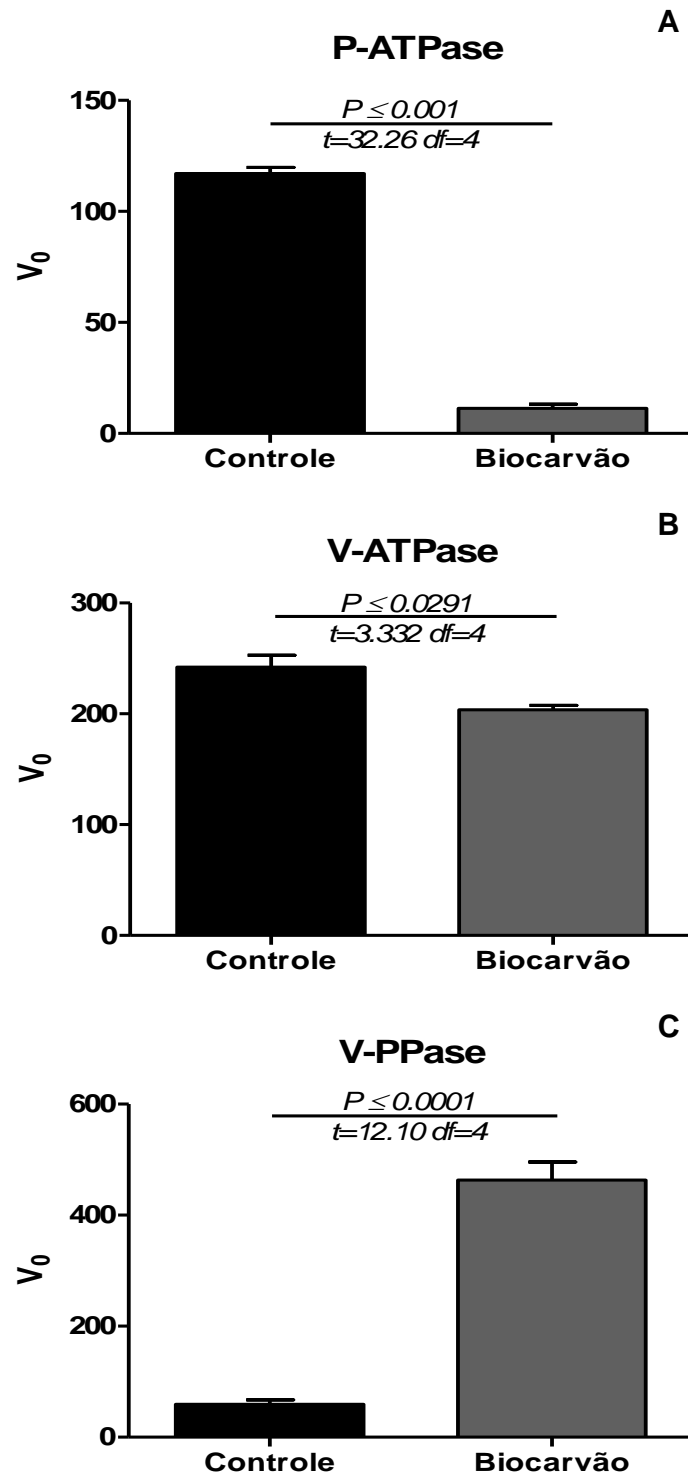


Figura 5. Velocidade inicial de transporte de H^+ da H^+ -ATPase de membrana plasmática (P-ATPase) e vacuolar (V-ATPase), e da H^+ -Pirofosfatase vacuolar (V-Ppase) em vesículas microssomais isoladas de raízes de *Carica papaya* aos 60 dias após o tratamento com o biocarvão (Biochar). Para cada bomba de prótons, as médias são estatisticamente diferentes pelo teste t de Student à nível de 5% de probabilidade ($n=3$).

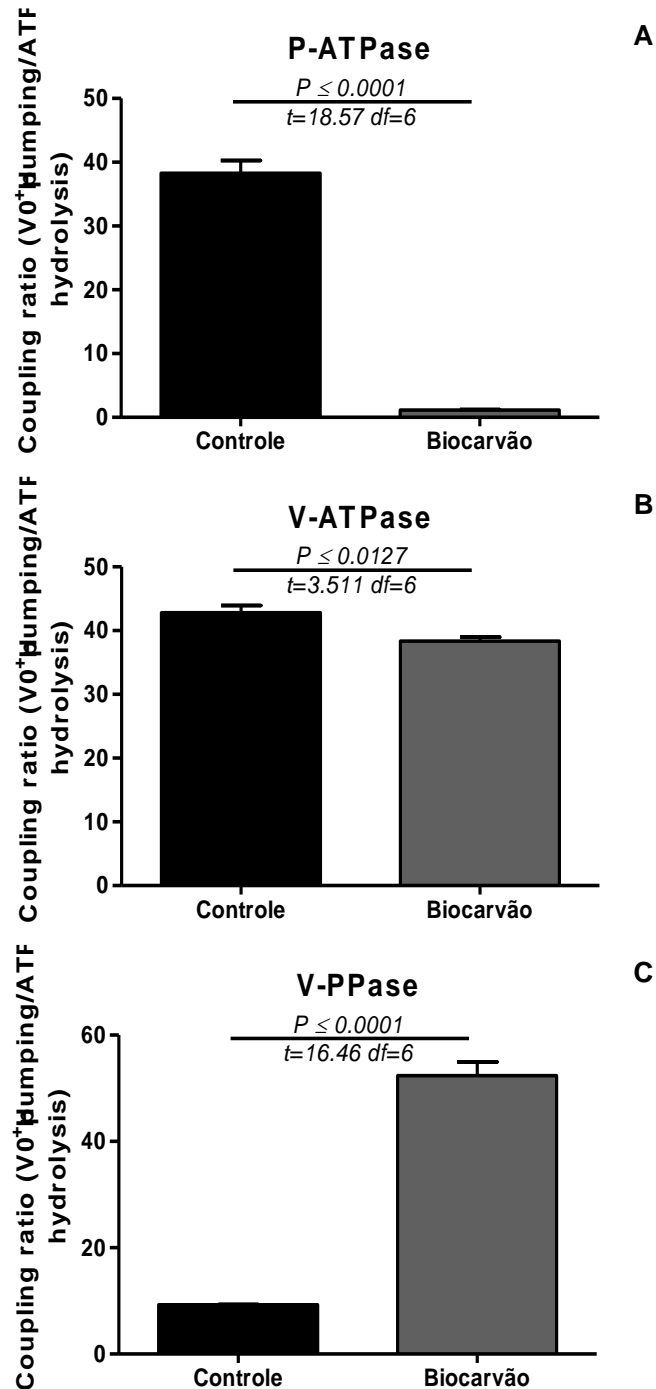


Figura 6. Proporção de acoplamento da H⁺ da H⁺-ATPase de membrana plasmática (P-ATPase) e vacuolar (V-ATPase), e da H⁺-Pirofosfatase vacuolar (V-Ppase) em vesículas microsossomais isoladas de raízes de *Carica papaya* aos 60 dias após o tratamento com o biocarvão (Biochar). O acoplamento das Bombas de H⁺ foi calculado através da divisão entre a velocidade inicial de bombeamento de H⁺ (V0) e os valores de hidrólise do substrato. Para cada bomba de prótons, as médias são estatisticamente diferentes pelo teste *t* de Student à nível de 5% de probabilidade (n=3).

Sabe-se que produtos provenientes de material orgânico que são aplicados no solo com o objetivo de promover o crescimento vegetal vêm apresentando resultados promissores na agricultura (Silva Filho e Silva, 2009; Usman et al., 2016). Dentre os diversos benefícios da utilização destes produtos estão, a influência no solo em suas características, químicas, físicas e biológicas, conseqüentemente beneficiando a produtividade agrícola, através de disponibilidade de nutrientes, retenção de água e estruturação do solo (Barrow, 2012; Trevisan, et al., 2016).

Canellas et al., (2002) observaram que substâncias húmicas extraídas de vermicomposto promoveram o crescimento radicular, aumento do número de raízes laterais, assim como um aumento na atividade e expressão das P-ATPases, sugerindo que o incremento na atividade destas proteínas pode ter atuado como força motriz no crescimento das plantas em resposta a substância húmica. Zandonadi et al., (2007) encontraram resultados semelhantes ao compararem a ação de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto e ácido indol-3-acético (AIA) em plantas de milho.

Apesar das similaridades entre os benefícios das substâncias húmicas e do biocarvão, os resultados obtidos neste estudo indicam um desacoplamento da P-ATPase, resposta esta, contrária à obtida no tratamento com substâncias húmicas. Também foi possível observar um superacoplamento das V-PPases, indicando a possibilidade de uma modulação diferencial das bombas de H^+ pelo tratamento de plantas de mamoeiro com o biocarvão, tendo a ativação das V-PPases como um importante mecanismo no crescimento e desenvolvimento destas plantas.

O presente estudo inova ao analisar a atividade das bombas de H^+ em resposta ao tratamento com o biocarvão, logo, mais experimentos são necessários para uma análise mais detalhada de como ocorrem as modulações das bombas de H^+ , assim como os mecanismos envolvidos na promoção do crescimento de plantas tratadas com este composto.

CONCLUSÃO

Plantas tratadas com biocarvão apresentaram incrementos significativos em todos os parâmetros de crescimento e um aumento considerável no acúmulo de nutrientes tanto na parte aérea como na raiz. Foi observado que as bombas de H^+ , P-ATPase e V-ATPase foram ineficientes em comparação ao controle, porém, houve uma eficiência nas bombas V-PPase. Estudos indicam que a influência causada pelo biocarvão no solo e conseqüentemente nas plantas vai depender do seu material de origem e do modo a ser produzido. Com os resultados obtidos para os parâmetros de crescimento e de acúmulo nas plantas, podemos concluir que o biocarvão utilizado é promissor no aumento na produção de mudas de mamão. Para os resultados encontrados para as bombas de H^+ , são necessários mais estudos para confirmar a real influência que o biocarvão possa causar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asai, H., Samson, B.K., Stephan, H.M., Songyikhangsuthor, K., Homma, K., Kiyono, Y., Inoue, Y., Shiraiwa, T., Horie, T. (2009) Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos: 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*, 111:81-84.
- Bai, S.H., Xu, C.Y., Xu, Z., Blumfield, T.J., Zhao, H., Wallace, H., Reverchon, F., Zwieten, L.V. (2014) Soil and foliar nutrient and nitrogen isotope composition (^{15}N) at 5 years after litter and green waste biochar amendment in a macadamia orchard. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Bhatia, A., Sasmal, S., Jain, N., Pathak, H., Kumar, R., Singh, A. (2010) Mitigating nitrous oxide emission from soil under conventional and no-tillage in wheat using nitrification inhibitors. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 136: 247-253.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.

- Canellas L, Olivares F, Okorokova-Facanha A, Facanha A (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize root. *Plant Physiology*, 130: 1951-1957.
- Casarin, V. (2012) Produção de alimento – O desafio do século. Informações Agronômicas, 139.
- Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997) Manual de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro.
- Façanha, A.R., De Meis, L. (1998) Reversibility of H⁺-ATPase and H⁺-pyrophosphatase in tonoplast vesicles from maize coleoptiles and seeds. *Plant physiology*, 116:1487-1495.
- Falhof, J., Pederson, J.T., Fuglsang, A.T., Palmgren, M. (2016) Plasma membrane H⁺-ATPase regulation in the center of plant physiology. *Molecular Plant*, 9(3): 323-337.
- Fiske, C.H., Subbarow, Y. (1925) The colorimetric determination of phosphorus. *The Journal of Biological Chemistry*, 66:375-400.
- Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D.W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D.C., Myhre, G., Nganga, J., Prinn, R., Raga, G., Schulz, M., Van Dorland, R. (2007) Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. Cambridge University Press, 333p.
- Giannini, J.L., Briskin, D.P. (1987) Proton transport in plasma membrane and tonoplast vesicles from red beet (*Beta vulgaris* L.) storage tissue a comparative study of ion effects on ΔpH and $\Delta\Psi$. *Plant physiology*, 84:613-618.

- Glaser, B., Lehmann, J., Zech, W. (2002) Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with biochar – a review. *Biology and Fertility of Soils*, 35:219-230.
- Jeffery, S., Verheijen, F.G.A., van der Velde, M., Bastos, A.C. (2011) A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 144:175-187.
- Kauffman, N., Dumortier, J., Hayes, D., Brown, R.C., Laird, D.A. (2014) Producing energy while sequestering carbon? The relationship between biochar and agricultural productivity. *Biomass and Bioenergy*, 63: 167-176.
- Kim, H.S., Kim, K.R., Yang, J.E., Ok, Y.S., Owens, G., Nehls, T., Wessolek, G., Kim, K.H. (2016) Effect of biochar on reclaimed tidal land soil properties and maize (*Zea mays* L.) response. *Chemosphere*, 142:153-159.
- Kloss, S., Zehetner, F., Dellantonio, A., Hamid, R., Ottner, F., Liedtke, V., Schwanninger, M., Gerzabek, M. H., and Soja, G. (2012) Characterization of slow pyrolysis biochars: Effects of feedstocks and pyrolysis temperature on biochar properties. *Journal of Environmental Science*, 41(4), 990-1000
- Laird, D.A., Fleming, P., Davis, D.D., Horton, R., Wang, B., Karlen, D. L. (2010) Impact of biochar amendments on the quality of a typical Midwestern agricultural soil. *Geoderma*, 158: 443-449.
- Lin, Y., Munroe, P., Joseph, S., Henderson, R. (2012) Migration of dissolved organic carbon in biochars and biochar-mineral complexes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(5): 677-686.
- Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S.J., Lehman, J. (2010) Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant Soil*. 333: 117-128.

- Michelis, M.I., Spanswick, R.M. (1986) H⁺-pumping driven by the vanadate-sensitive ATPase in membrane vesicles from corn roots. *Plant physiology*, 81:542-547.
- Olmo, M., Villar, R., Salazar, P., Albuquerque, J.A. (2016) Changes in soil nutrient availability explain biochar's impact on wheat root development. *Plant Soil*, 399:333-343.
- Petter, F.A., Junior, B.H.M., Andrade, F.R., Schossler, T.R., Gonçalves, L.G., Marimon, B.S. (2012) Biochar como condicionador de substrato para a produção de mudas de alface. *Revista Agrarian*, 5(17): 243-250.
- Riahi, K., Kriegler, E., Johnson, N., Bertram, C., den Elzen, M., Eom, J., Schaeffer, M., Edmonds, J., Isaac, M., Krey, V., Longden, T., Luderer, G., Méjeran, A., McCollum, D.L., Mima, S., Turton, H., van Vuuren, D.P., Wada, K., Bosetti, V., Capros, P., Criqui, P., Hamdi-Cherif, M., Kainuma, M., Edenhofer, O. (2014) Locked into Copenhagen pledges – Implications of short-term emission targets for the cost and feasibility of long-term climate goals. *Technological Forecasting & Social Change*, 90: 8-23.
- Silva Filho, A. V.; Silva, M. I. V. Importância das substâncias húmicas para a Agricultura. EMEPA, 2009. Disponível em: Acesso em: 19 de fevereiro de 2016.
- 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.
- Tavoni, M., Kriegler, E., Riahi, K., Vuuren, D.V., Aboumahboub, T., Bowen, A., Calvin, K., Campiglio, E., Kober, T., Jewell, J., Luderer, G., Marangoni, G., McCollun, D., Sluisveld, M.V., Zimmer, A., Zwaan, B.V.D. (2014) Post-2020 climate agreements in the major economies assessed in the light of global models. *Nature climate change*. 1-16.

- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., Nardi, S. (2016) Humic substances biological activity at the plant-soil interface. *Plant Signaling & Behavior*, 11:32.
- Usman, A.R.A., Al-Wabel, M., OK, Y.S., Al-Harbi, A., Wahb-Allah, M., El-Naggar, A.H., Ahmad, M., Al-Faraj, A., Al-Omran, A. (2016) *Concarpus* biochar induces changes in soil nutriente availability and tomato growth under saline irrigation. *Pedosphere*, 26:27-38.
- Vichiato, M. (2005) Nutrição mineral e crescimento de mudas de mamoeiro em função de fósforo e magnésio. Tese (Doutorado em Agronomia) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFL, 90p.
- 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(6): 1583-1595.

4. RESUMO E CONCLUSÃO

O biocarvão é heterogêneo e dependendo do seu material de origem e a metodologia empregada para produção o impacto causado quando inserido no solo irá variar. Dito isso, o presente trabalho avaliou a influência do biocarvão proveniente da cama de frango nos micro-organismos de um espodossolo e no crescimento, diâmetro, massa seca, acúmulo de nutrientes e atividade de bombas de H^+ em plantas de mamoeiro, e os resultados obtidos foram que o biocarvão utilizado não promoveu efeitos negativos para a atividade microbiana do solo, e para o crescimento das plantas de mamão, o biocarvão demonstrou ser eficiente já que os resultados encontrados para os parâmetros de crescimento e acúmulo de nutrientes foram maiores. Já para as bombas de H^+ houve uma menor atividade nas bombas de P-ATPase e V-ATPase em comparação ao controle, porém, houve uma alta atividade da V-PPase, é importante lembrar que na literatura não existe trabalho avaliando a influência do biocarvão nas bombas de H^+ . Assim concluímos que, o biocarvão proveniente da cama de frango influenciou positivamente os micro-organismos do solo classificado como espodossolo, e também para o crescimento das mudas de mamão, são necessários mais estudos para comprovar a real influência que o biocarvão exerce nas bombas de H^+ .

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, M., Rajapaksha, A.U., Lim, J.E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., Vithanage, M., Lee, S.S., Ok, Y.S. (2014) Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. *Chemosphere*, 99:19-33.
- Albanel, E.; Ppiauxats, J.; Ccabrero, T. (1988) Chemical changes during vermicomposting (*Eisenia fetida*) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 6: 266- 269.
- Alcântara, F.A., Neto, A.E.F., de Paula, M.B., Mesquita, H.A., Muniz, J.A. (2000) Adubação verde na recuperação da fertilidade de um latossolo vermelho-escuro degradado, *Pesquisa Agropecuária*, 35(2): 277-288.
- Andrenelli, M.C., Maienza, A., Genesio, L., Miglietta, F., Pellegrini, S., Vaccari, F.P., Vignozzi, N. (2016) Field application of pelletized biochar: Short term effect on the hydrological properties of a stily clay loam soil. *Agricultural Water Management*, 163:190-196.
- Andreola, F, Fernandes, S. A. P. (2007) A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. *In: Souza, M.R.A. Campinas: Instituto Agronômico*, p. 312.

- Araújo, A. S. F., Burity, H. A., Lyra, M. do C. P. (2001). Influência de diferentes níveis de nitrogênio e fósforo em *Leucena* inoculada com *rhizobium* e fungo micorrízico arbuscular. *Ecossistema*, 26(1): 35-38.
- Araújo, A.S.F., Monteiro, R.T.R. (2007) Indicadores biológicos da qualidade do solo. *Bioscience Journal*, 23:66-75.
- Asai, H., Samson, B.K., Stephan, H.M., Songyikhangsuthor, K., Homma, K., Kiyono, Y., Inoue, Y., Shiraiwa, T., Horie, T. (2009) Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos: 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*, 111:81-84.
- Atkinson, C.J., Fitzgerald, J.D., Hipps, N.A. (2010) Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant Soils*. 337:1-18.
- Bagreev, A., Bandoz, T.J., Locke, D.C. (2001) Pore structure and surface chemistry of adsorbents obtained by pyrolysis of sewage sludge-derived fertilizer. *Carbon*. 39:1971-1979.
- Bai, S.H., Xu, C.Y., Xu, Z., Blumfield, T.J., Zhao, H., Wallace, H., Reverchon, F., Zwieten, L.V. (2014) Soil and foliar nutrient and nitrogen isotope composition (^{15}N) at 5 years after litter and green waste biochar amendment in a macadamia orchard. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Barretti, P.B., Romeiro, R.S., Mizubuti, E.S.G., Souza, J.T. (2009) Seleção de bactérias endofíticas de tomateiro como potenciais agentes de biocontrole e de promoção de crescimento. *Ciência e Agrotecnologia*, 33:2038-2044.
- Barrow, C.J. (2012) Biochar: Potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography*, 34:21-28.
- Bernal, M.P., Clemente, R., Walker, D.J. (2006) The Role of Organic Amendments in the Bioremediation of Heavy Metal-Polluted Soils. Spain, 331p.

- Bhatia, A., Sasmal, S., Jain, N., Pathak, H., Kumar, R., Singh, A. (2010) Mitigating nitrous oxide emission from soil under conventional and no-tillage in wheat using nitrification inhibitors. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 136: 247-253.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
- Britannica Academic – Encyclopaedia Britannica Inc.: <http://academic-eb-britannica.ez81.periodicos.capes.gov.br/EBchecked/topic/1525345/biochar> em 25/02/16.
- Cabello, J.R., Hernández, Y.D., González, Z.N.C., Hernández, P.R. (2014) Evaluación de la calidad y el rendimiento em papaya silvestre (*Carica papaya* L.) from Cuba. *Cultivo Tropicales*, 35(3): 36-44.
- Campanhola, C., Valarini, P. J. (2001). A agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. *Caderno de Ciências & Tecnologia*, Brasília, 18 (3): 69-101.
- Canellas L, Olivares F, Okorokova-Facanha A, Facanha A (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence and plasma membrane H⁺- ATPase activity in maize root. *Plant Physiology*, 130: 1951-1957.
- Cardoso, D.L., Silva, R.F., Pereira, M.G., Viana, A.P., Araújo, E.F. (2009) Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de semente em germoplasma de mamoeiro. *Revista Ceres*, 56(5): 572-579.

- Carvalho Filho, A., Lumbreras, J.F., Wittern, K.P., Lemos, A.L., Santos, R.D., Calderano Filho, B., Calderano, S.B., Oliveira, R.P., Aglio, M.L.D., Souza, J.S., Chaffin, C.E. (2003) Mapa de reconhecimento de baixa intensidade dos solos do estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- Casarin, V. (2012) Produção de alimento – O desafio do século. *Informações Agronômicas*, 139.
- Chaer, G.M., Gaiad, S., Santos, A.B., Grochoski, R. (2014) Caracterização microbiológica do solo. Parte IV: A biologia dos solos. In: Prado, R.B., Fidalgo, E.C.C., Bonnet, A. Monitoramento de revegetação do COMPERJ. Brasíliausek
- Corrêa, A.L., Abboud, A.C.S., Guerra, J.G.M., Aguiar, I.A., Ribeiro, R.L.D. (2014) Adubação verde com crotalária consorciada ao minimilho antecedendo a couve-folha sob manejo orgânico. *Revista Ceres*, 61 (6): 956-963.
- Cunha, F.C. (2008) Composto orgânico. Manual Técnico, Niterói – RJ, 10p.
- Dantas, J.L.L., Lucena, R.S., Boas, S.A.V. (2015) Avaliação agrônomo de linhagens e híbridos de mamoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37(1): 138-148.
- Dantas, J.L.L., Neto, M.T. de C. (2000) Aspectos botânicos e fisiológicos. In: Mamão Produção: aspectos técnicos, Brasília Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 11-14p.
- Day, D., Evans, R.J., Lee, J.W., Reicosky, D. (2005) Economical CO₂, SO_x and NO_x capture from fossil-fuel utilization with combined renewable hydrogen production and large-scale carbon sequestration. *Energy*, 30:2558-2579.
- Deaker, R., Roughley, R. J., Kennedy, I. R. (2004). Legume seed inoculation technology—a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(8): 1275-1288.

- Dellamatrice, P.M., Monteiro, R.T.R. (2014) Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18:1296-1301.
- Diniz, E. R., Santos, R. H. S., Urquiaga, S. S., Peternelli, L. A., Barrella, T. P., de Freitas, G. B. (2007) Green manure incorporation timing for organically grown broccoli. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42 (2): 199-206.
- Diniz, E.R. (2011.) Efeito de doses de adubo verde em cultivos sucessivos de brócolis, abobrinha e milho. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 101p.
- Dobereiner, J. (1992) Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N₂ fixing bacteria. *Ciência e cultura*, 44: 310-313.
- Döbereiner, J., Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. (1995) Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Seropédica.
- Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997) Manual de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro.
- Façanha, A.R., De Meis, L. (1998) Reversibility of H⁺-ATPase and H⁺-pyrophosphatase in tonoplast vesicles from maize coleoptiles and seeds. *Plant physiology*, 116:1487-1495.
- Fagan, E.B., Medeiros, S.L.P., Manfron, P.A., Casaroli, D., Simon, J., Neto, D.D., van Lier, Q. de J., Santos, O.S., Müller, L. (2007) Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja – revisão. *Revista FZVA*. 14(1):89-106.
- Falhof, J., Pederson, J.T., Fuglsang, A.T., Palmgren, M. (2016) Plasma membrane H⁺-ATPase regulation in the center of plant physiology. *Molecular Plant*, 9(3): 323-337.

- Faria, J., B., Cavalca, M. M., Ferreira, R. C., Janzanti, N. S. (1994) Transformações enzimáticas das substâncias pecticas da manga (*Mangifera indica* L.) v. Haden no amadurecimento. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, 14: 189-201.
- Fernandes Júnior, P.I. (2006) Composições poliméricas a base de carboximetilcelulose e amido com veículo de inoculação de rizóbio em leguminosas. Dissertação (Mestrado) – Seropédica – RJ, Universidade Rural do Rio de Janeiro – UFRJ, 43f.
- Fiske, C.H., Subbarow, Y. (1925) The colorimetric determination of phosphorus. *The Journal of Biological Chemistry*, 66:375-400.
- Fontes, R.V., Viana, A.P., Pereira, M.G., Oliveira, J.G. de O., Vieira, H.D. (2012) Manejo da cultura do híbrido de mamoeiro (*Carica papaya* L.) do grupo “formosa” UENF/CALIMAN – 01 para melhoria na qualidade do fruto com menor aplicação de adubação NPK. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(1): 143-151.
- Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D.W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D.C., Myhre, G., Nganga, J., Prinn, R., Raga, G., Schulz, M., Van Dorland, R. (2007) Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. Cambridge University Press, 333p.
- Freire, L.R. (2013) Manual de calagem adubação do estado do Rio de Janeiro. Brasília, p. 430.
- Galinato, S.P., Yoder, J.K., Granatstein, D. (2011) The economic value of biochar in crop production and carbon sequestration. *Energy Policy*, 39:6344-6350.

- Gardi, C., Angelini, M., Barceló, S., Comerma, J., Cruz, G.C., Encina Rojas, A., Jones, A., Krasilnikov, P., Santos, M., Brefin, M.L., Montanarella, L., Ugarte, M.O., Schad, P., Rodríguez, V.M.I., Vargas, R. (2014) Atlas de suelos de América Latina Y el Caribe. União Européia, p. 76.
- Giannini, J.L., Briskin, D.P. (1987) Proton transport in plasma membrane and tonoplast vesicles from red beet (*Beta vulgaris* L.) storage tissue a comparative study of ion effects on ΔpH and $\Delta\Psi$. *Plant physiology*, 84:613-618.
- Glaser, B. (2006) Prehistorically modified soils of central Amazonia: a model for sustainable agriculture in the twenty-first century. *The Royal Society*, 362: 187-196.
- Glaser, B., Lehman, J., Zech, W. (2002) Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soil in the tropics with charcoal – a review. *Biology and Fertility of Soils*, 35:219:230.
- Glick, B.R. (2012) Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and application científica. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>. Acesso 07 de março de 2015.
- Godoy, A.E., Jacomino, A.P., Cerqueira-Pereira, E.C., Gutierrez, A.S.D., Vieira, C.E.M., Forato, L.A.(2010) Injúrias mecânicas e seus efeitos na qualidade de mamões Golden. *Revista Brasileira de Fruticultura*.
- Gomes, T.C.A., Silva, M.S.L., Silva, J.A.M.E; Carvalho, N.C.S.; Soares, E.M.B. (2005) Padrão de decomposição e liberação de nutrientes de adubos verdes em cultivos de uva e manga do Submédio São Francisco. Petrolina: Embrapa Semi – Árido. 1: 24.
- Hernani, L. C., Endres, V. C., Pitol, C., Salton, J. C. (1995) Adubos verdes de outono/inverno no Mato Grosso do Sul. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste. 4: 93p.

- International Biochar Initiative – Biochar use in soils: <http://www.biochar-international.org/biochar/soils> em 24/11/2015.
- Jeffery, S., Verheijen, F.G.A., van der Velde, M., Bastos, A.C. (2011) A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 144:175-187.
- Jindo, K., Sánchez-Monedero, M.A., Hernández, T., García, C., Furukawa, T., Matsumoto, K. (2012) Biochar influences the microbial community structure during manure composting with agricultural wastes. *Science of the Total Environment*, 416:476-481.
- Junior, F. B. dos R., Mendes, I., de C. (2007) Biomassa microbiana do solo. 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 40p.
- Kauffman, N., Dumortier, J., Hayes, D., Brown, R.C., Laird, D.A. (2014) Producing energy while sequestering carbon? The relationship between biochar and agricultural productivity. *Biomass and Bioenergy*, 63: 167-176.
- Kim, H.S., Kim, K.R., Yang, J.E., Ok, Y.S., Owens, G., Nehls, T., Wessolek, G., Kim, K.H. (2016) Effect of biochar on reclaimed tidal land soil properties and maize (*Zea mays* L.) response. *Chemosphere*, 142:153-159.
- Kuss, A.V., Kuss, V.V., Lovato, T., Flôres, M.L. (2007) Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(10):1459-1465.
- Laird, D.A., Fleming, P., Davis, D.D., Horton, R., Wang, B., Karlen, D. L. (2010) Impacto f biochar amendments on the quality of a typical Midwestern agricultural soil. *Geoderma*, 158: 443-449.
- Lehmann, J., Rillig, M.C., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., Crowley, D. (2011) Biochar effects on soil biota – A review. *Soil Biology & Biochemistry*, 43:1812-1836.

- Lehmann, J.; Joseph, S. (2009) Biochar for Environmental Management. [s. l: s. n.] 1:449p.
- Leite, L.F.C., Araújo, A.S.F. (2007) Ecologia microbiana do solo. Teresina, Embrapa Meio-Norte, p. 24.
- Lin, Y., Munroe, P., Joseph, S., Henderson, R. (2012) Migration of dissolved organic carbono in biochars and biochar-mineral complexes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(5): 677-686.
- Liu, F., Xing, S., Ma, H., Du, Z., Ma, B. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria affect the growth and nutrient uptake of *Fraxinus americana* container seedlings. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(10): 4617-4625.
- Liu, S., Tang, W., Yang, F., Meng, J., Chen, W., Li, X. (2016) Influence of biochar application on potassium-solubilising *Bacillus mucilaginosus* as potencial biofertilizer. *Preparative Biochemistry and Biotechnoly*.
- Lua, A.C., Yang, T., Guo, J. (2004) Effects of pyrolysis conditions on the properties of activated carbons prepared from pistachio-nut shells. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 72(279-287).
- Luengo, C.A., Feffi, F.E.F., Bezzon, G. (2008) Pirólise e torrefação de biomassa. In: Cortez, L.A.B., Lora, E.E.S., Gómez, E.O. Biomassa para energia. Campinas, p. 333-351.
- Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S.J., Lehman, J. (2010) Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant Soil*. 333: 117-128.
- Marin, S., Magan, N., Belli, N., Ramos, A.J., Sanchis, V. (1999) Two-dimensional profiles of fumonisin B₁ production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in relation to environmental factors and potential for modeling

toxin formation in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, 51:159-167.

Mathews, J.A. (2008) Carbon-negative biofuels. *Energy Policy*, 36:940-945.

Michelis, M.I., Spanswick, R.M. (1986) H⁺-pumping driven by the vanadate-sensitive ATPase in membrane vesicles from corn roots. *Plant physiology*, 81:542-547.

Ministério da Agricultura:
<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2014/12/produto-interno-bruto-da-agropecuaria-deve-ser-de-rs-1-trilhao> em 11/02/2016.

Moreira, F.S., Siqueira, J.O. (2006) *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Editora UFLA, Lavras, MG.

Muhammad, N., Dai, Z., Xiao, K., Meng, J., Brookes, P. C., Liu, X., Wang, H., Wu, J., Xu, J. (2014) Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstock and their relationships with soil chemical properties. *Geoderma*, 270-278.

Nóbrega, I. P. C. (2011) *Efeitos do Biochar nas propriedades físicas e químicas do solo: - Sequestro de carbono no solo*. Universidade de Lisboa.

Novais, R.D., Alvarez, V.H., Barros, N.F., Fontes, R.L., Catarutti, R.B., Neves, J.C.L. (eds.) (2007) *Fertilidade do Solo*. Viçosa.

Noyce, G.L., Basiliko, N., Fulthorpe, R., Sackett, T.E., Thomas, S.C. (2015) Soil microbial responses over 2 years following biochar addition to a north temperate forest. *Biology and Fertility of Soils*, 51:649-659.

O'Neill, E., Pozzi, C., Houston, P., Smyth, D., Humphreys, H., Robinson, D.A., O'Gara, J.P. (2007) Association between methicillin susceptibility and biofilm

- regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 45:1379-1388.
- Oleszczuk, P., Josko, I., Kusmierz, M. (2013) Biochar properties regarding to contaminantes contente and ecotoxicological assessment. *Journal of Hazardous Material*, 260:375-382.
- Oliveira, F. N. S., Lima, H. J. M., Cajazeira, J. P. (2004). Uso da Compostagem em Sistemas Agrícolas Orgânicos. Fortaleza: Embrapa Agroindustrial Tropical, 1:17.
- Olmo, M., Villar, R., Salazar, P., Albuquerque, J.A. (2016) Changes in soil nutriente availability explain biochar's impact on wheat root development. *Plant Soil*, 399:333-343.
- Paixão, M.V.S., Schmildt, E.R., Mattiello, H.N., Ferreguetti, G.A., Alexandre, R.S. (2012) Frações orgânicas e mineral na produção de mudas de mamoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(4): 1105-1112.
- Petry, H.B., Koller, O.C., Bender, R.J., Schwarz, S.F. (2012) Qualidade de laranjas 'valência' produzidas sob sistemas de cultivo orgânico e convencional. *Revista Brasileira Fruticultura*. 34(1):167-174.
- Petter, F.A., Junior, B.H.M., Andrade, F.R., Schossler, T.R., Gonçalves, L.G., Marimon, B.S. (2012) Biochar como condicionador de substrato para a produção de mudas de alface. *Revista Agrarian*, 5(17): 243-250.
- Pinto, F. de O., Helaine, C.C.R., Cardoso, D.L., da Luz, L.N., Pereira, M.G. (2013) Desenvolvimento de genótipo de mamoeiro tolerante à mancha fisiológica. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(4): 1101-1115.
- Prayogo, C., Jones, J.E., Baeyen, J., Bending, G.D. (2014) Impacto f biochar on mineralisation of C and N fron, soil and willow litter and its relationship with

- microbial community biomass and structure. *Biology and Fertility of Soils*, 50:659-702.
- Prins, M.J., Ptasinski, K.J., Janssen, F.J.J.G. (2006) Torrefaction of wood. Weight loss kinetics. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 77:28-34.
- Qian, M., Kumar, A., Zhang, H., Bellmer, D., Huhnke, R. (2015) Recent advances in utilization of biochar. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42:1055-1064.
- Quilliam, R.S., Deluca, T.H., Jones, D.L. (2013) Biochar application reduces nodule formation but increases nitrogenase activity in clover. *Plant and Soil*, 366:83-92.
- Ramanathan, T., Abdala, A.A., Stankovich, S. (2008) Functionalized graphene sheets for polymer nanocomposites. *Polymer*, 52:5-25.
- Rezende, E.I.P., Angelo, L.C., dos Santos, S.S., Mangrich, A.S. (2011) Biocarvão (biochar) e sequestro de carbono. *Revista Virtual de Química*. 3(5):426-433.
- Riahi, K., Kriegler, E., Johnson, N., Bertram, C., den Elzen, M., Eom, J., Schaeffer, M., Edmonds, J., Isaac, M., Krey, V., Longden, T., Luderer, G., Méjeran, A., McCollum, D.L., Mima, S., Turton, H., van Vuuren, D.P., Wada, K., Bosetti, V., Capros, P., Criqui, P., Hamdi-Cherif, M., Kainuma, M., Edenhofer, O. (2014) Locked into Copenhagen pledges – Implications of short-term emission targets for the cost and feasibility of long-term climate goals. *Technological Forecasting & Social Change*, 90: 8-23.
- Santos, A.T.L., Henrique, N.S., Shhlindwein, J.A., Ferreira, E., Stachiw, R. (2014) Aproveitamento da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos para produção de composto orgânico. *Revista Brasileira de Ciências da Amazônia*. 3(1):15-28.

- Silva, C.F., Pereira, M.G., Miguel, D.L., Feitora, J.C.F., Loss, A., Menezes, C.E.G., Silva, E.M.R. (2012) Carbono orgânico total, biomassa, microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio vale do paraíba do sul (RJ). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36:1680-1689.
- Silva, M. A., Martins, E. S., Amaral, W. K., Silva, H. S., Martines, E. A. L. (2015.) Compostagem: Experimentação Problematicadora e Recursos Interdisciplinar no Ensino de Química. *Química Nova Escola*, 37(1): 71-81.
- Silva, M.S.L., Araújo, A.H.R.C., Pinto, M.R.B., Ferreira, G.B., Silva, D.J., Cunha, T.J.F. (2013.) Coquetel vegetal: produção de fitomassa e terrores de macro e micronutrientes de espécies para adubação de espécies para adubação verde e/ou cobertura do solo, Pernambuco: I Reunião Nordestina de Ciências do Solo, p. 1-4.
- Sohi, S.P., Krull, E., Lopez-Capel, E., Bol, R. (2010) A review of biochar and its use and funcional in soil. *Advances in Agronomy*. 105:47-82.
- 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.
- Souza, F.X. (2001) Materiais para formulação de substratos na produção de mudas e no cultivo de plantas envasadas. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 21p.
- Steinbeiss, S., Gleixner, G., Antonietti, M. (2009) Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. *Elsevier*, 41: 1301-1310.
- Taiz, E., Zeiger, E. (2006) *Fisiologia Vegetal*. 3. ed.
- Tang, J., Zhu, W., Kookana, R., Katayama, A. (2013) Characteristics of biochar and its application in remediation of contaminated soil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116:653-659.

- Tavoni, M., Kriegler, E., Riahi, K., Vuuren, D.V., Aboumahboub, T., Bowen, A., Calvin, K., Campiglio, E., Kober, T., Jewell, J., Luderer, G., Marangoni, G., McCollun, D., Sluisveld, M.V., Zimmer, A., Zwaan, B.V.D. (2014) Post-2020 climate agreements in the major economies assessed in the light of global models. *Nature climate change*. 1-16.
- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., Nardi, S. (2016) Humic substances biological activity at the plant-soil interface. *Plant Signaling & Behavior*, 11:32.
- Usman, A.R.A., Al-Wabel, M., OK, Y.S., Al-Harbi, A., Wahb-Allah, M., El-Naggar, A.H., Ahmad, M., Al-Faraj, A., Al-Omran, A. (2016) *Concarpus* biochar induces changes in soil nutrient availability and tomato growth under saline irrigation. *Pedosphere*, 26:27-38.
- Vitousek, P.M., Farrington, H. (1997) Nutrient limitation and soil development: Experimental tests of a biogeochemical theory. *Biogeochemical*, 37(1): 63-75.
- Warnock, D.D., Lehman, J., Kuyper, T.W., Rillig, M.C. (2007) Mycorrhizal responses to biochar in soil – concepts and mechanisms. *Plant and Soil*, 300:9-20.
- 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(6): 1583-1595.
- Zhang, X., Wang, H., He, L., Lu, K., Sarmah, A., Li, J., Bolan, N.S., Pei, J., Huang, H. (2013) Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metal and organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 20:8472-8483.

Zong, Y., Xiao, Q., Lu, S. (2015) Acidity, water retention, and mechanical physical quality and a strongly acidic Ultisol amended with biochars derived from diferente feedstocks. *Journal of Soils and Sediments*.