

DINÂMICA POPULACIONAL DE BACTÉRIAS CULTURÁVEIS  
DURANTE A VERMICOMPOSTAGEM E AVALIAÇÃO DO  
POTENCIAL BIOINOCULANTE DOS ISOLADOS BACTERIANOS.

**RÉGIS JOSUÉ DE ANDRADE REIS**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO– 2014

DINÂMICA POPULACIONAL DE BACTÉRIAS CULTURÁVEIS  
DURANTE A VERMICOMPOSTAGEM E AVALIAÇÃO DO  
POTENCIAL BIOINOCULANTE DOS ISOLADOS BACTERIANOS.

**RÉGIS JOSUÉ DE ANDRADE REIS**

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 Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Fábio Lopes Olivares  
Coorientador: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO– 2014

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 082/2014

Reis, Régis Josué de Andrade

Dinâmica populacional de bactérias culturáveis durante a vermicompostagem e avaliação do potencial bionoculante de isolados bacterianos / Régis Josué de Andrade Reis. – 2014.

114 f. : il.

Orientador: Fábio Lopes Olivares.

Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

Bibliografia: f. 72 – 86.

1. Vermicomposto 2. Bactérias diazotróficas 3. Promoção do crescimento vegetal I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 631.875

DINÂMICA POPULACIONAL DE BACTÉRIAS CULTURÁVEIS  
DURANTE A VERMICOMPOSTAGEM E AVALIAÇÃO DO  
POTENCIAL BIOINOCULANTE DOS ISOLADOS BACTERIANOS.

**RÉGIS JOSUÉ DE ANDRADE REIS**

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 Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 20 de Março de 2014

Comissão Examinadora

---

Prof<sup>a</sup>.Aline Chaves Intorne (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) – UENF

---

Pesq. Adriana Maria de Aquino (D.Sc., Ciência do Solo) – EMBRAPA  
Agrobiologia

---

Prof. Luciano Pasqualoto Canellas (Ph.D., Ciência do solo) – UENF  
(Coorientador)

---

Prof. Fábio Lopes Olivares (Ph.D., Microbiologia do Solo) – UENF

(Orientador)

Dedico este trabalho em especial aos meus pais: Helena Judith de Andrade, Fernando Antônio Antonucci e José Natalino dos Reis pelo apoio incondicional durante essa minha caminhada acadêmica, não me esquecendo de meus avós: Dandão (minha inspiração de vida) e Dona Eva pelos carinhos e conselhos concedidos em toda minha jornada. Dedico também à minha querida irmã Emiliane, ao meu sobrinho Heitor, bem como a todos familiares e amigos que acompanharam todo meu esforço e trabalho para a conclusão dessa dissertação e enfim o tão sonhado título de mestre.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original" Albert Einstein

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ter me ungido todos os dias dessa caminhada;

Aos meus pais, que lutaram junto comigo para que este sonho se tornasse realidade;

A minha irmã, namorada e familiares por terem me dado todo apoio e incentivo nessa luta;

Aos meus amigos, pelas orações e pelos pensamentos positivos para que eu pudesse alcançar meus objetivos;

Aos membros do grupo NUDIBA da UENF (Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura) por todo ensino e apoio;

E mais do que nunca, aos Professores Fábio Lopes Olivares, Luciano Canellas e André Narvaes da Rocha Campos por toda aprendizagem concedida e paciência no seguimento dessa minha vida acadêmica e mais do que nunca, por terem sido mais que professores e orientadores, sendo grandes amigos nessa jornada;

Por fim, ao Programa de Pós-Graduação/UENF pela bolsa de mestrado, bem como ao CNPq, FAPERJ e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Fixação Biológica de Nitrogênio (INCT-FBN) que viabilizaram a execução deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Vermicompostagem. ....	5
2.2 Bactérias associadas ao vermicomposto. ....	7
2.3 Bactérias promotoras do crescimento vegetal .....	9
2.4 Insumos Biológicos.....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
3.1. Produção do vermicomposto e sua composição química. ....	15
3.1.1 Caracterização dos Vermicompostos.....	16
3.1.1.1 Ensaios de germinação.....	17
3.1.1.2 Análise de carbono (C) e nitrogênio (N). ....	18
3.2. Quantificação populacional de bactérias. ....	19
3.2.1. Bactérias heterotróficas totais .....	19
3.2.2. Bactérias diazotróficas. ....	19
3.3. Preservação em água estéril;.....	20
3.4. Isolamento das bactérias diazotróficas e heterotróficas dos vermicompostos;.....	21
3.5. Caracterização morfológica e cultural dos isolados; .....	21
3.6. Capacidade de solubilizar P e Zn;.....	22
3.7. Capacidade de produzir compostos indólicos;.....	23
3.8. Ensaios de promoção do crescimento em milho.....	23
3.9 Análise estatística; .....	26
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
4.1 Caracterização dos vermicompostos em diferentes tempos de maturação. ....	27
4.1.1 Dinâmica de nutrientes nos vermicompostos. ....	27
4.1.2 Ensaio de germinação e fitotoxicidade. ....	34
4.2. Quantificação populacional de bactérias associadas aos vermicompostos.....	36

4.3. Caracterização morfológica e cultural dos isolados bacterianos obtidos durante os tempos 30 e 60 de maturação dos vermicompostos;.....	45
4.4. Características fenotípicas dos isolados nos tempos T30 e T60.....	50
4.5. Ensaio comparativos de promoção do crescimento de plantas de milho envolvendo bactérias isoladas dos vermicompostos. ....	55
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>70</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>72</b>
<b>7. APÊNDICES .....</b>	<b>87</b>



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Minhobox <sup>®</sup> utilizado para o processo de vermicompostagem.....	16
Figura 2. Caracterização morfológica de colônias bacterianas.....	22
Figura 3. Variações na umidade relativa do ar.....	92
Figura 4. Variações de temperatura.....	92
Figura 5. Fluxo de fótons fotossintético.....	93
Figura 6. Alterações percentuais do carbono e do nitrogênio totais.....	28
Figura 7. Variação na relação entre o carbono e o nitrogênio (C/N).....	29
Figura 8. Variação do pH, soma de bases e teor de macronutrientes.....	31
Figura 9. Variação no teor de micronutrientes.....	33
Figura 10. Percentagem do índice de germinação.....	35
Figura 11. Percentagem do índice de germinação.....	35
Figura 12. Densidade populacional de bactérias heterotróficas.....	37
Figura 13. Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas.....	39
Figura 14. A: Contagem de bactérias.....	42
Figura 15. Diversidade de morfotipos de colônias.....	44
Figura 16. Diversidade de morfotipos de colônias.....	44
Figura 17. Caracterização da célula.....	50
Figura 18. Solubilização de P e ZN.....	52
Figura 19. Produção de compostos indólicos.....	54
Figura 20. Produção de compostos indólicos.....	54

Figura 21. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	58
Figura 22. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	59
Figura 23. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	60
Figura 24. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	62
Figura 25. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	63
Figura 26. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	64
Figura 27. Raízes de plântulas de milho.....	65
Figura 28. Efeito da aplicação combinada de vermicomposto.....	68
Figura 29. Efeito da aplicação combinada de vermicomposto.....	69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química/física do material orgânico.....	87
Tabela 2. Análise química dos vermicompostos T30.....	88
Tabela 3. Análise química dos vermicompostos T60.....	89
Tabela 4. Análise química dos vermicompostos T90.....	90
Tabela 5. Análise química dos vermicompostos T120.....	91
Tabela 6. Classificação qualitativa de fitotoxicidade dos vermicompostos.....	18
Tabela 7. Análise química do solo antes e pós-correção.....	24
Tabela 8. Análise do vermicomposto de esterco bovino utilizado.....	24
Tabela 9. Isolados bacterianos utilizados nos ensaios de inoculação.....	25
Tabela 10. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	94
Tabela 11. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	95
Tabela 12. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	96
Tabela 13. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	97
Tabela 14. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	98
Tabela 15. Médias obtidas para tratamentos e variáveis.....	99
Tabela 16. Número de isolados de bactérias heterotróficas.....	43
Tabela 17. Número de isolados de bactérias diazotróficas.....	43
Tabela 18. Características das colônias dos isolados bacterianos.....	46
Tabela 19. Características das colônias dos isolados bacterianos.....	47

Tabela 20. Características morfológicas dos isolados bacterianos.....	48
Tabela 21. Características morfológicas dos isolados bacterianos.....	49
Tabela 22. Capacidade de solubilização de P e Zn.....	51
Tabela 23. Capacidade de solubilização de P e Zn.....	52
Tabela 24. Efeito dos substratos dentro das variáveis biométricas.....	55
Tabela 25. Efeito dos substratos dentro das variáveis biométricas.....	56
Tabela 26. Efeito da aplicação do vermicomposto em plantas.....	66

## RESUMO

REIS, Régis Josué de Andrade, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2014. Título "**Dinâmica populacional de bactérias culturáveis durante a vermicompostagem e avaliação do potencial bioinoculante dos isolados bacterianos.**" Coorientador: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas. Orientador: Prof. Fábio Lopes Olivares.

A vermicompostagem se dá pela ação das minhocas sobre os resíduos orgânicos, produzindo material estabilizado de elevada qualidade agrônômica, devido à atividade microbiana presente nos dejetos das minhocas após o pastejo de resíduos orgânicos. No presente trabalho foi realizado o monitoramento da dinâmica populacional e o isolamento de bactérias associadas à vermicompostos em diferentes estádios de maturação, bem como a avaliação do potencial de promoção do crescimento vegetal das bactérias isoladas. Foram utilizados dois substratos orgânicos para a produção dos vermicompostos: torta de filtro de cana-de-áçúcar (VC-TF) e esterco bovino (VC-EB). Estes foram acondicionados em caixas de minho-box após 30 dias de compostagem, e minhocas da espécie *Eisenia foetida* (minhoca vermelha da Califórnia) foram adicionadas na proporção de 5 Kg por m<sup>3</sup> de substrato. Amostras aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias foram utilizadas para a quantificação das bactérias (diazotróficas e heterotróficas), o isolamento, a caracterização morfológica e cultural dos isolados, a capacidade de

fixar nitrogênio, solubilizar P e Zn e produzir compostos indólicos. Em casa de vegetação, foram realizados ensaios de promoção do crescimento de plantas de milho, inoculadas com os isolados bacterianos obtidos. Diferentes matérias-primas e estádios de maturação dos vermicompostos influenciaram na diversidade e na densidade bacteriana, obtendo aos 30 dias de vermicompostagem as maiores médias apresentadas. O VC-TF foi capaz de abrigar maiores densidades populacionais de bactérias durante a vermicompostagem. Dos quarenta isolados do T30 e T60 testados, 100% foram capazes de produzir compostos indólicos na presença ou ausência de triptofano, 85% apresentaram características Gram negativas, 60% foram capazes de solubilizar P e 80% solubilizaram Zn. Estes isolados quando testados na promoção de crescimento de planta milho obtiveram resultados expressivos, destacando alguns grupos com eventual potencial no desenvolvimento de plantas.

**Palavras-chave:** Vermicompostos, bactérias diazotróficas, promoção do crescimento vegetal.

## ABSTRACT

REIS, Régis Josué de Andrade, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March, 2014. Título "**Culturable population dynamics of bacteria during vermicomposting and evaluation of bioinoculant potential of bacterial isolates.**" Co-advisor: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas. Advisor: Prof. Fábio Lopes Olivares.

Vermicomposting is given by the action of earthworms on organic waste, producing stabilized material of high quality agronomic, due to this the waste of earthworms after grazing organic waste microbial activity. In the present work, the monitoring of population dynamics and isolation of bacteria associated with vermicomposting was performed in different stages of maturation, as well as evaluation of potential plant growth promoting bacteria isolated. Pie of cane sugar (VC-TF) and cattle manure (VC-EB) filter: two organic for production of vermicompost substrates were used. These were packed in boxes minho-box after 30 days of composting and earthworms *Eisenia foetida* (red worm California) were added at a ratio of 5 kg per m<sup>3</sup> substrate. Samples at 0, 30, 60, 90 and 120 days were used for quantification of bacteria (heterotrophic and diazotrophic), isolation, morphological and cultural characterization of isolates, ability to fix nitrogen, solubilize P and Zn and produce indole compounds. In greenhouse assays, promoting the growth of corn plants inoculated with the bacterial isolates obtained were performed. Different raw materials and maturation stages of

vermicomposting influence on diversity and bacterial density, obtaining 30 days of vermicomposting higher averages presented. The VC-TF was able to accommodate higher densities of bacteria during vermicomposting. Of the forty T30 and T60 isolates tested were 100% capable of producing indole compounds in the presence or absence of tryptophan, 85% were Gram negative characteristics, 60% were able to solubilize P solubilized and 80% Zn. These isolates when tested in growth promotion of maize plant achieved significant results, highlighting some groups with possible potential in developing plants.

**Keywords:** Vermicultures, diazotrophic, plant growth promotion.



## 1. INTRODUÇÃO

A produção agrícola sustentável envolve o desenvolvimento de diversas estratégias de manejo para aumentar a eficiência da utilização dos recursos naturais e reduzir o impacto ambiental, visando o equilíbrio no sistema de produção agroecológica (Reis et al., 2012; Andreola e Fernandes, 2007). Estes sistemas privilegiam práticas como a cobertura do solo, a utilização de compostos orgânicos, a adubação verde, a rotação de cultura, o incremento no teor de matéria orgânica no solo, o estímulo à atividade da macro e microfauna, o policultivo e os sistemas integrados de produção (Reis et al., 2012; Andreola e Fernandes, 2007).

A geração de insumos agrícolas para sistemas sustentáveis deve ser menos dependente de recursos não renováveis e alinhados com a redução dos impactos ecológicos negativos da agricultura sobre o ambiente. Microrganismos, seus processos e produtos se destacam como os principais componentes dos insumos biológicos e assumem papel decisivo na geração de tecnologias para uma nova agricultura (Canellas et al., 2013). A construção deste conhecimento depende de estudos voltados para a descrição da estrutura e função das comunidades microbianas no solo, na rizosfera, na planta e em outros materiais utilizados nos sistemas de produção vegetal. Estes trabalhos visam otimizar processos-chave para o equilíbrio dos ecossistemas, tais como: ciclagem de resíduos orgânicos, fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização de minerais fosfatados e produção de

fitormônios (Olivares, 2009). Os microrganismos e a matéria orgânica e as suas frações são componentes cruciais na composição deste novo modelo e seu uso combinado em insumos biológicos tem produzido resultados expressivos. Baldotto et al., (2012) verificaram um efeito sinérgico da combinação da vermicompostagem com bactérias benéficas sobre plântulas de milho. Deste modo é evidente que a matéria orgânica é um mediador chave de processos microbianos no solo.

Dentre as diferentes fontes de matéria orgânica estabilizadas é possível destacar os vermicompostos. Estes chegam de forma acelerada à estabilização, obtida pela atividade digestória das minhocas sobre o material orgânico. O trato intestinal das minhocas é abundante em microrganismos, enzimas e hormônios que aceleram os processos de humificação via biocatálise e bioconversão dos materiais (Martinez, 1991; Ghosh et al., 1999). O produto final (dejetos da minhoca) concentra nutrientes prontamente disponíveis para as plantas (Orozco et al., 1996; Edwards, 1998), apresenta alta porosidade e capacidade de retenção de água, criando um nicho bastante propício à atividade microbiana (Shi-Wei e Fu-Zhen, 1991). Então, além das potencialidades de uso do vermicomposto como condicionador físico-químico do solo em diferentes sistemas de produção vegetal, este fornece nutrientes para o crescimento de plantas (Kale et al., 1992; Edwards, 1998).

Os vermicompostos são fontes de diversidade microbiana cujos impactos sobre a biologia do solo são ainda pouco explorados. A prospecção, o entendimento do papel e da atividade de comunidades bacterianas presentes nos vermicompostos podem ampliar as possibilidades de desenvolvimento de bioinoculantes e substratos biologicamente enriquecidos na agricultura. Aguiar, (2012) em estudos de prospecção bacteriana em diferentes vermicompostos maturados isolou 89 microrganismos distribuídos nos filos *Proteobacteria* (alfa, beta, gama), *Firmicutes* e *Actinobacteria*, evidenciando a riqueza bacteriana destes materiais. Do estudo de Aguiar, (2012) também ficou evidente que, dependendo do material de origem, vermicompostos podem abrigar diferentes densidades populacionais.

Balmori e colaboradores, (2013) investigando vermicompostos produzidos a partir de esterco bovino e torta de filtro de cana-de-açúcar deram um passo adicional na compreensão das interações entre diferentes

vermicompostos e microrganismos. Combinando a caracterização molecular dos compostos orgânicos presentes nos resíduos por meio da técnica da pirólise *off-line* acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas e diferentes métodos de contagem de bactérias nativas e introduzidas nos materiais, os autores concluíram que a capacidade diferencial dos vermicompostos em abrigar bactérias resulta, em parte, de diferenças no seu conteúdo de compostos nitrogenados e carboidratos, alcoóis de cadeia longa e compostos hidrofóbicos (ligninas e ácidos graxos).

Tais estudos conduzidos no Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura (NUDIBA) da UENF, apontam a matéria húmica na forma de vermicomposto como um veículo adequado para preservação da viabilidade de suspensões de células bacterianas presentes nos inoculantes. O desenvolvimento de tecnologias que contemplem sua participação em formulações microbianas simples ou complexas poderá resultar em ganhos agrônômicos e ecológicos (Canellas e Olivares, 2014).

O conhecimento ecofisiológico dos microrganismos e sua dinâmica quando associados aos vermicompostos pode ser uma das bases para a proposição de diferentes bioinoculantes, fertilizantes organominerais e substratos bioativos fundamentados em tecnologias baseadas em processos biológicos. Nesse trabalho foi avaliada a dinâmica populacional de bactérias em diferentes vermicompostos durante o curso de sua maturação. Em paralelo, os isolados obtidos foram caracterizados quanto a traços fenotípicos para a promoção do crescimento em ensaios de inoculação e resposta da planta milho em casa de vegetação.

## Hipótese

Propõem-se como hipóteses de trabalho que: (1) matérias-primas distintas e em diferentes estádios de maturação durante o processo de vermicompostagem influenciam qualitativa e quantitativamente a comunidade culturável de bactérias; (2) isolados bacterianos oriundos de vermicompostagem apresentam potencial para promoção do crescimento vegetal.

## Objetivo Geral

Monitorar a dinâmica populacional e isolar bactérias associadas a vermicompostos com diferentes estádios de maturação. Em seguida, avaliar o potencial de promoção do crescimento vegetal dos isolados obtidos.

## Objetivos Específicos

- Caracterizar quimicamente os resíduos orgânicos durante o processo de maturação dos vermicompostos de esterco bovino (EB) e torta de filtro (TF) da cana-de-açúcar;
- Quantificar as populações de bactérias heterotróficas totais e diazotróficas associadas a vermicompostos durante sua maturação;
- Isolar, caracterizar e conservar bactérias obtidas durante o processo da maturação (0, 30, 60, 90 e 120 dias) dos vermicompostos;
- Avaliar 20 isolados (dez heterotróficos e dez diazotróficos) dos tempos 30 e 60 dias de vermicompostagem obtidos neste estudo quanto às características promotoras do crescimento vegetal;
- Avaliar a resposta da planta milho (*Zea mays L.*) quando inoculadas com os 40 isolados, utilizando diferentes substratos (solo/areia e solo/vermicomposto) como veículo de inóculo dos isolados.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Vermicompostagem.

A deposição de resíduos gerados pela atividade humana causa um passivo ambiental e socioeconômico. É necessário, portanto, estabelecer alternativas para a ciclagem destes resíduos sem contaminar ou desequilibrar o meio ambiente. Dentre as alternativas, considera-se a compostagem e vermicompostagem, que são processos naturais capazes de reciclar resíduos orgânicos de diversas origens, contribuindo para a sanidade dos agroecossistemas.

A vermicompostagem destaca-se pela geração de produto final mais homogêneo em comparação com a compostagem, esta caracterizada pela comunidade microbiana que sobrevive em temperaturas mais elevadas (i.e. termofílica) no início do processo seguido do período de maturação com temperaturas mais baixas (i.e. mesofílicas) (Lazcano et al., 2008; Vivas et al., 2009). A vermicompostagem acelera tal processo pela introdução das minhocas (Canellas e Santos, 2005). Deste modo, a vermicompostagem é caracterizada pela atividade conjunta entre microrganismos e minhocas, que processam os resíduos orgânicos até produtos biodegradados ricos em nutrientes. Estes produtos são então reutilizados na promoção do crescimento vegetal (Fracchia et al., 2006; Lazcano et al., 2008). Além de contribuir no

crescimento vegetal, a vermicompostagem por sua vez, contribui também com a degradação de resíduos que podem trazer riscos para a saúde humana, como lixos urbanos e hospitalares (Gandhi et al., 1997).

Como mencionado anteriormente no processo de compostagem, a fase inicial de decomposição da matéria orgânica é termofílica, com geração de calor resultante da atividade microbiana. Em seguida, no período de maturação com temperaturas mais baixas, as minhocas são introduzidas caracterizando a fase de vermicompostagem, que auxilia no processo de humificação ao acelerar a transformação dos resíduos e produzir compostos de alta qualidade (Harris et al., 1990). A adição de minhocas após a fase termofílica acelera a decomposição dos materiais de 2 a 5 vezes em relação à compostagem, reduzindo o tempo de estabilização com produção de biofertilizantes em curto prazo de tempo (Bhatnagar e Palta, 1996; Atiyeh et al., 2000). O grau de decomposição da matéria orgânica é caracterizado pela sua estabilidade, representada pela atividade microbiana (Conti et al., 1997). Já a maturidade do composto pode ser avaliada pelo seu efeito fitotóxico (Wu et al., 2000).

Com a atuação das minhocas, é observado aumento da atividade microbiana proporcionada pelo funcionamento do trato intestinal, resultando em: maior porosidade do material, aumento da superfície específica pela digestão de macromoléculas, aeração e retenção de água. A passagem da matéria orgânica pelo trato digestório da minhoca gera também produtos ricos em N, P, Mg, Ca e S, (Martinez, 1991). Ademais, pela produção de quantidade considerável de muco intestinal, composto por moléculas proteicas, glicoproteínas e glicosídeos (Pramanik et al., 2009), as minhocas favorecem ainda mais a atividade microbiana no vermicomposto, gerando um gradiente favorável para as complexas transformações dos resíduos (Devi et al., 2009).

Produtos gerados pela vermicompostagem podem ser considerados fonte de diversidade para extração de microrganismos com potencial para produzir substâncias orgânicas biologicamente ativas (Yasir et al., 2009; Aguiar et al., 2012), para degradar compostos aromáticos (Vinceslas-Akpa e Loquet, 1997) e celulose (Aira et al., 2007). Além disso, vermicompostos produzem substâncias húmicas com elevada atividade biológica (Canellas et al., 2010).

A vermicompostagem pode ser uma alternativa para manejo de resíduos de diversas naturezas, tais como: resíduos de hortícolas a partir de batatas

processadas (Edwards, 1988); resíduos de cogumelo (Edwards, 1988; Tajbakhsh et al., 2008); de cavalos (Hartenstein et al., 1979; Edwards et al., 1998); de suíno (Chan e Griffiths, 1988; Reeh, 1992); de sericicultura (Gunathilagraj e Ravignanam, 1996); de cervejaria (Butt, 1993); de cozinha doméstica (Sinha et al., 2002); lodo de esgoto municipal (Dominguez et al., 2000; Mitchell et al., 1980); resíduos agrícolas (Bansal e Kapoor, 2000); ervas daninhas (Gajalakshmi et al., 2001); esterco de bovinos (Gunadi et al., 2002); restos industriais (Butt, 1993; Elvira et al., 1995; Gajalakshmi et al., 2002); lodo de fábricas de papel e fábricas de laticínios (Banu et al., 2001); resíduos urbanos e resíduos de animais (Edwards et al., 1985; Edwards, 1988). Todos esses trabalhos demonstraram a eficácia da vermicompostagem na conversão de resíduos poluentes em materiais úteis ao ecossistema (Sharma et al., 2005).

Já foram realizados estudos envolvendo aplicações de vermicompostos para recomposição da fertilidade do solo, na capacidade de troca catiônica, alteração do pH do solo, relação C/N e nutrição mineral de plantas. Foram verificadas diminuição no pH e na relação C/N no estrume de suínos durante o processo de vermicompostagem (Gandhi et al., 1997; Atiyeh et al., 2000). Dados similares foram obtidos por Albanell et al., (1988), Chan e Griffiths, (1988) e Subler et al., (1998) comparando-se a compostagem tradicional com a vermicompostagem os resultados foram atribuídos a aceleração na transformação da matéria orgânica com a produção de ácidos orgânicos intermediários e concomitante aumento de CO<sub>2</sub> (Elvira et al., 1998; Garg et al., 2006).

## **2.2 Bactérias associadas ao vermicomposto.**

No processo de vermicompostagem é necessária uma etapa anterior chamada de compostagem, na qual a elevada atividade da biomassa microbiana oxida os compostos orgânicos através de reações químicas que liberam calor. Este processo envolve ciclos de sucessão microbiana manifestado pela presença de uma etapa termofílica e outra mesofílica. No entanto, a microbiologia da compostagem é pouco conhecida devido à sua complexidade. A maioria dos microrganismos ainda não é cultivável (Hanssen et al., 2001).

Na vermicompostagem, quando as minhocas começam a atuar sobre o composto, ocorre uma pronunciada alteração qualitativa e quantitativa na comunidade microbiana, estimulando e acelerando uma série de processos bioquímicos de catabolismo de macromoléculas (Binet et al., 1998). A passagem do composto pelo trato intestinal das minhocas permite o desenvolvimento de novas comunidades de microrganismos (Petersen e Luxton, 1982; Lee, 1985; Edwards e Bohlen, 1996). Mudanças na composição da microbiota associadas ao vermicomposto podem ocorrer em função da excreção pelas minhocas de microrganismos decompositores e bactérias fixadoras de nitrogênio presentes em seu intestino (Singleton et al., 2003).

O intestino da minhoca é rico em nutrientes e favorece o aumento da biomassa microbiana por fornecer energia para sua multiplicação (Tiwari et al., 1989). Edwards e Lofty, (1977) relataram que as minhocas modificam a estrutura (morfológica e cultural) de comunidades microbianas no solo e que a passagem do material ingerido pelo seu intestino leva a um incremento das populações de bactérias em até 100 vezes (Edwards e Fletcher, 1988). Aumento semelhante foi observado em contagem de bactérias totais, bactérias proteolíticas e actinomicetos (Parle, 1963; Daniel e Anderson, 1992; Pedersen e Hendriksen, 1993; Devliegher e Verstraete, 1995).

A presença de comunidades microbianas nas diferentes fases de maturação do material pode ser alterada de forma a ocorrer a inserção de novas espécies ou até mesmo o aumento do número de espécies já existentes durante o processo de vermicompostagem. Danon et al., (2008) observaram diferenças entre algumas comunidades presentes em vermicomposto e compostagem. As bactérias pertencentes a filo Actinobacteria e a classe Gammaproteobacteria foram mais abundantes no vermicomposto, enquanto que na compostagem as Alphaproteobacteria e Bacteroidetes predominaram. Grupos filogenéticos específicos de bactérias como *Aeromonas hydrophila* foram encontrados no intestino de minhocas *E. foetida* (Toyota e Kimura, 2000), *Pseudomonas fluorescentes* em *L. terrestris* (Devliegher e Verstraete, 1997), e *Actinobacteria* em *L. rubellus* (Kristufek et al., 1993). Aguiar, (2012) avaliando a densidade populacional de bactérias associadas a vermicompostos maturados oriundos de diferentes resíduos obteve 89 isolados bacterianos.



No processo de vermicompostagem já foram encontradas atividades enzimáticas de celulase, amilase, invertase, protease, peroxidase, urease, fosfatase e desidrogenase (Sharpley e Syers, 1976; Edwards e Bohlen, 1996). Esta última é uma enzima intracelular relacionada com o processo de fosforilação oxidativa (Trevors, 1984) e é um indicador da atividade microbiana no solo e outros ecossistemas biológicos (Garcia et al., 1997). A vermicompostagem e a compostagem tradicional podem se diferenciar quanto às suas atividades enzimáticas máximas, onde foram observadas durante 21 - 35 dias na vermicompostagem e em 42 - 49 na compostagem (Tauk, 1990). Como pode ser visto, a atividade enzimática está relacionada com o tipo de população microbiana, refletindo na dinâmica do processo de decomposição da matéria orgânica e o grau de maturidade deste vermicomposto (Tiquia, 2005).

Números microbianos e seus perfis de enzimas extracelulares são mais abundantes no vermicomposto produzido a partir de resíduos vegetais, cascas de amendoim e estrume bovino em comparação com o composto tradicional da mesma origem parental (Devi et al., 2009). Isto pode ser devido ao fato do intestino das minhocas estar associado a comunidades microbianas distintas. Foram encontradas associadas ao intestino de minhocas as *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Azoarcus*, *Burkholderia*, *Spiroplasma*, *Alcaligenese* *Acidobacterium* com diversos potenciais na degradação de diferentes produtos orgânicos (Singleton et al., 2003). Também foram prospectadas de vermicompostos caseiros várias comunidades microbianas como: *Benzoeverans Bacillus*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. macroides*; *Actinobacteria* nomeadamente *Cellulosimicrobiumcellulans*, *Microbacterium* ssp., *M. oxydans*; *Proteobacteria* como *Pseudomonas* spp, *Libaniensis*, *Sphingomona* ssp. e leveduras *Geotrichum* spp. e *Williopsis californica* (Vaz-Moreira et al., 2008). A microbiota do intestino das minhocas possui comunidades bacterianas capazes de digerir celulose, amido de quitina, lignina e ácidos polilácticos (Zhang et al., 2000; Aira et al., 2007; Vivas et al., 2009).

### **2.3 Bactérias promotoras do crescimento vegetal**

Parte da comunidade bacteriana do solo atua na promoção do crescimento vegetal, sendo reconhecidas como “bactérias promotoras do crescimento vegetal” (BPCV). Dentre os atributos considerados nestes microrganismos estão a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, solubilizar minerais de fosfato a partir de fontes de P não disponível às plantas e produzir e secretar compostos com atividade similar à dos fitormônios. Tais mecanismos estimulam o crescimento e desenvolvimento das plantas, resultando em alterações na arquitetura do sistema radicular, incremento de biomassa, alterações nas relações biométricas entre raízes e parte aérea, aumento da germinação e indução da resistência a pragas e doenças (Amorim e Melo, 2002; Dey et al., 2004). Este conjunto de características relacionadas à biofertilização, à bioestimulação e ao biocontrole de patógenos motiva pesquisas tecnológicas na proposição de novos insumos biológicos na forma de inoculantes microbianos destinados ao incremento da produtividade das plantas (Kloepper et al., 1997).

As BPCV são capazes de disponibilizar nutrientes essenciais ao ciclo de vida dos vegetais, tais como nitrogênio, ferro e fósforo por meio de diferentes mecanismos (Chanway, 1997). Estes efeitos são realizados por grupos funcionais específicos de bactéria, por exemplo, as bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> (diazotróficas), que promovem a conversão do nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Este processo conhecido como Fixação biológica de Nitrogênio (FBN) é considerado um dos mais importantes no ciclo biológico de nutrientes, pois é responsável por 65% do N<sub>2</sub> fixado e potencialmente disponível às plantas (Moreira e Siqueira, 2006).

Outro grupo funcional de bactéria que contribui com a nutrição vegetal são as bactérias solubilizadoras de P. Dentre os mecanismos envolvidos no processo de solubilização, pode-se destacar a secreção de ácidos orgânicos, que atuam na redução do pH e produção de efeitos quelantes. Isto resulta na solubilização de fósforo a partir de fosfato de cálcio em solos menos intemperizados e de fosfato de ferro e alumínio em solos ácidos, tornando estes nutrientes prontamente disponíveis para as plantas (Marra et al., 2012).

Outro atributo das BPCV resulta no aumento da área de exploração do sistema radicular com conseqüente aumento da absorção de água e nutrientes do solo. O principal mecanismo responsável por este fenótipo advém da

secreção de auxinas e compostos com atividade auxínica pelas bactérias (Lee et al., 2004). O incremento de biomassa, a área e o comprimento radicular, o número de raízes laterais e a densidade de pelos radiculares estão entre as modificações estruturais causadas pelas BPCV (Okon e Vanderleyden, 1997). Dentre os hormônios mais comuns encontra-se o grupo das auxinas (Lehmann et al., 2010), giberelinas (Gutierrez-Manero et al., 2001) e citocininas (Tsavkelova et al., 2005).

No que diz respeito à interação estrutural, as BPCV podem ocupar diferentes nichos no sistema solo-planta. As bactérias presentes no solo podem ter suas populações aumentadas pela exsudação de metabólitos diversos através das raízes. Tais bactérias estabelecidas na interface raiz-solo são conhecidas como rizosféricas (Elmerich, 2007). Existem ainda aquelas bactérias que colonizam a superfície das plantas estabelecendo interações epifíticas como filoplano (folhas) ou cauliplano (caule). Porém, no curso da coevolução, bactérias desenvolveram mecanismos para infectar e estabelecer-se no interior dos tecidos da planta hospedeira, que são as interações denominadas endofíticas. Neste caso, as bactérias colonizam principalmente os espaços intercelulares, pelo menos em parte de seu ciclo de vida, sem induzir sintomas aparentes de doença na planta. Alguns táxons de bactérias fixadoras de nitrogênio foram considerados por Döbereiner dentro de uma nova perspectiva de interações entre bactérias e plantas, as bactérias endofíticas diazotróficas.

Vários trabalhos demonstraram os efeitos benéficos das bactérias endofíticas diazotróficas em plantas. Conceição et al., (2008) inocularam sementes de milho com tais bactérias na presença de ácidos húmicos, e observaram o estímulo de crescimento vegetal tanto no uso conjunto como na aplicação isolada. Marques Júnior et al., (2008) inocularam microtoletes de cana-de-açúcar com isolados de *Herbaspirillum seropedicae* HRC54 na presença de ácidos húmicos e observaram estímulo no crescimento radicular com incremento de massa de 120 %. Foi ainda observado um aumento da biomassa da parte aérea com o uso conjunto de ácidos húmicos e BPCV. Weber et al., (2000) observaram um melhor crescimento de mudas micropropagadas de bananeira inoculadas com bactérias endofíticas diazotróficas (*Herbaspirillum* e *Burkholderia*). *Azospirillum brasiliense* Sp245

inoculada em plântulas micropropagadas de *Prunus cerasifera* promoveu incremento da biomassa radicular com produção de ácido indol butírico (Russo et al., 2008). O *A. brasilense* também favoreceu o sistema de defesa da planta contra fitopatogénos.

## 2.4 Insumos Biológicos

A necessidade de evoluir a produção agrícola atraiu o interesse de cientistas para inovações na produção vegetal e para estudos sobre nutrição mineral das plantas. As leguminosas por apresentarem quantidade de nitrogênio maior que as outras plantas, chamaram a atenção de pesquisadores. Assim, o mecanismo de FBN foi descrito com a verificação da presença de bactérias no interior dos nódulos, sugerindo-se que essas bactérias estavam diretamente associadas à nutrição das plantas (Silveira e freitas, 2007).

Novas descobertas, como a autotrofia microbiana, amonificação e nitrificação por Sergei Winogradsky, considerado então pai da microbiologia do solo, permitiram avanços nas pesquisas em busca das relações entre microrganismos e plantas. Começou-se a estabelecer relações entre fertilidade do solo e atividade microbiana (Paul e Clark, 1996). No Brasil, o primeiro centro de pesquisa voltado para essa área foi o Instituto Agronômico de Campinas (IAC), relacionando os microrganismos com a produtividade agrícola. Mais tarde surgiu o IPAGRO no Rio Grande do Sul e a IPEAS- Agrobiologia em Seropédica - RJ (Moreira e Siqueira, 2006).

Com o avanço científico e tecnológico, o mundo presenciou a euforia das altas produtividades no final da década de 50 e início da década 60. A chamada Revolução Verde foi um dos maiores marcos na história da agricultura. Tinha como base a utilização de grandes quantidades de agroquímicos, cultivo intensivo e melhoramento genético na produção vegetal. Com a intensificação dos problemas relacionados às contaminações dos ecossistemas pelas altas concentrações de fertilizantes e pesticidas, pela intoxicação alimentar, pelas perdas da diversidade, pela crise energética e mais recentemente o reconhecimento da dimensão dos efeitos da agricultura sobre as mudanças climáticas globais, alguns grupos de pesquisa convergiram esforços para a busca de tecnologias alternativas. A produção agrícola

sustentável gerou contribuições para as práticas de agricultura orgânica ou agroecológica, que estabeleceu novamente a importância dos processos biológicos (Siqueira et al., 1999). Com base nestes desafios, houve uma chamada para a segunda Revolução Verde com o objetivo de aumentar o rendimento das culturas e melhorar a fertilidade do solo por meio de práticas de manejo (Sanchez, 2002; Piccolo, 2012), culturas com maior tolerância a estresses edáficos (Lynch, 2007) e pelo desenvolvimento de novos insumos com base na otimização de processo biológico (Canellas et al., 2013).

Com os avanços das inovações agrícolas, o Brasil obteve na inoculação da soja com rizóbio uma economia de aproximadamente 6-7 bilhões de dólares ao ano com gastos em fertilizantes nitrogenados (Embrapa, 2012). Deste modo, as interações microbianas no solo são importantes por proporcionar melhorias na produção de alimentos e conservação da qualidade ambiental. Neste sentido, vários trabalhos estão sendo realizados mostrando os efeitos benéficos das interações microbianas.

As associações micorrízicas apresentam grande potencial de exploração na agricultura em razão do aumento da capacidade de absorção de P e de outros nutrientes (Lima et al., 2013). Araújo et al., (2001) avaliaram a influência da dupla inoculação de cepas de *Rhizobium* e fungos micorrízicos na nodulação e no crescimento de leucena. Foi observado que a micorrização aumentou significativamente o número de nódulos em leucena. Os autores concluíram que a dupla inoculação, a bactéria e as micorrizas, contribuem de forma direta para a nodulação e fixação de nitrogênio, incrementando o crescimento da planta.

Outra interação de importância agrícola é referente à associação entre BPCV e plantas nodulíferas. Essa interação tem proporcionado efeitos positivos na nodulação, na FBN e no crescimento das leguminosas. Como exemplo, *Bacillus subtilis* pode favorecer o desempenho simbiótico do rizóbio pelos efeitos na inibição de fitopatógenos ou pela exsudação de fitormônios (Leite e Araujo, 2007). Araújo e Hungria, (1999) estudaram a dupla inoculação *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* em soja e observaram que houve um aumento da nodulação e produtividade de grãos.

Recentemente, a Embrapa Agrobiologia (Seropédica/RJ) abriu concessão para quatro empresas para o desenvolvimento de inoculantes

baseados em cinco estirpes (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia* sp.), utilizando a turfa como veículo inoculante em cana-de-açúcar. Espera-se uma redução nos custos de produção, com economia de 30 kg N/ha/ano (Embrapa, 2012). No caso do milho, a adoção de bioinoculantes contendo duas estirpes de *Azospirillum brasilense* levou a um incremento de 25 a 30% no rendimento, podendo resultar em uma economia potencial estimada de até 1 bilhão de dólares por safra (Hungria et al., 2012).

O Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura (NUDIBA) - UENF vem explorando as possibilidades de formulação de bioinoculantes à base da combinação de bactérias promotoras do crescimento e substâncias húmicas oriundas de vermicompostagem. Efeitos diretos sobre o crescimento das plantas por ácidos húmicos isolados de vermicomposto estão bem descritos pela absorção de macro e micronutrientes e pelo crescimento radicular (Nardi et al., 2009; Dobbss et al., 2010;. Canellas et al., 2011). Canellas et al., (2013) utilizaram com sucesso, em condições de baixa fertilidade do solo, a combinação de ácidos húmicos solúveis e bactérias na cultura do milho. Além disso, os vermicompostos promovem melhorias na estrutura física do substrato, aumentam as populações de microrganismos benéficos e disponibilizam substâncias húmicas e hormônios produzidos por microrganismos, contribuindo para o crescimento vegetal (Arancón et al., 2012; Aguiar et al., 2013). Entretanto, quando as bactérias são inoculadas no campo encontram um nicho ausente de microrganismos para sua sobrevivência, exceto em solo esterilizado, condição essa inexistente na agricultura (Bashan, 1998). Normalmente, o que acontece é que as bactérias têm que competir com a comunidade microbiana nativa extremamente complexa e adaptada, incluindo organismos saprófitos, epífitas, endófitos, patógenos e microrganismos benéficos (Avis et al., 2008). Assim, ao utilizar bioinoculantes deve-se obter uma eficiência na inoculação, que pode ser adquirida em parte pela introdução de estirpes altamente competitivas, usando altas taxas de inóculos (Martinez-Romero e Rosenbiueth, 1990) ( $10^9$  células/g ou mL de inoculante) e/ou usando veículos que promovam sua viabilização por mais tempo.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Núcleo de Desenvolvimento de Insumos Biológicos para Agricultura (NUDIBA) e no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

#### 3.1. Produção do vermicomposto e sua composição química.

Foram utilizados dois substratos contrastantes já caracterizados para a produção dos vermicompostos, a torta de filtro (TF) e o esterco bovino (EB) (Balmori, 2012). Estes substratos foram adquiridos da usina açucareira e do curral de gado de uma propriedade particular respectivamente, ambos pertencentes ao município de Campos dos Goytacazes - RJ. No período de compostagem, estes substratos foram cobertos com uma lona preta e expostos ao sol por 30 dias, sendo este material revolvido diariamente. Subsequentemente, 15 Kg do material seco foram alocados em minhobox<sup>®</sup> contendo 50 cm de largura e 25 cm de altura, adicionando água destilada para manter a umidade entre 65-70 %. Em seguida, foram adicionados 5 Kg de minhocas adultas da espécie *Eisenia foetida* (minhoca vermelha da Califórnia) por m<sup>3</sup> de substrato. Foram utilizadas três caixas de minhobox<sup>®</sup> para cada

substrato. Cada caixa considerada uma repetição, em um total de seis parcelas experimentais (Figura 1).

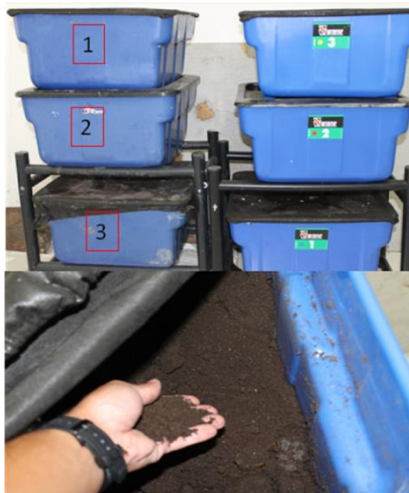


Figura 1. Minhobox<sup>®</sup> utilizado para o processo de vermicompostagem. Foram utilizadas três caixas (repetições) para o vermicomposto de esterco bovino e três caixas (repetições) para o vermicomposto produzido a partir de torta de filtro de cana-de-açúcar.

Aos trinta dias de compostagem foi realizada a primeira coleta para análise da composição química do material, esta chamada de tempo zero (T0). A partir da introdução das minhocas como descrito acima, de 30 em 30 dias foram feitas quatro novas coletas para análise, designadas como T30, T60, T90 e T120. (Tabelas das análises químicas 1, 2, 3, 4 e 5 anexas no apêndice).

### **3.1.1 Caracterização dos Vermicompostos.**

Inicialmente, amostras dos vermicompostos foram secas em estufa a 60 °C por sete dias. Então, o extrato aquoso utilizado na caracterização dos vermicompostos foi obtido através de uma massa de 10 g diluída em 100 mL de água destilada (1:10 m/v). Esta suspensão foi agitada mecanicamente a 16 rpm, durante 1 h, à temperatura ambiente. Posteriormente, centrifugou-se a suspensão a 3.500 g, durante 20 minutos, para facilitar a separação das fases



sólido-líquido. O sobrenadante obtido foi filtrado, utilizando um sistema de vácuo para obter 50 mL de um volume final para os ensaios de germinação e as análises químicas subsequentes.

### 3.1.1.1 Ensaios de germinação.

As análises de fitotoxicidade foram realizadas para determinar o grau de maturação dos vermicompostos (Goméz-Brandón et al., 2008; Gao et al., 2010) usando a germinação como indicador de substâncias inibitórias (Trautmann e Krasny, 2009). O teste de germinação utilizado foi o de avaliação da fitotoxicidade para sementes de agrião de jardim (*Lepidium sativum*), que foram submetidas aos extratos aquosos obtidos nos diferentes tempos de maturação dos vermicompostos (T0, T30, T60, T90 e T120).

O ensaio experimental consistiu em colocar um papel filtro em uma placa de Petri com 9 cm de diâmetro, umedecendo com 5 mL do extrato aquoso. Nos ensaios de controle negativo (branco) foram utilizados 5 mL de água destilada. Em cada placa de Petri colocaram-se 10 sementes de *L. sativum* uniformemente distribuídas. As placas foram fechadas e incubadas em estufa a 25-26°C em um ambiente escuro, em um total de três placas por tratamento. Após 48 horas na estufa, registrou-se o número de sementes germinadas ( $N_{SG}$ ) em cada placa de Petri e efetuou-se a medição com um paquímetro do comprimento das raízes das sementes germinadas ( $L_R$ ).

O número de sementes germinadas ( $N_{SG}$ ) e o comprimento das raízes ( $L_R$ ) quantificados no teste de germinação foram usados para calcular o índice de germinação (IG). O cálculo do IG foi realizado de acordo com a percentagem relativa de germinação de sementes (PRG) e a percentagem relativa do comprimento das raízes (PRCR) (Zucconi et al., 1981).

$$PRG (\%) = \frac{\bar{N}_{SG,T}}{\bar{N}_{SG,B}} \times 100$$

onde  $\bar{N}_{SG,T}$  é a média aritmética do número de sementes germinadas em cada extrato aquoso (tratamento) e  $\bar{N}_{SG,B}$  é a média aritmética do número de sementes germinadas no controle negativo (branco).

$$PRCR (\%) = \frac{\bar{L}_{R,T}}{\bar{L}_{R,B}} \times 100$$

onde  $\bar{L}_{R,T}$  é o comprimento médio das raízes no extrato aquoso (tratamento) e  $\bar{L}_{R,B}$  é o comprimento médio das raízes do controle negativo (branco).

- Finalmente, o índice de germinação (IG), proposto por Zucconi et al., (1981), conjuga os parâmetros RSG e RRG de acordo com a equação:

$$IG(\%) = \frac{PRG (\%) \cdot PRCR (\%)}{100}$$

Na Tabela 6 é indicada a escala de classificação qualitativa de fitotoxicidade e maturação do composto, considerada neste trabalho.

Tabela 6. Classificação qualitativa de fitotoxicidade dos vermicompostos

IG (%)	Classificação de fitotoxicidade dos vermicompostos
> 100	O material potencia a germinação e o crescimento da raiz das plantas.
80-100	Não fitotóxico; composto maturado.
60-80	Moderadamente fitotóxico.
30-60	Fitotóxico.
<30	Muito fitotóxico.

\*IG: Índice de Germinação.

### 3.1.1.2 Análise de carbono (C) e nitrogênio (N).

A análise elementar de C e N presente nos vermicompostos foi efetuada durante o seu curso de maturação (T0, T30, T60, T90 e T120). As amostras secas foram moídas em moinho de bola e pesadas (4-5 mg). Esta análise foi realizada no equipamento *Series II CHNS/O Analyzer 2400 (PERKIN ELMER)*, que permite quantificar simultaneamente a quantidade total dos elementos C, H, N nas amostras sólidas via combustão seca.

### **3.2. Quantificação populacional de bactérias.**

Para quantificação da população das bactérias presentes nos vermicompostos foram coletados 10 g de amostra úmida dos dois vermicompostos (EB e TF) nos cinco tempos de maturação (T0, T30, T60, T90, T120) com três réplicas biológicas, totalizando 30 amostras. As amostras foram diluídas em 90 mL de solução salina (0,85% NaCl) e incubadas em um agitador orbital a 30° C sob agitação de 150 rpm por um período de 1 h. Após este período foram realizadas diluições seriadas do material, retirando-se alíquotas de 1 mL da suspensão e diluindo em tubos contendo 9 mL da solução salina sucessivamente de  $10^{-2}$  até  $10^{-8}$ .

#### **3.2.1. Bactérias heterotróficas totais**

Para a estimativa e contagem das bactérias heterotróficas totais foi adotado o procedimento a seguir. No fluxo laminar, foram retiradas alíquotas de 100  $\mu$ L das diluições  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  (como descrito acima), semeadas no centro de placas de Petri contendo meio sólido e espalhadas sobre toda a superfície do meio com o auxílio da alça de Drigalski. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa por 48 h a 30° C (Baldani, 1996). Os meios sólidos utilizados foram NB e Dyg's. A composição do meio sólido Dyg's em 1 L consiste de: 2,0 g de glicose, 2,0 g de ácido málico, 1,5 g de peptona bacteriológica, 2,0 g de extrato de levedura, 0,5 g de  $K_2HPO_4$ , 0,5 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1,5 g de ácido glutâmico. Completar para 1 L com água destilada, ajustar o pH para 6,0 a 6,8 e adicionar 15 g de ágar (Baldani, 1996). Já a composição do meio NB sólido consiste em 1 L de: 8,0 g de caldo nutritivo. Completar para 1 L com água destilada e adicionar 15 g de ágar. Este meio não necessita ajustar o pH.

#### **3.2.2. Bactérias diazotróficas.**

A partir das diluições seriadas foram retiradas alíquotas de 100  $\mu$ L de cada diluição e pipetadas em vidros de penicilina, com capacidade para 16 mL de volume, contendo 5 mL dos meios de cultura semi-sólidos. Os meios

utilizados para estimativa da população de diazotróficas foram os meios NFb e LGI. A composição do meio NFb semi-sólido em 1 L consiste de: 5 g de ácido málico, 0,5 g de  $K_2HPO_4$ , 0,2 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,1 g de NaCl, 0,02 g de  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 4 mL de FeEDTA (sol. 1,64 %), 2 mL de azul de bromotimol (sol. 0,5 % em 0,2 N de KOH), 2 mL de solução de micronutrientes para meio de cultura, 1 mL de vitamina para meio de cultura, 4,5 g de KOH. Ajustar o pH para 6.5 a 6.8 com NaOH, completar para 1 L com água destilada e adicionar 1,75 a 1,8 g de ágar (Baldani e Döbereiner, 1980). Já a composição do meio LGI semi-sólido em 1 L consiste de: 5 g de sacarose ou açúcar cristal, 0,2 g de  $K_2HPO_4$ , 0,6 g de  $KH_2PO_4$ , 0,2 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,02 g de  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0,002 g de  $Na_2Mo_4 \cdot 2H_2O$ , 4 mL de FeEDTA (sol. 1,64 %), 5 mL de azul de bromotimol (sol. 0,5 % em 0,2 N de KOH), 1 mL de vitamina para meio de cultura. Ajustar o pH para 6,0 a 6,2 com  $H_2SO_4$  sol.5 %, completar para 1 L com água destilada e adicionar 1,4 g de ágar (Magalhães et al., 1993).

Após serem inoculados, os frascos de vidro foram alocados em estufa e incubados a 30°C por sete dias (Döbereiner et al., 1995). Após este período foi realizada a avaliação quanto à presença de crescimento típico de bactérias fixadoras de N, caracterizado pela formação de uma película aerotóxica na superfície do meio (Döbereiner et al., 1995). O número populacional obtido foi estimado com o uso da tabela de McCrady com três repetições por diluição, tomando-se por base o número de repetições com formação de película (crescimento positivo) em cada diluição (Döbereiner et al., 1995). Para a confirmação inicial da capacidade diazotrófica, as últimas diluições que exibiram películas aerotóxicas típicas foram repicadas mediante a retirada de uma alçada da película e passada para seu respectivo meio e novamente incubadas em estufa a 30° C por sete dias, sendo este procedimento repetido três vezes (Döbereiner et al., 1995).

### **3.3. Preservação em água estéril;**

Esse método, também chamado de método de Castellani, pode ser feito em água destilada estéril ou solução salina (0,85 % NaCl). A solução salina é utilizada para a preservação de microrganismos sensíveis a baixas pressões osmóticas de soluções hipotônicas. Esse método visa atingir a hipobiose com a

diminuição do metabolismo e formação de estado latente da célula devido à falta de fontes nutritivas. Assim, um bloco de ágar (aproximadamente 5 mm x 10 mm) contendo o microrganismo foi colocado em microtubos de eppendorf contendo água destilada estéril conservando-se em temperatura ambiente.

#### **3.4. Isolamento das bactérias diazotróficas e heterotróficas dos vermicompostos;**

Para o isolamento das bactérias diazotróficas, foi retirada com auxílio de uma alça uma porção da película aerotóxica obtida como descrito anteriormente e riscada em meio sólido Dyg's. As placas foram incubadas em estufa a 30°C por 48 h para o crescimento de colônias (Döbereiner et al., 1995). Com o aparecimento das colônias estas foram purificadas por repicagens sucessivas em meio sólido, até a comprovação visual e microscópica da cultura pura como descrito no próximo tópico. Morfotipos distintos foram estocados em microtubos de 2 mL, contendo 1,5 mL de água destilada estéril como descrito no item 3.3. Para a purificação e estocagem dos isolados de bactérias heterotróficas totais foi realizado este mesmo procedimento partindo-se das colônias isoladas nas placas de Petri.

#### **3.5. Caracterização morfológica e cultural dos isolados;**

No presente trabalho foi caracterizada a morfologia das colônias e das células dos isolados bacterianos por meio de coloração e microscopia.

Para a avaliação da morfologia celular foi utilizada a coloração de Gram, partindo de colônias purificadas retiradas de placas contendo meio Dyg's sólido e adotando o seguinte procedimento: a) obtenção de esfregaços bacterianos em lâminas de microscopia; b) cobrir por 1 min com solução de cristal violeta; c) adicionar a solução de iodina (lugol) por 1 min; d) lavar com água corrente; e) descolorir em álcool etílico 95%; f) adicionar solução de fuocsina básica por 30 s; g) lavar com água corrente. Após os procedimentos, a lâmina foi observada em lente objetiva de 100X com óleo de imersão em microscópio óptico Axioplan-Zeiss acoplado a uma câmara fotográfica digital Canon Paner Shot A 640. A aquisição das imagens foi feita por meio do programa Zoom

Browser EX. Assim, foi possível descrever a morfologia e identificar os isolados bacterianos por sua coloração como Gram-positiva (coloração violeta/roxo) ou Gram-negativa (coloração vermelha).

Quanto à morfologia da colônia considerou-se o tamanho (menor que (<) 1 mm), puntiforme e maior que (>) 1mm), a forma, a elevação, o bordo e a superfície (Figura 2) (Perin, 2002).

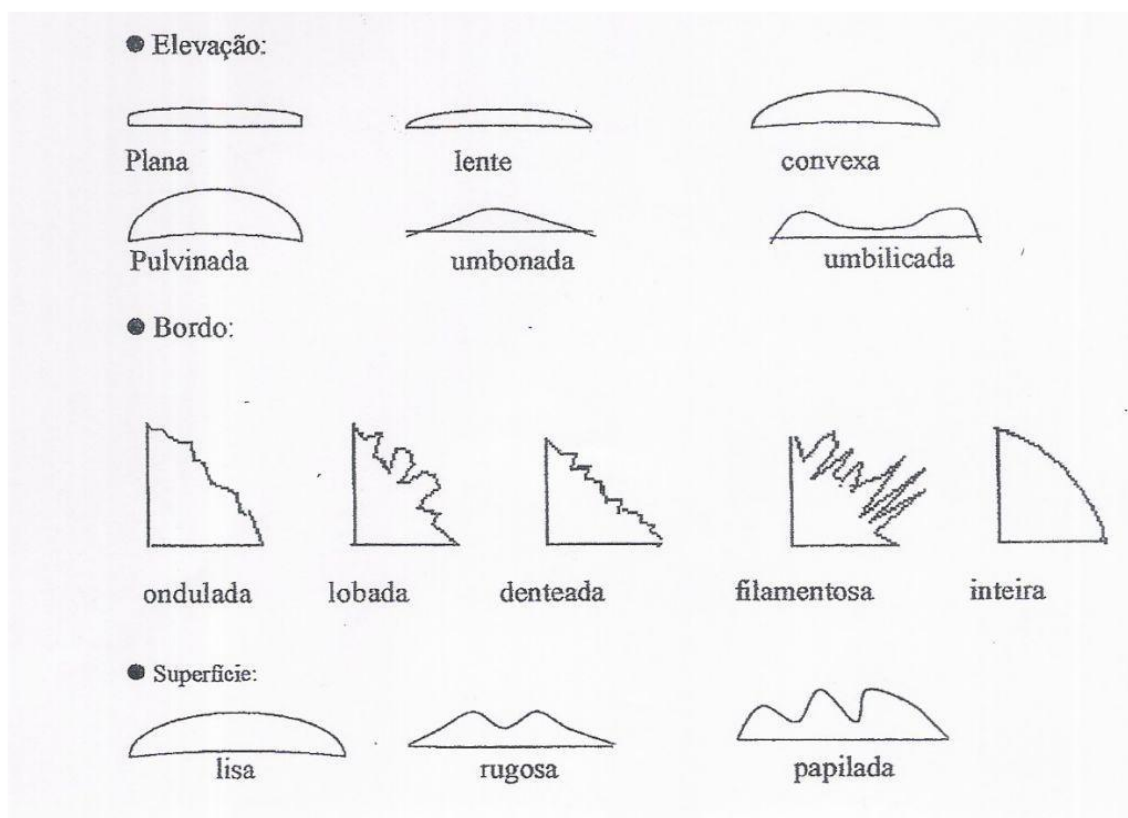


Figura 2. Caracterização morfológica das colônias bacterianas, de acordo com a elevação, o bordo e a superfície (Adaptado de Perin, 2002).

### 3.6. Capacidade de solubilizar P e Zn;

As bactérias foram crescidas em meio Dyg's por 24 h, a 30 °C e 150 rpm. Em seguida foram retiradas alíquotas 2 µL das soluções bacterianas e colocadas em placa de Petri contendo o meio de cultura sólido (Verma et al., 2001) com 10 g L<sup>-1</sup> de glicose, 5 g L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>Cl, 1 g L<sup>-1</sup> de NaCl, 1 g L<sup>-1</sup> de

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1 g L<sup>-1</sup> Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH (para solubilização de P) / ZnO (para solubilização de Zn), 15 g L<sup>-1</sup> de ágar, 1 L de água destilada a pH 7,0 e incubadas a 28 °C por sete dias. A avaliação da solubilização de fosfato e zinco foi realizada pela observação da presença de um halo translúcido, que se forma em torno das colônias bacterianas solubilizadoras.

### **3.7. Capacidade de produzir compostos indólicos;**

As bactérias foram crescidas previamente em meio líquido Dyg's (Döbereiner et al., 1995) por 24 h, a 30 °C e 150 rpm. Em seguida alíquotas de 25 µL foram transferidas para tubo de ensaio contendo 5 mL dos meios Dyg's, com e sem adição de triptofano (100 mg L<sup>-1</sup>) e incubadas no escuro por 72 h, a 30 °C e 150 rpm. Assim, foi avaliada a síntese de indol (Sarwar e Kremer, 1995), onde 150 µL da cultura bacteriana foram transferidos para microplacas de poliestireno, sendo adicionados 100 µL do reagente de Salkowsky (1 mL de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O – 0,5 mol L<sup>-1</sup>, em 50 mL de ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>)) – (35 % em água), seguido de incubação no escuro por 30 min. Após este período foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 492 nm.

A concentração de indol foi dosada com curva de calibração, relacionando absorvância e concentração de ácido indol acético (AIA) nos diferentes meios de cultivo. Foram realizadas duas repetições independentes para cada estirpe bacteriana. Como controle positivo, foi utilizada a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* estirpe HRC54 já caracterizada como produtora de AIA e positiva para o reagente de Salkowsky (Radwan et al., 2005).

### **3.8. Ensaio de promoção do crescimento em milho.**

Ensaio em casa de vegetação foram conduzidos para testar a promoção do crescimento mediado pelos isolados dos vermicompostos. Foram preparados dois substratos distintos em vasos com volume de 500 mL. O substrato 1 continha em sua composição 2/3 de solo horizonte B de um Argissolo Amarelo, corrigido com calcário neutralizando sua acidez, e 1/3 de areia. Já o substrato 2 continha 2/3 do substrato 1 e 1/3 de vermicomposto de esterco bovino com 120 dias de maturação. A Tabela 7 apresenta os

resultados da análise química antes (solo I) e pós-correção (solo II) do solo e a Tabela 8 apresenta os resultados da análise química do vermicomposto utilizado.

Tabela 7. Análise química do solo antes e pós-correção. Solo I = Argissolo amarelo (horizonte B); Solo II = Argissolo amarelo (horizonte B) corrigido com calcário

Am.	C	MO	pH	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	SB	T	t	m	V
	%	g/dm <sup>3</sup>		- mg dm <sup>-3</sup>		----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----						-- % --		
S. I	0,39	6,7	3,9	3	38	1,0	0,5	1,0	3,6	1,7	5,3	2,7	37	32
S. II	0,64	11,0	6,4	4	220	1,1	0,6	0,0	1,0	2,4	3,4	2,4	0	70

\*Am: Amostras; \*S I: solo I; \*S II: solo II.

Conforme as recomendações Embrapa (2009): C = dicromatometria em meio ácido; P e K<sup>+</sup> = extrator Carolina do Norte; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> = extrator KCl 1mol L<sup>-1</sup> (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al<sup>3+</sup>; m= saturação de Al<sup>3+</sup> ; V= saturação por bases; Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>7+</sup>, Na<sup>1+</sup> = ferro, cobre, zinco, manganês e sódio trocável.

Tabela 8. Análise do vermicomposto de esterco bovino utilizado

Am.	C	MO	pH	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	SB	T	t	m	V
	%	g/dm <sup>3</sup>		- mg dm <sup>-3</sup>		----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----						-- % --		
VC	10,44	176,5	6,6	1632	8200	10,4	13,9	0	4,6	69,5	49,2	54,9	0	95

\*Am: Amostras; \*VC: Vermicomposto.

Conforme as recomendações Embrapa (2009): C = dicromatometria em meio ácido; P e K<sup>+</sup> = extrator Carolina do Norte; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> = extrator KCl 1mol L<sup>-1</sup> (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al<sup>3+</sup>; m= saturação de Al<sup>3+</sup> ; V= saturação por bases; Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>7+</sup>, Na<sup>1+</sup> = ferro, cobre, zinco, manganês e sódio trocável.

Foram semeadas duas sementes de milho (*Zea mays*) (Dekalb 7518) por vaso, sendo quatro repetições por tratamento. Foram testados 20 isolados (dez heterotróficos e dez diazotróficos) dos tempos 30 e 60 dias de maturidade dos vermicompostos representados na Tabela 9. Então, as bactérias foram



crescidas em meio Dyg's líquido por 24 h a 30 °C a 150 rpm, e 1 mL da suspensão bacteriana foi inoculado em cada semente no momento da semeadura. Como controle foi inoculado 1 mL de meio Dyg's autoclavado. Após inoculação, as sementes foram cobertas. Diariamente, foram feitas irrigações.

O experimento foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial com 42 tratamentos (20 isolados do tempo e o controle e 20 isolados do tempo 60 e o controle); dois substratos e quatro repetições.

Tabela 9. Isolados bacterianos utilizados nos ensaios de inoculação em plantas de milho oriundos de meio semi-sólido isento de N (diazotróficas) e meio sólido de composição complexa (heterotróficas) obtidos a partir dos vermicompostos de esterco bovino (EB) e torta de filtro (TF) nos tempos de maturação de 30 (T30) e 60 dias (T60)

<i>IsoladoT30</i>	<i>Vermicomposto</i>	<i>IsoladoT60</i>	<i>Vermicomposto</i>
13 NFb	Esterco Bovino	11 LGI	Torta de Filtro
9 LGI	Esterco Bovino	5 NFb	Torta de Filtro
5 NFb	Esterco Bovino	12 NFb	Torta de Filtro
5 LGI	Esterco Bovino	4 NFb	Esterco Bovino
7 LGI	Esterco Bovino	6 LGI	Esterco Bovino
7 NFb	Torta de Filtro	1 LGI	Esterco Bovino
2 LGI	Torta de Filtro	5 LGI	Esterco Bovino
8 LGI	Torta de Filtro	4 LGI	Esterco Bovino
13 LGI	Torta de Filtro	6 NFb	Torta de Filtro
1 LGI	Torta de Filtro	8 NFb	Torta de Filtro
9 NB	Torta de Filtro	5 NB	Torta de Filtro
12 NB	Torta de Filtro	12 NB	Torta de Filtro
8 D	Torta de Filtro	22 D	Torta de Filtro
6 NB	Torta de Filtro	3 NB	Torta de Filtro
16 NB	Esterco Bovino	14 NB	Esterco Bovino
15 NB	Esterco Bovino	18 NB	Esterco Bovino
3 NB	Torta de Filtro	8 D	Esterco Bovino
4 D	Esterco Bovino	13 NB	Esterco Bovino
14 D	Esterco Bovino	4 D	Esterco Bovino
14 NB	Esterco Bovino	19 D	Torta de Filtro

\* NFb e LGI : Meios de cultura semi-sólidos isento de N de onde os isolados diazotróficos foram obtidos.

\* NB e D (Dyg's): Meios de cultura sólidos complexos de onde os isolados heterotróficos foram obtidos.

As condições ambientais da casa de vegetação (umidade relativa (UR), temperatura e fluxo de fótons fotossintético (FFF)) foram monitoradas pelo sensor Data Logger WatchDog® (Spectrum Technology, Illinois – Estados Unidos da América) representadas nas Figuras 3, 4 e 5 anexas no apêndice.

Após 20 dias as plantas foram coletadas para análise de crescimento pela medição das seguintes variáveis biométricas: Matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR); matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), obtidas pela secagem em estufa sob ventilação forçada de ar por 60 °C durante cinco dias após a pesagem. Também foram realizadas análises de volume de raiz, onde em uma proveta foi colocado 100 mL de água e ao adicionar a raiz o volume obtido acima deste valor corresponderia ao volume dado pela raiz. Médias obtidas representadas nas Tabelas 10, 11, 12, 13, 14 e 15 anexas no apêndice.

### **3.9 Análise estatística;**

Foi realizada a análise de variância com auxílio do programa SISVAR, sendo aplicado o teste F. Quando detectado o efeito significativo o teste T de student em 5% de probabilidade foi utilizado para comparações das médias.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Caracterização dos vermicompostos em diferentes tempos de maturação.**

#### **4.1.1 Dinâmica de nutrientes nos vermicompostos.**

As variações percentuais detectadas pela análise elementar de C e N no decorrer da maturação dos VCs podem ser observadas na Figura 6. O tempo zero representa o período no qual foram introduzidas as minhocas, decorridos 30 dias de compostagem. Durante o processo de maturação dos VCs, o C sofreu as maiores variações percentuais associadas às perdas por respiração. A tendência natural de redução do teor de carbono tende a ser contrabalanceada pela deposição de carbono orgânico oriunda da mortalidade da população de minhocas. Isto é evidente na dinâmica de carbono para o vermicomposto de esterco bovino (VC-EB), quando aos 60 dias observou-se incremento no teor de carbono, este coincidente com a mortalidade das minhocas (por observação). Este comportamento não ficou evidente no vermicomposto de torta de filtro (VC-TF), sugerindo diferenças no C-lábil e/ou variações na densidade populacional das minhocas em função das preferências por substrato.

Nota-se uma tendência ao incremento do conteúdo de nitrogênio com a maturação dos VCs, com valores entre 9,4 e 8,6 % de N ao final do período experimental. Conteúdos mais elevados de N foram observados para o VC-EB aos 90 dias após o início da vermicompostagem, enquanto para o VC-TF valores com variações mais discretas foram observados. Entretanto, com a maturação dos VCs, o conteúdo de nitrogênio do VC-EB foi significativamente maior que o VC-TF.

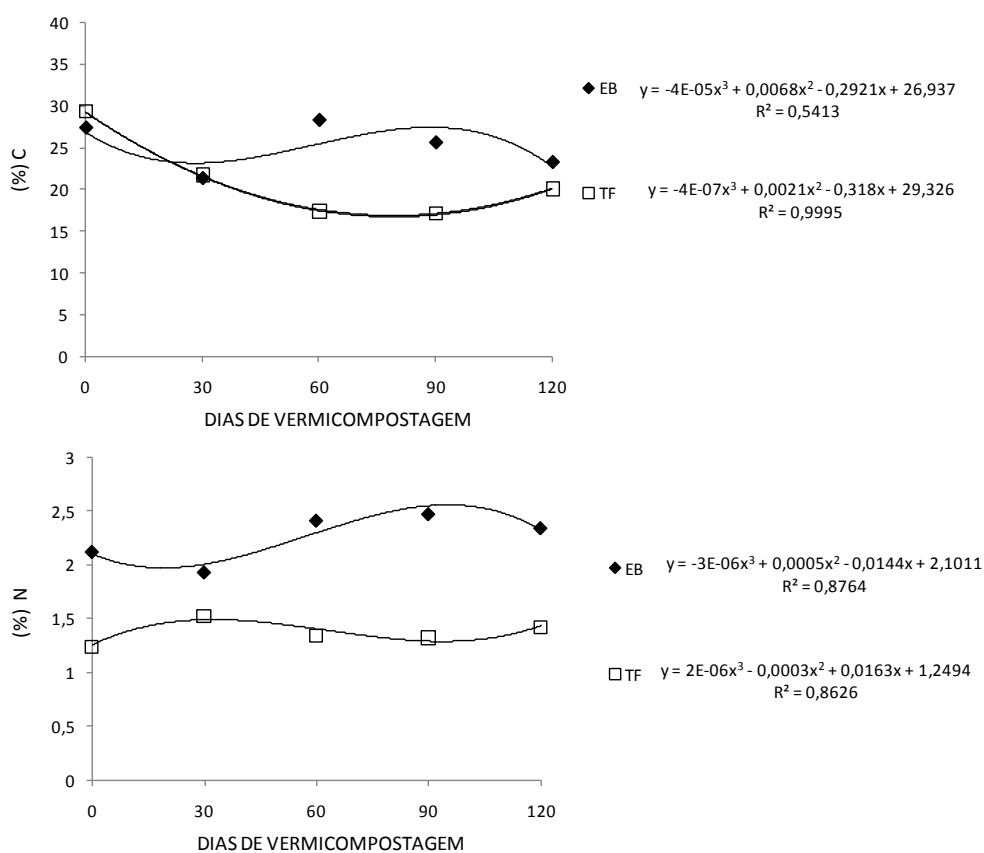


Figura 6. Alterações percentuais do carbono e do nitrogênio totais nos vermicompostos de esterco bovino e torta de filtro (média de três repetições e desvio padrão).

Considerando todo o período de transformação dos materiais orgânicos desde a introdução das minhocas (tempo zero) até o final do período experimental de vermicompostagem (120 dias), observam-se diferenças mais

pronunciadas na relação C/N nos primeiros 30 dias de vermicompostagem (Figura 7). Notou-se uma queda pronunciada na relação C/N do EB em relação à TF. Nos períodos iniciais de vermicompostagem, o EB sofreu alterações significativas. Aos 30 dias após a introdução das minhocas, a relação C/N de ambos os materiais sofreu pequenas alterações até o fim do período experimental (Figura 7).

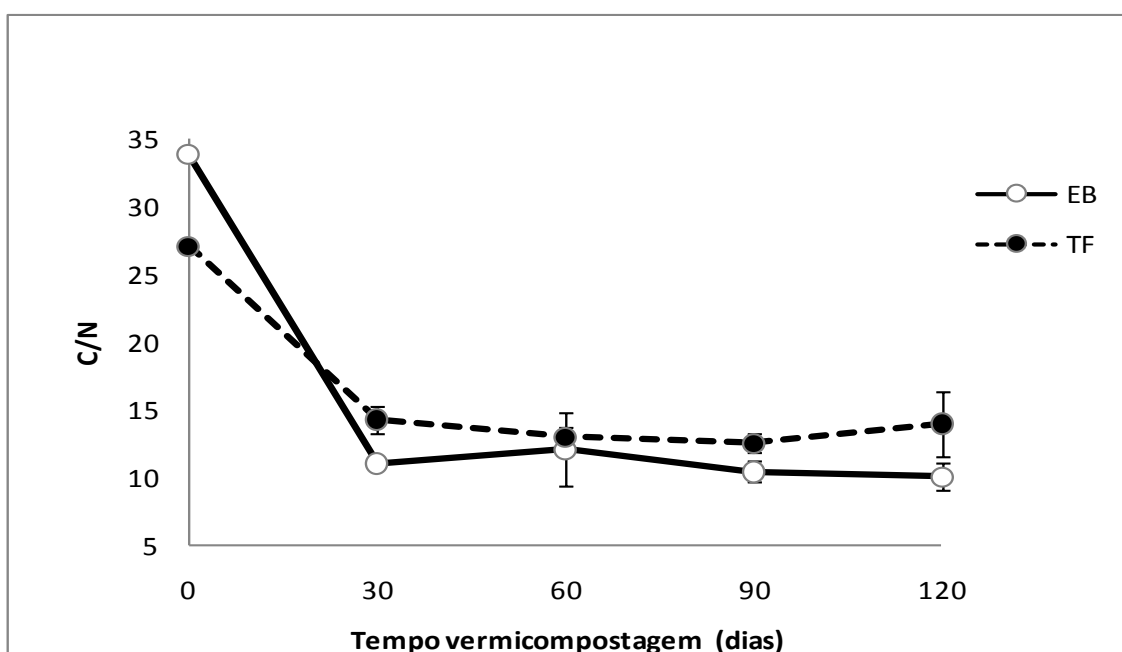


Figura 7. Variação na relação entre o carbono e o nitrogênio (C/N) nos vermicompostos no curso da maturação (valores com média de três repetições e desvio padrão representado pelas barras). EB = Esterco bovino. TF = Torta de filtro de cana-de-áçúcar.

Algumas propriedades químicas e a dinâmica de nutrientes foram monitoradas durante todo o período de vermicompostagem. Estes resultados para C e N são qualitativamente alinhados com aqueles obtidos por Kumar *et al.*, (2010). Trabalhando com torta de filtro combinada com outros resíduos oriundos da agroindústria canieira e com microrganismos, estes autores observaram um decréscimo significativo no carbono orgânico total (COT) na vermicompostagem com perda de 8 % do carbono. Outros autores relataram

perdas similares de COT, perdendo até 12,75 % na vermicompostagem (Singh e Sharma, 2002).

Existem relatos na literatura para o comportamento diferenciado de materiais distintos quanto à velocidade de degradação do substrato nas fases de compostagem e no início da vermicompostagem. Komilis e Ham (2006) relataram o início da vermicompostagem como fase decisiva para uma degradação mais rápida do material orgânico. Nossos resultados evidenciam comportamentos similares para o EB e a TF, com perdas expressivas de carbono no início da vermicompostagem.

Dados obtidos por Kumar et al., (2010) para nitrogênio total durante a compostagem e a subsequente vermicompostagem revelaram um incremento no conteúdo de N na fase de compostagem (20 dias), com mudanças não significativas no curso da vermicompostagem. Neste estudo, os autores creditaram aos microrganismos diazotróficos inoculados, a responsabilidade pelo incremento de nitrogênio. O incremento de N no material em processo de vermicompostagem pode ser negativamente impactado por perdas por volatilização de amônia e/ou desnitrificação como observado por Benitez et al., (1999), que relataram perdas de N de até 36 % no material em processo de vermicompostagem.

A dinâmica de alguns macronutrientes, matéria orgânica, pH e micronutrientes em função do período de maturação dos VCs de EB e TF pode ser analisada nas Figuras 8 e 9. Os valores de pH permaneceram na faixa alcalina durante todo o processo de vermicompostagem (7 – 8,5) com variações discretas para o VC-TF (pH final de 8,0) e variações mais bruscas para o VC-EB (pH final 7,0). Como discutido acima para o carbono, o processo de maturação conduz a perda de material orgânico na forma C-CO<sub>2</sub> para suportar as reações de bio-oxidação e estabilização, resultando em perdas apreciáveis de matéria orgânica.

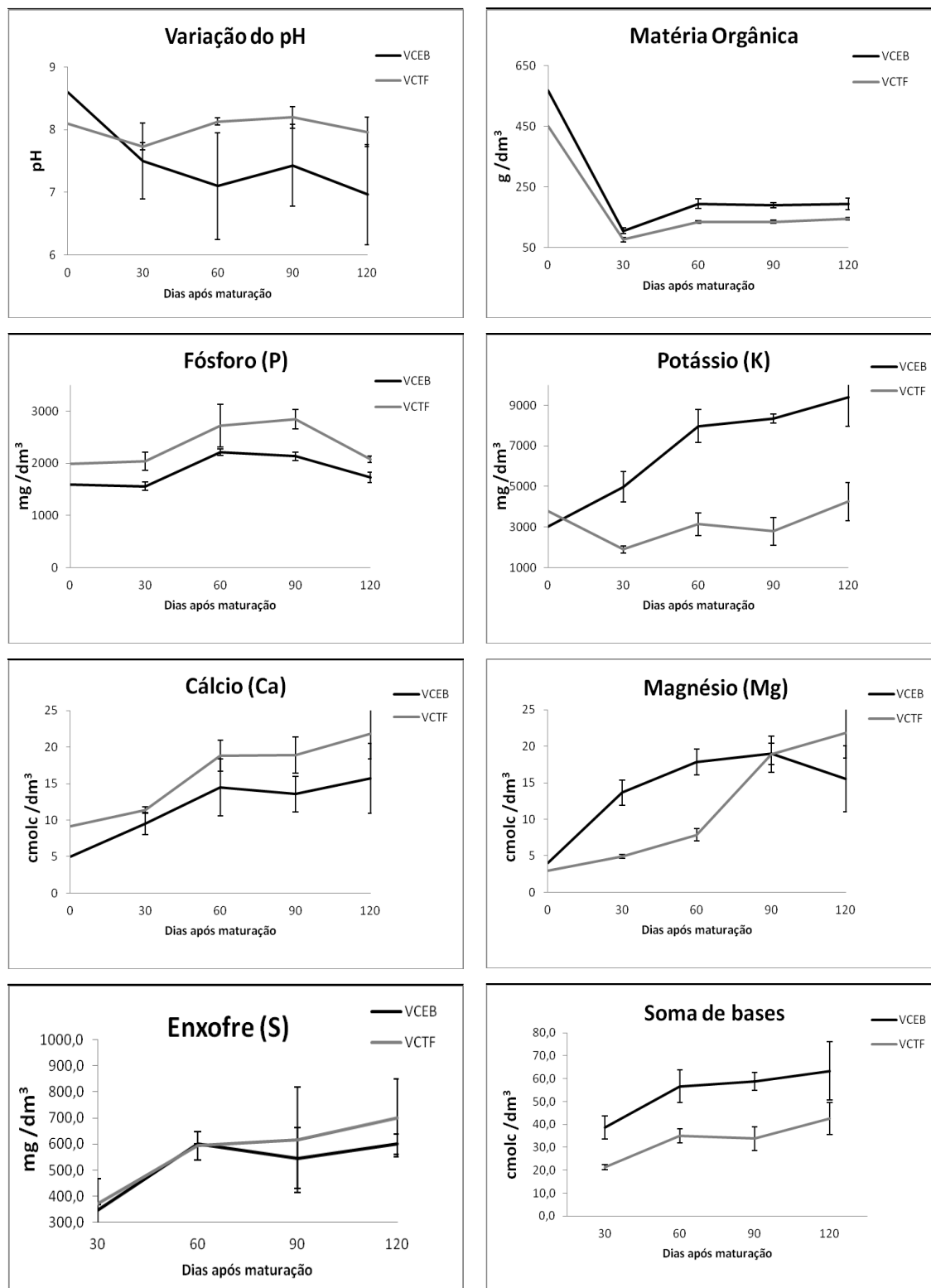


Figura 8. Variação do pH, soma de bases e teor de macronutrientes (P, K, Ca, Mg e S) nos vermicompostos produzidos a partir de esterco bovino (EB) e torta de filtro de cana-de-açúcar (TF) no curso da maturação (valores como média de três repetições e desvio padrão representados pelas barras).

O conteúdo de macronutrientes incrementou com a maturação (0- 120 dias) com valores de 8,7 e 4,3 % P; 209 e 12,5 % K; 214 e 138,2 % Ca; 287,5 e 629,1 % Mg; 73,6 e 88,5 % S, respectivamente para o VC-EB e VC-TF. Comparando o teor de nutrientes do produto final obtido tem-se que o VC-TF possui 1,2x; 1,38x; 1,4x e 1,17x mais P, Ca, Mg e S que o VC-EB, e este possui 2,21x mais K. Notadamente, as maiores taxas de incremento de nutrientes ocorreram entre 30 e 60 dias de vermicompostagem.



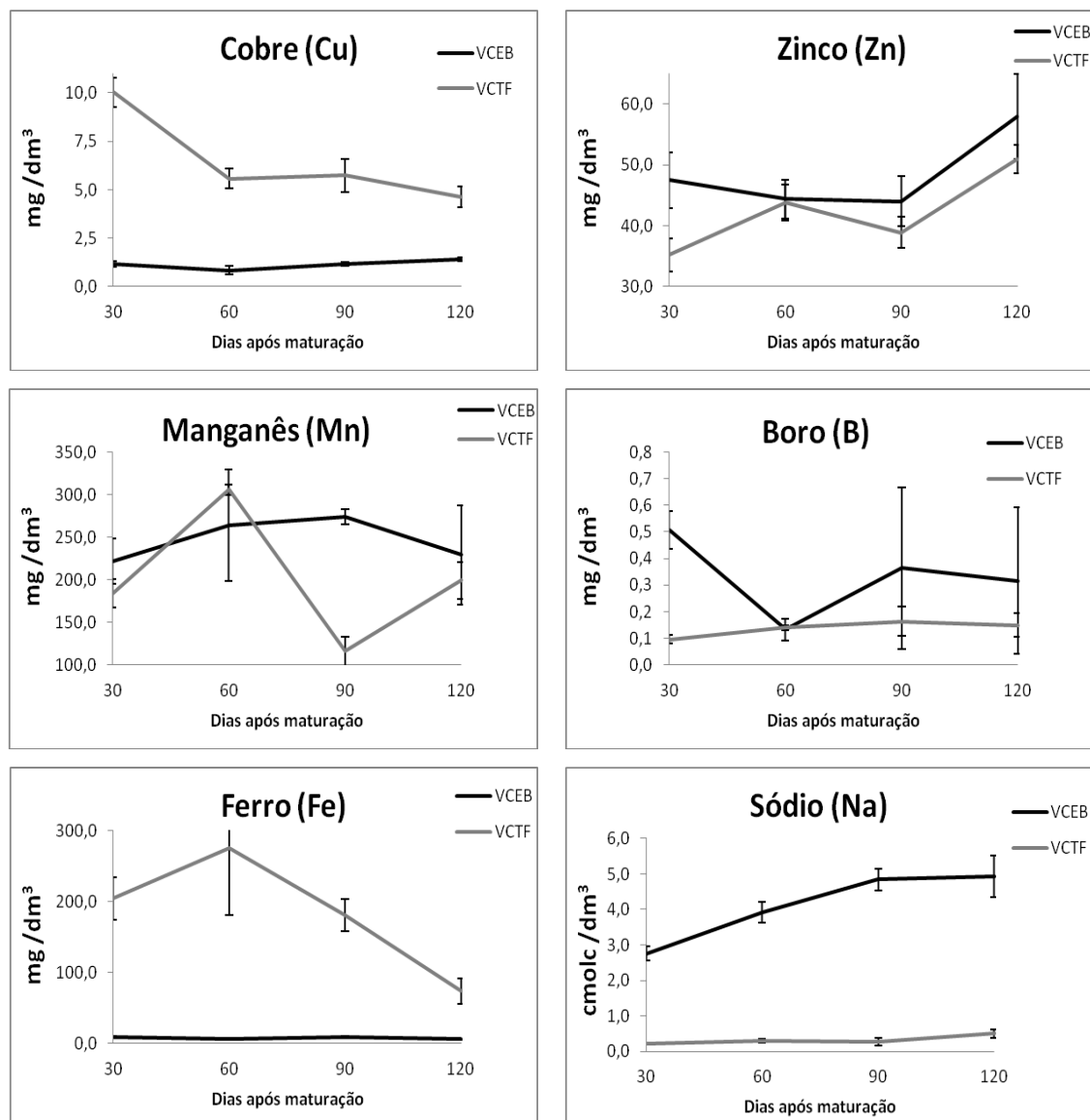


Figura 9. Variação no teor de micronutrientes (Cu, Zn, Mn, B, Fe) e sódio (Na) nos vermicompostos produzidos a partir de esterco bovino e torta de filtro de cana-de-açúcar no curso da maturação (valores como média de três repetições e desvio padrão representados pelas barras).

Para os micronutrientes, com exceção do Zn e Na, todos apresentaram tendência de redução/manutenção dos teores originais com o tempo de maturação. Os incrementos no teor de Zn com a maturação (120 dias) foram respectivamente de 21,9 e 44,9% para VC-EB e VC-TF. Ademais, taxas de redução significativas nos teores de Cu (entre 30-60 dias) e Mn e Fe (entre 60-

90 dias) foram observadas para VC-TF. Os teores de sódio sofreram incrementos de 75 e 150 % no curso da maturação, respectivamente para VC-EB e VC-TF. Mas, os valores observados para VC-EB são 1300 e 880 % superiores aos de VC-TF, respectivamente no tempo 0 e 120 dias.

#### **4.1.2 Ensaio de germinação e fitotoxicidade.**

Os testes de germinação de agrião de jardim em extrato aquoso são bioensaios simples que têm sido amplamente usados para inferir o nível de maturação e o grau de fitotoxicidade de compostos e outros materiais biodegradáveis (Walter et al., 2006). A justificativa da escolha das sementes de *Lepidium sativum* se deve ao fato desta ser muito sensível e apresentar um curto tempo de germinação. Os VCs não diferiram estatisticamente quanto ao potencial de germinação das sementes de *L. sativum* nos respectivos tempos de maturação. Os dois VCs maturaram no tempo de 31 dias, obtendo percentagens no índice de germinação igual a 100 %, potencializando a germinação de sementes e o desenvolvimento de raízes das plantas (Figuras 10 e 11).

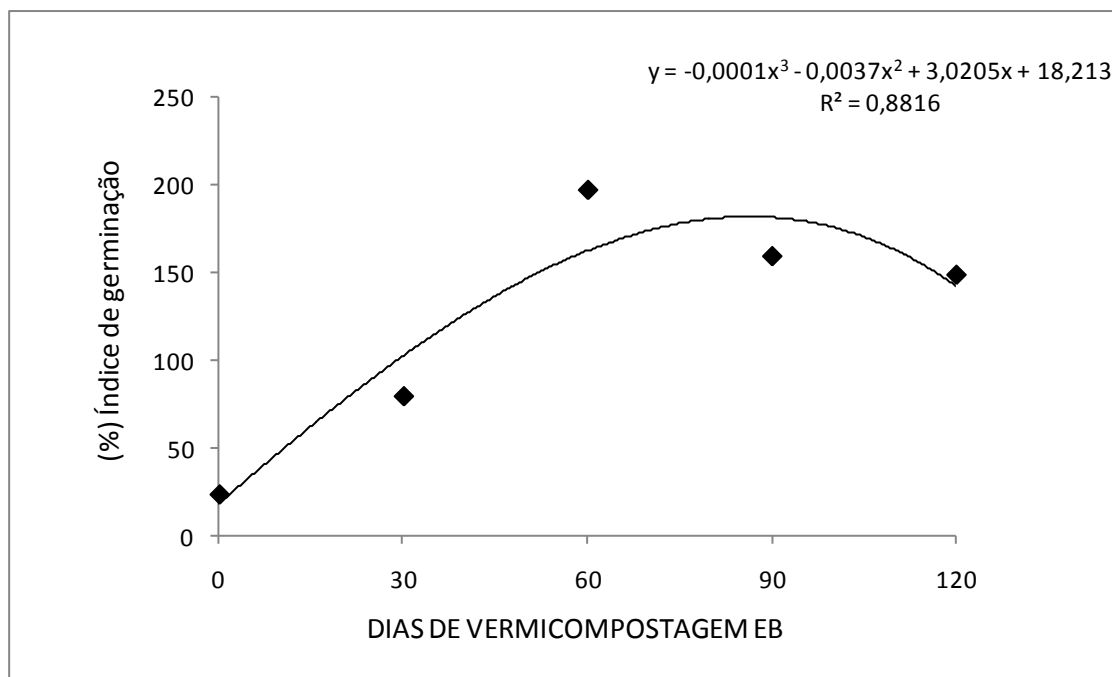


Figura 10. Percentagem do índice de germinação das sementes de *Lepidium sativum* no decorrer da maturação do vermicomposto de esterco bovino.

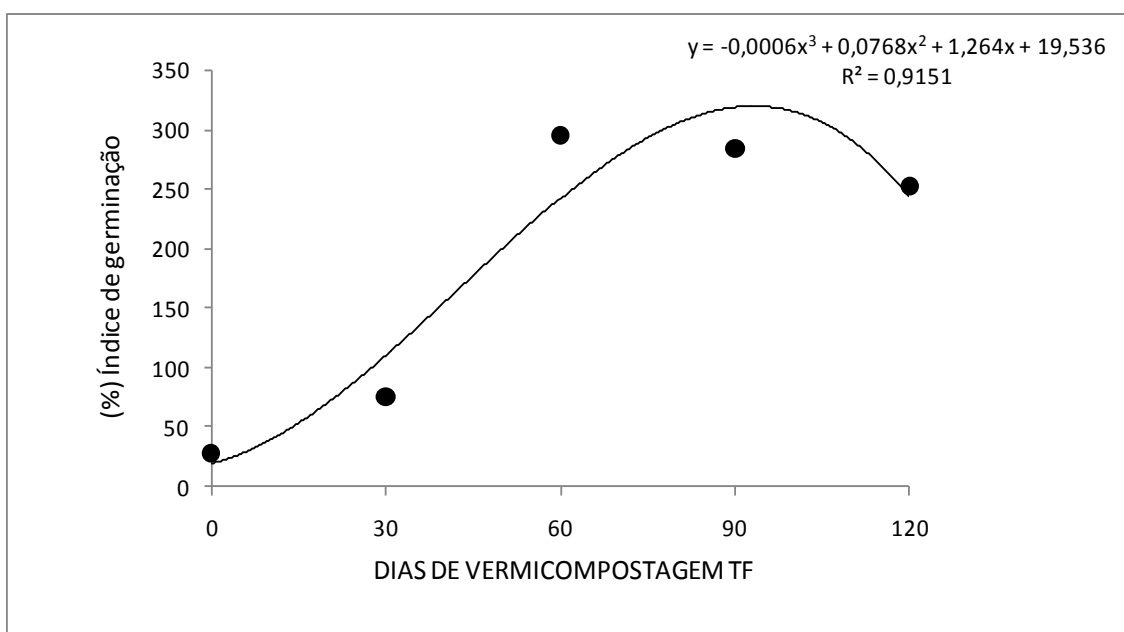


Figura 11. Percentagem do índice de germinação das sementes de *Lepidium sativum* no decorrer da maturação do vermicomposto de torta de filtro.

#### **4.2. Quantificação populacional de bactérias associadas aos vermicompostos.**

Além da avaliação da dinâmica de nutrientes, foi realizado o monitoramento da dinâmica populacional de bactérias culturáveis em diferentes estádios de maturação dos VCs de EB e TF. Meios de cultura complexos foram utilizados para este fim. Assim, utilizando os meios de cultura sólidos NB e Dyg's foi monitorada a dinâmica populacional de bactérias heterotróficas, onde foram observados para os dois meios valores entre  $10^7$  e  $10^9$  células.  $g^{-1}$  VC (Figura 12). Durante a maturação dos VCs, foi observado um pico populacional aos 30 dias para os dois meios utilizados, presumivelmente em parte, justificado pela alta atividade das minhocas neste período de tempo. Com resultados semelhantes, Aquino et al., (2005) observaram aumento da biomassa microbiana no início da degradação dos compostos em processo de vermicompostagem.

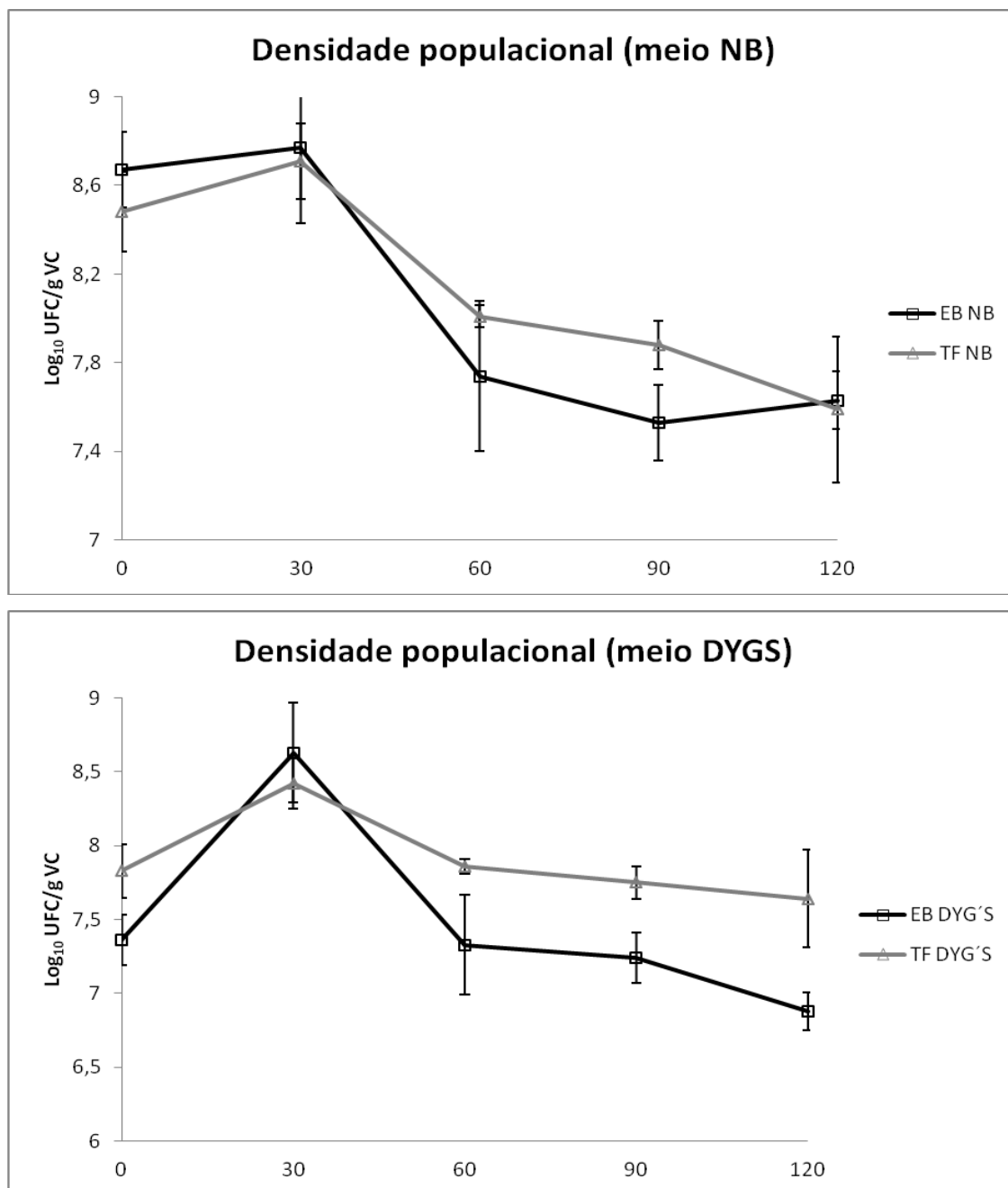


Figura 12. Densidade populacional de bactérias heterotróficas obtidas de diferentes estágios de vermicompostagem de esterco bovino (EB) e torta de filtro de cana-de-açúcar (TF), em meios sólidos NB e Dyg's, expressa por unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de vermicompostos. Dados como média de três repetições e desvio padrão em barra.

Com valores populacionais entre 8,42 e 8,77 ( $\log_{10}$ ) aos 30 dias de vermicompostagem, as populações de bactérias heterotróficas associadas aos

VCs atingiram seus máximos e não diferiram entre si. Este padrão é singular, uma vez que as populações bacterianas associadas ao VC-TF tenderam a serem maiores no curso da maturação. Ainda de acordo com Aquino et al., (2005), a maior biomassa microbiana em VC-EB com 26 dias de vermicompostagem se dá pela maior oferta de C e energia para utilização dos microrganismos mediada pela atividade de *E. foetida*. No período de 30 a 60 dias de vermicompostagem ocorreram as maiores quedas da população bacteriana e a partir de 60 dias de vermicompostagem, o VC-TF passou a abrigar maiores densidades populacionais quando comparado ao VC-EB. A queda aparente da população de bactérias pode ser em parte justificada pela redução na atividade das minhocas e pela disponibilidade decrescente de carbono lábil, em função do processo de humificação da matéria orgânica. Cabe ressaltar que aos 60 dias de vermicompostagem a relação C/N estava abaixo de 15 (Figura 7) e extratos aquosos obtidos neste tempo estimularam a germinação de plantas de agrião de jardim (Figuras 10 e 11), apontando a maturação do material. A associação destes dados com os obtidos por Aguiar et al., (2013) e Balmori et al., (2013) trabalhando com os mesmos vermicompostos em estudos conduzidos por nosso grupo, é convergente quanto ao estágio de maturação aos 60 dias.

Segundo Aquino et al. (1994), o declínio natural da população de minhocas adultas durante a vermicompostagem, pode ser provocado pela alta reprodução e pelo aumento da população das minhocas jovens. Isto causa estresse pela alta densidade populacional (Ndegwa et al., 2000) e/ou pela redução da oferta de alimento proveniente do VC em processo de estabilização.

A dinâmica populacional de bactérias fixadoras de nitrogênio associadas aos VCs de EB e TF está demonstrada na Figura 13. A estimativa de sua população foi obtida através da metodologia do Número Mais Provável (NMP) (Dobereiner et al., 1995) em dois meios semi-sólidos distintos. Foram observadas flutuações populacionais maiores que quando comparadas à dinâmica populacional de bactérias heterotróficas, com valores variando entre  $10^5$  a  $10^9$  células.  $g^{-1}$  VC (Figura 13). De forma similar ao observado para a comunidade bacteriana heterotrófica, foi observado um pico populacional aos 30 dias após o início da vermicompostagem.

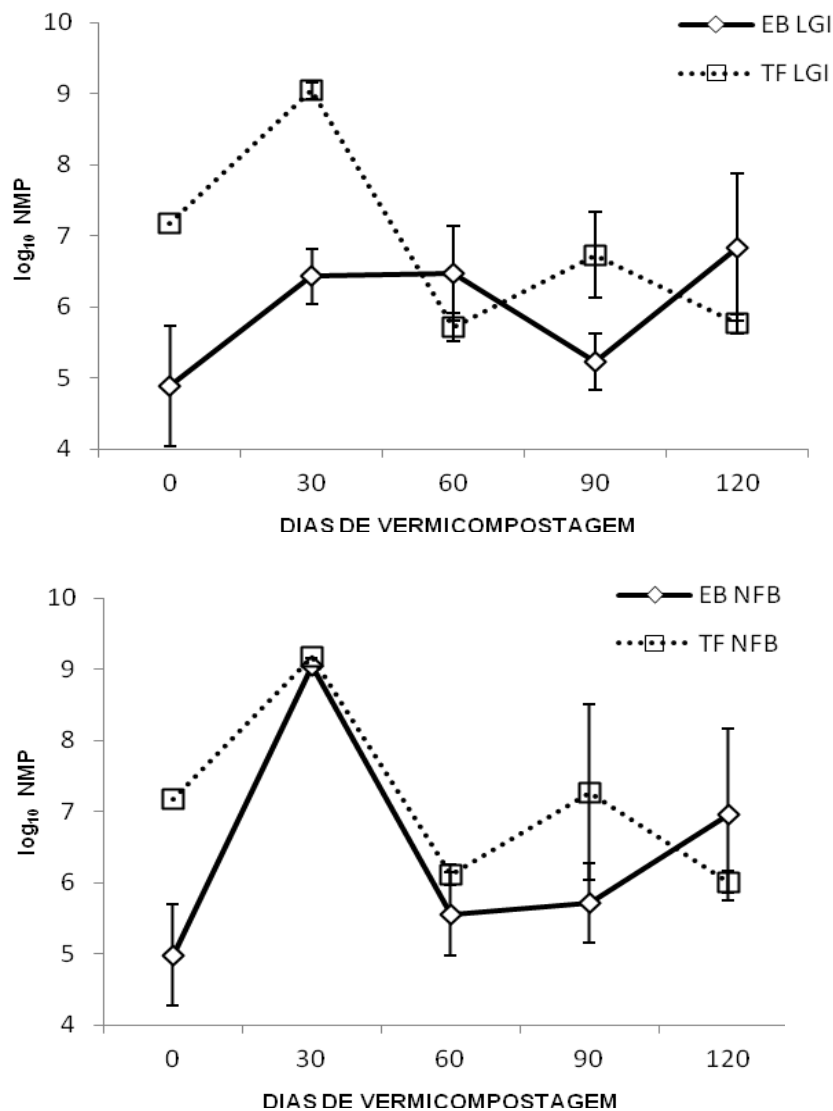


Figura 13. Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas obtidas de diferentes estágios de vermicompostagem (esterco bovino e torta de filtro), nos meios semi-sólidos LGI e NFB.

Vários autores demonstraram o aumento da diversidade e da atividade microbiana no VC durante o período de digestão dos resíduos pelas minhocas. Edwards e Fletcher, (1988) observaram aumento de até 1000 vezes da densidade populacional microbiana. Em outro trabalho, a vermicompostagem

de resíduos vegetais foi capaz de aumentar a comunidade bacteriana de *Pseudomonas* solubilizadoras de fosfato, bactérias fixadoras e não fixadoras de  $N_2$ , fungos e actinomicetos (Srivastava et al., 2011). Produtos gerados pela vermicompostagem podem ser considerados como fonte de diversidade trófica para seleção de microrganismos com potencial para produzir substâncias orgânicas biologicamente ativas (Yasir et al., 2009; Aguiar et al., 2012).

No tempo zero (início da vermicompostagem), a população de diazotróficos associada ao VC-TF foi duas unidades  $\log_{10}$  maiores que o VC-EB para os dois meios utilizados (Figura 13). De forma geral, as populações de diazotróficos utilizadores de C-malato (meio NFb) predominaram sobre diazotróficos utilizadores de C-sacarose (meio LGI). Seguindo este contexto, podem ser observadas mudanças na composição da microbiota associada ao VC em função da excreção pelas minhocas de microrganismos decompositores e bactérias fixadoras de nitrogênio presentes em seu intestino (Singleton et al., 2003).

A comparação dos valores populacionais de bactérias fixadoras de  $N_2$  entre os VCs aponta para uma tendência de o VC-TF abrigar maior população de bactérias fixadoras de nitrogênio. Assim, além de abrigar populações maiores no tempo zero, no pico populacional (30 dias), diazotróficos C-sacarose associados ao VC-TF foram 2,5  $\log_{10}$  superiores ao VC-EB, o que não ocorreu com os diazotróficos C-malato no mesmo período. A partir de 60 dias, ocorreram variações populacionais mais discretas com valores entre  $5 \times 10^5$  e  $10^7$  bactérias/g vermicomposto até o final de período experimental.

Aguiar, (2012) trabalhando com diferentes vermicompostos maturados observou um incremento populacional de bactérias diazotróficas de duas unidades logarítmicas associadas ao VC contendo a TF quando comparado ao VC de EB, bagaço de cana, torta de girassol e torta de girassol mais bagaço de cana. Resultados similares foram obtidos por Balmori et al., (2013), que investigando VC-EB e VC-TF, concluíram que a capacidade diferencial dos vermicompostos em abrigar bactérias resulta, em parte, de diferenças no conteúdo de compostos nitrogenados e carboidratos, alcoóis de cadeia longa e compostos hidrofóbicos (ligninas e ácidos graxos).

No decorrer do monitoramento da dinâmica populacional, foi realizada a prospecção de bactérias associadas aos VCs nos diferentes estádios de



maturação. Embora existam muitos estudos envolvendo a prospecção de bactérias em solos, na rizosfera e associadas (endofiticamente e epifiticamente) às plantas, poucos estão voltados para o isolamento dessas bactérias em processos de vermicompostagem, e menos ainda quando aplicados aos diferentes estádios de maturação. No decorrer deste trabalho foram isoladas, purificadas e estocadas um total de 297 bactérias oriundas dos VCs de EB e TF.

Deste total, foram obtidos 162 isolados de bactérias heterotróficas oriundos de plaqueamento em meios sólidos complexos Nutrient Broth (NB) e Dyg's e 135 isolados potencialmente diazotróficos oriundos dos meios semi-sólidos seletivos isentos de nitrogênio LGI (sacarose como fonte de C) e NFb (ácido málico como fonte de C), ilustrado na Figura 14. Para diazotróficos, as películas aerotáxicas, características de fixadoras de nitrogênio, foram obtidas nas sucessivas repicagens para a confirmação do caráter diazotrófico. Como observado nas Figuras 15 e 16, notou-se uma diversidade de morfotipos de colônias maiores associadas ao VC-TF em ambos os meios complexos e em todo curso de maturação dos VCs. Foi observada também uma queda na diversidade de colônias após os 30 dias de vermicompostagem. Devido ao fato do VC-TF abrigar as maiores diversidades de morfotipos, estes predominaram nos estoques da coleção do laboratório (Tabelas 16 e 17). Danon et al., (2008) estudando a dinâmica de comunidades microbianas em diferentes fases de cura do composto e com diferentes técnicas de identificação observaram diferentes comunidades no decorrer da cura do composto, bem como mudanças populacionais de comunidades bacterianas com o composto já estabilizado.

Estudos como aqui apresentado podem colaborar com o entendimento da microbiologia da vermicompostagem, e a obtenção de isolados com potencial bioinoculante e a possibilidade do uso deste material húmico e suas subfrações com o propósito da obtenção de veículos, que conduzem a biota benéfica capaz de promover, diretamente ou indiretamente, o crescimento vegetal.

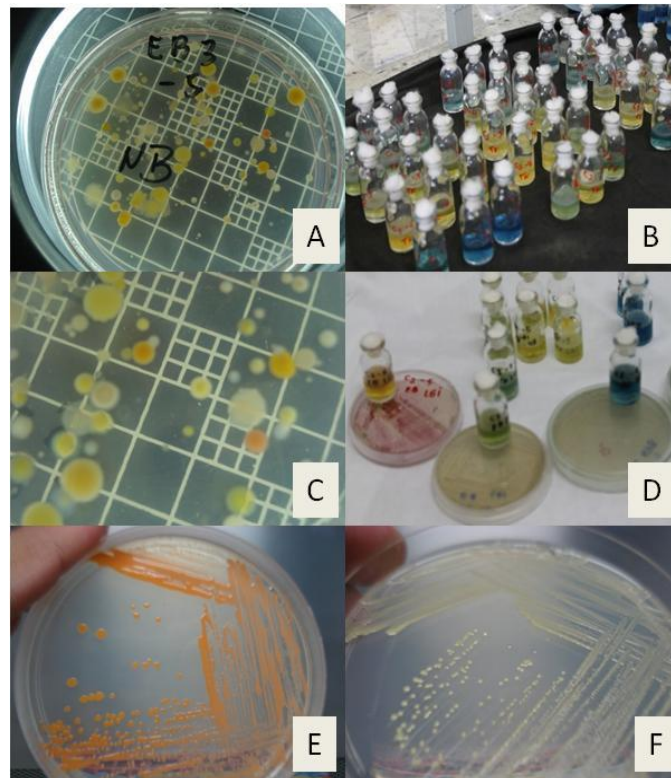


Figura 14. A: Contagem de bactérias heterotróficas em meio sólido; B: Contagem de bactérias diazotróficas em meio semi-sólido; C: Isolamento de bactérias heterotróficas; D: confirmação de película aerotóxica e isolamento; E e F: Purificação dos isolados bacterianos.

As Tabelas 16 e 17 apresentam os resultados individuais do isolamento e estoque para os diferentes substratos no decorrer da maturação dos vermicompostos.

Tabela 16. Número de isolados de bactérias heterotróficas obtidas em diferentes estágios de maturação dos vermicompostos de esterco bovino e torta de filtro.

Tempo/Substrato	# isolados	Tempo/Substrato	# isolados
T0/EB	14	T0/TF	13
T30/EB	20	T30/TF	19
T60/EB	21	T60/TF	22
T90/EB	6	T90/TF	20
T120/EB	13	T120/TF	14
<b>TOTAL</b>	<b>74</b>		<b>88</b>

\* EB: Vermicomposto esterco bovino; TF: Vermicomposto torta de filtro.

Tabela 17. Número de isolados de bactérias diazotróficas, obtidas em diferentes estágios de maturação dos vermicompostos de esterco bovino e torta de filtro.

Tempo/Substrato	# isolados	Tempo/Substrato	# isolados
T0/EB	13	T0/TF	16
T30/EB	13	T30/TF	18
T60/EB	18	T60/TF	14
T90/EB	13	T90/TF	11
T120/EB	7	T120/TF	12
<b>TOTAL</b>	<b>64</b>		<b>71</b>

\* EB: Vermicomposto esterco bovino; TF: Vermicomposto torta de filtro.

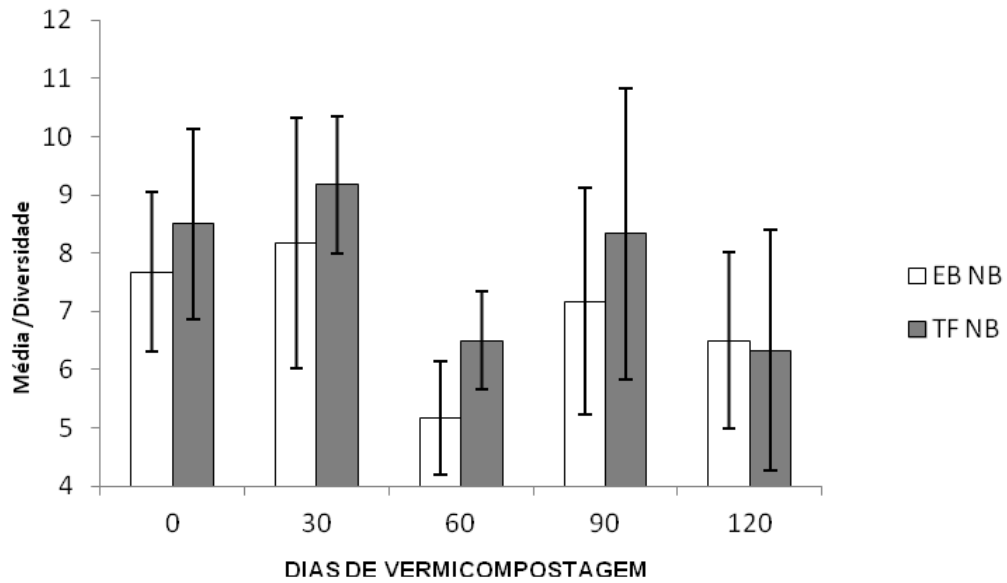


Figura 15. Diversidade de morfotipos de colônias associadas aos vermicompostos em meio sólido NB.

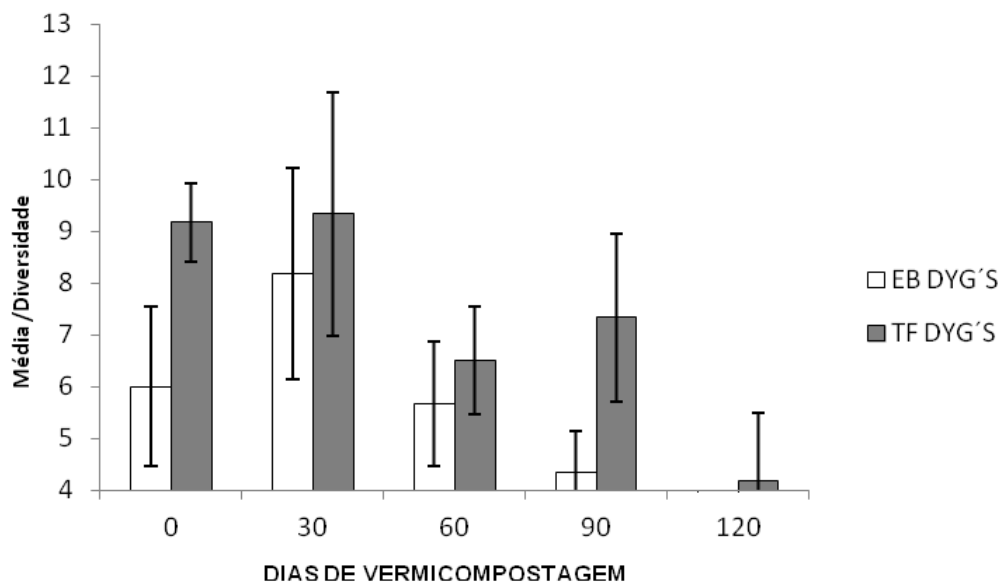


Figura 16. Diversidade de morfotipos de colônias associadas aos vermicompostos em meio sólido DYG'S.

#### **4.3. Caracterização morfológica e cultural dos isolados bacterianos obtidos durante os tempos 30 e 60 de maturação dos vermicompostos;**

Os isolados utilizados nos testes de casa de vegetação, sendo vinte do T30 e vinte do T60, foram caracterizados morfológicamente segundo Perin, 2002, representados nas Tabelas 18 e 19. Juntamente, foram realizadas colorações de Gram, um método muito empregado na realização de características tintoriais e morfológicas das células microbianas. Quanto às características tintoriais as células podem se dividir em dois grupos: Gram-negativas e Gram-positivas, onde sua coloração corresponde respectivamente de rosa e roxo (Carvalho, 2012). Este fato ocorre devido às composições da parede celular bacteriana. As bactérias Gram-positivas possuem em sua parede celular uma camada espessa de peptídeoglicano, assim permanecendo com a coloração primária (roxo), está conferida pelo corante. Já as bactérias Gram-negativas possuem em sua parede celular, ácidos graxos (lipopolissacarídeos e lipoproteínas) incapazes de reterem a coloração violeta, devido à descoloração da camada lipídica por etanol/acetona, mantendo assim a coloração do último corante (vermelho) (Martins et al., 2001). Dos quarenta isolados (vinte do T30 e vinte do T60) corados, 85% apresentaram características de Gram-negativas. Neste mesmo teste, através do material corado, foram observadas as formas dos isolados através de um microscópio de luz, representadas nas Tabelas 20 e 21 e Figura 17.

Tabela 18. Características das colônias dos isolados bacterianos utilizados na inoculação da planta milho em casa de vegetação, obtidos no tempo 30 dias de vermicompostagem

CARACTERIZAÇÃO DA COLÔNIA DAS BACTÉRIAS DO TEMPO 30							
	ISOLAD	COR	TAMANHO	FORMA	ELEVAÇÃO	BORDO	SUPERFÍCIE
1	<b>1LGI</b>	BEGE	< 1mm	IRREGULAR	UMBILICAD	ONDULADO	RUGOSA
2	<b>13 NFb</b>	BEGE	< 1mm	IRREGULAR	UMBONAD	DENTEADO	PALPILADA
3	<b>16 NB</b>	ROSA CL.	PUNTIFORME	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
4	<b>14 NB</b>	AMARELA	PUNTIFORME	CIRCULAR	CONVEXO	ONDULADO	RUGOSA
5	<b>7NFb</b>	BRANCA	> 1mm	IRREGULAR	CONVEXO	ONDULADO	LISA
6	<b>12 NB</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	LENTE	INTEIRO	RUGOSA
7	<b>14 D</b>	AMARELA	PUNTIFORME	CIRCULAR	LENTE	INTEIRO	LISA
8	<b>3 NB</b>	BRANCA	< 1mm	CIRCULAR	CONVEXO	INTEIRO	LISA
9	<b>4 D</b>	SALMON	PUNTIFORME	IRREGULAR	CONVEXO	INTEIRO	LISA
10	<b>5 NFb</b>	BEGE	PUNTIFORME	CIRCULAR	CONVEXO	INTEIRO	LISA
11	<b>8 D</b>	VERDE	< 1mm	IRREGULAR	CONVEXO	ONDULADO	RUGOSA
12	<b>6 NB</b>	VERMELHA	> 1mm	CIRCULAR	CONVEXO	INTEIRO	LISA
13	<b>2 LGI</b>	AMARELA	PUNTIFORME	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
14	<b>9 NB</b>	ROSA	< 1mm	IRREGULAR	CONVEXO	ONDULADO	LISA
15	<b>9 LGI</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	ONDULADO	LISA
16	<b>8 LGI</b>	AMARELA	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
17	<b>5 LGI</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	ONDULADO	LISA
18	<b>7 LGI</b>	BEGE	< 1mm	IRREGULAR	PLANA	ONDULADO	RUGOSA
19	<b>13 LGI</b>	LARANJA	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	ONDULADO	LISA
20	<b>15 NB</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	ONDULADO	LISA

\* Bactérias seguidas pelas letras LGI e NFb são diazotróficas confirmadas.

Tabela 19. Características das colônias dos isolados bacterianos utilizados na inoculação da planta milho em casa de vegetação, obtidos no tempo 60 dias de vermicompostagem

CARACTERIZAÇÃO DA COLÔNIA DAS BACTÉRIAS DO TEMPO 60							
	ISOLAD	COR	TAMANHO	FORMA	ELEVAÇÃO	BORDO	SUPERFÍCIE
1	<b>4 NFb</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
2	<b>22 D</b>	BEGE	PUNTIFORME	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
3	<b>12 NB</b>	VERDE	PUNTIFORME	CIRCULAR	PULVINADA	INTEIRO	LISA
4	<b>8 D</b>	LARANJA	< 1mm	CIRCULAR	UMBONAD	INTEIRO	LISA
5	<b>6 NFb</b>	BRANCA	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
6	<b>6 LGI</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	UMBONAD	INTEIRO	LISA
7	<b>4 LGI</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	CONVEX	INTEIRO	LISA
8	<b>5 LGI</b>	MARRON	< 1mm	IRREGULAR	PLANA	ONDULADO	RUGOSA
9	<b>5 NFb</b>	AMARELA	< 1mm	IRREGULAR	PLANA	ONDULADO	RUGOSA
10	<b>14 NB</b>	ROSA CL	< 1mm	CIRCULAR	LENTE	INTEIRO	LISA
11	<b>4 D</b>	MARRON	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	RUGOSA
12	<b>3 NB</b>	MARRON	< 1mm	CIRCULAR	UMBONAD	INTEIRO	RUGOSA
13	<b>11 LGI</b>	BEGE	PUNTIFORME	CIRCULAR	PULVINAD	INTEIRO	LISA
14	<b>1 LGI</b>	BEGE	< 1mm	IRREGULAR	UMBONAD	ONDULADO	LISA
15	<b>13 NB</b>	ROSA CL.	< 1mm	CIRCULAR	PLANA	INTEIRO	LISA
16	<b>5 NB</b>	MARRON	< 1mm	IRREGULAR	PLANA	ONDULADO	RUGOSA
17	<b>19 D</b>	AMARELA	< 1mm	IRREGULAR	PLANA	ONDULADO	RUGOSA
18	<b>8 NFb</b>	MARRON	< 1mm	IRREGULAR	UMBONAD	ONDULADO	RUGOSA
19	<b>12 NFb</b>	BRANCA	< 1mm	IRREGULAR	PLANA	ONDULADO	LISA
20	<b>18 NB</b>	BEGE	< 1mm	CIRCULAR	UMBONAD	INTEIRO	LISA

\*Bactérias seguidas pelas letras LGI e NFb são diazotróficas confirmadas.

Tabela 20. Características morfológicas dos isolados bacterianos utilizados na inoculação da planta milho em casa de vegetação, obtidos no tempo 30 dias de vermicompostagem

<b>Isolados</b>	<b>Morfologia da célula</b>	<b>Fonte</b>	<b>Coloração</b>
<b>1LGI</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>13 NFb</b>	Bastões	EB	Gram negativo
<b>16 NB</b>	Bastões longos	EB	Gram negativo
<b>14 NB</b>	Cocos	EB	Gram positivo
<b>7NFb</b>	Bastões pequenos	TF	Gram negativo
<b>12 NB</b>	Cocos	TF	Gram positivo
<b>14 D</b>	Bastões curtos	EB	Gram negativo
<b>3 NB</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>4 D</b>	Bastões longos	EB	Gram negativo
<b>5 NFb</b>	Bastões	EB	Gram negativo
<b>8 D</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>6 NB</b>	Bastões longos	TF	Gram negativo
<b>2 LGI</b>	Bastões longos	TF	Gram negativo
<b>9 NB</b>	Bastões	TF	Gram negativo
<b>9 LGI</b>	Bastões	EB	Gram positivo
<b>8 LGI</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>15 LGI</b>	Bastões	EB	Gram negativo
<b>7 LGI</b>	Bastões	EB	Gram negativo
<b>13 LGI</b>	Bastões longos	TF	Gram negativo
<b>15 NB</b>	Bastões curtos	EB	Gram negativo

\* EB: Vermicomposto de esterco bovino; TF: Vermicomposto de torta de filtro

\* Bactérias seguidas pelas letras LGI e NFb são diazotróficas confirmadas.



Tabela 21. Características morfológicas dos isolados bacterianos utilizados na inoculação da planta milho em casa de vegetação, obtidos no tempo 60 dias de vermicompostagem

<b>Isolados</b>	<b>Morfologia da célula</b>	<b>Fonte</b>	<b>Coloração</b>
<b>4 NFb</b>	Cocos	EB	Gram negativo
<b>22 D</b>	Bastões Pequenos	TF	Gram negativo
<b>12 NB</b>	Bastões curvos	TF	Gram negativo
<b>8 D</b>	Bastões curtos	EB	Gram negativo
<b>6 NFb</b>	Cocos	TF	Gram positivo
<b>6 LGI</b>	Bastões retos	EB	Gram negativo
<b>4 LGI</b>	Bastões curtos	EB	Gram negativo
<b>5 LGI</b>	Bastões pequenos	EB	Gram negativo
<b>5 NFb</b>	Bastões	TF	Gram negativo
<b>14 NB</b>	Bastões	EB	Gram negativo
<b>4 D</b>	Bastões longos	EB	Gram negativo
<b>3 NB</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>11 LGI</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>1 LGI</b>	Bastões curvos	EB	Gram negativo
<b>13 NB</b>	cocos	EB	Gram positivo
<b>5 NB</b>	Bastões pequenos	TF	Gram negativo
<b>19 D</b>	cocos	TF	Gram positivo
<b>8 NFb</b>	Bastões curtos	TF	Gram negativo
<b>12 NFb</b>	Bastões longos	TF	Gram negativo
<b>18 NB</b>	Bastões curtos	EB	Gram negativo

\* EB: Vermicomposto de esterco bovino; TF: Vermicomposto de torta de filtro

\* Bactérias seguidas pelas letras LGI e NFb são diazotróficas confirmadas.

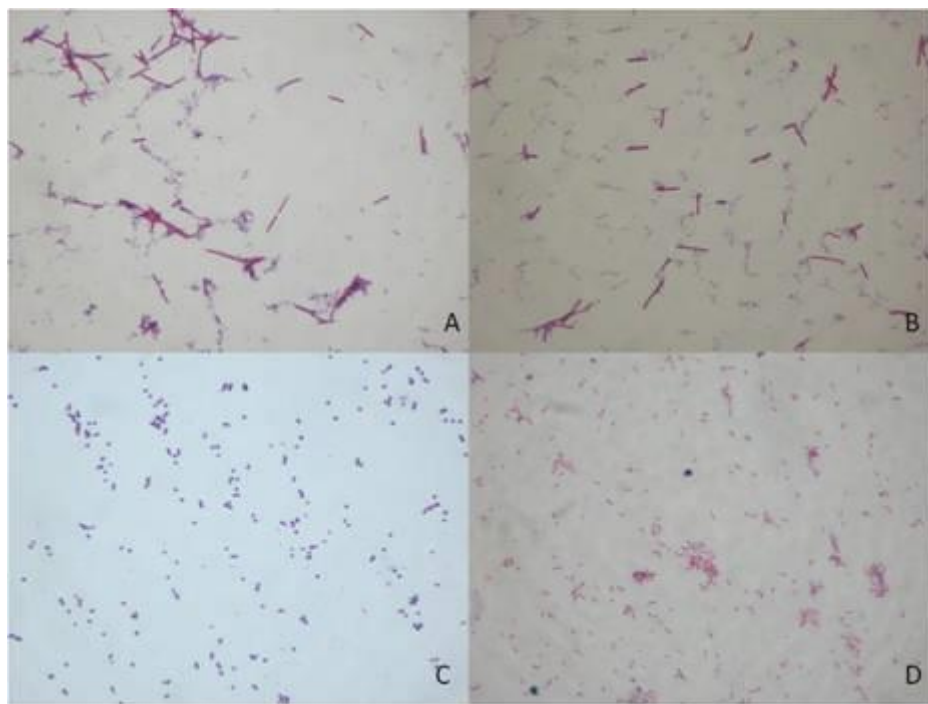


Figura 17. Caracterização da célula. A: Bastões longos, Gram-negativa; B: Bastões, Gram-negativa; C: Cocos, Gram-positivo; D: Bastões curtos, Gram-negativa.

#### 4.4. Características fenotípicas dos isolados nos tempos T30 e T60.

Os quarenta isolados testados (T30 e T60) foram avaliados quanto à sua capacidade de solubilizar fosfato de cálcio, óxido de zinco e quanto à capacidade de produzir compostos indólicos na presença ou não de triptofano.

Para os isolados do T30, 75 % foram capazes de solubilizar P e 80 % foram capazes de solubilizar Zn (Tabela 22 e Figura 18). Já para o T60, 55 % dos isolados foram capazes de solubilizar P e 80 % foram capazes de solubilizar Zn (Tabela 23 e Figura 18). Colaborando com esses resultados Santos et al., (2012) ao avaliarem 30 isolados bacterianos associados à cana soca, observaram que 90 % desses isolados foram capazes de solubilizar fosfato inorgânico. Baldotto et al., (2010) ao testarem 20 isolados bacterianos, obtidos da coleção do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual da Universidade Estadual do Norte Fluminense, quanto a essas características fenotípicas, discriminaram seis isolados capazes de solubilizar Zn e 11 com

capacidade de solubilizar fosfato de cálcio. A disponibilidade desses nutrientes no solo pode influenciar na produção vegetal. Assim, resultados como este, podem colaborar com a nutrição das plantas em solos com baixa disponibilidade desses nutrientes.

Tabela 22. Capacidade de solubilização de P e Zn dos isolados bacterianos utilizados na inoculação da planta milho em casa de vegetação, obtidos no tempo 30 do decorrer da maturação dos vermicompostos

	<b>Isolados T30</b>	<b>Origem</b>	<b>(P)</b>	<b>(Zn)</b>
1	<b>1LGI</b>	TF	+	+
2	<b>13 NFb</b>	EB	+	-
3	<b>16 NB</b>	EB	-	+
4	<b>14 NB</b>	EB	+	+
5	<b>7NFb</b>	TF	+	+
6	<b>12 NB</b>	TF	-	+
7	<b>14 D</b>	EB	-	+
8	<b>3 NB</b>	TF	+	+
9	<b>4 D</b>	EB	+	-
10	<b>5 NFb</b>	EB	+	+
11	<b>8 D</b>	TF	+	+
12	<b>6 NB</b>	TF	+	+
13	<b>2 LGI</b>	TF	+	+
14	<b>9 NB</b>	TF	+	+
15	<b>9 LGI</b>	EB	+	+
16	<b>8 LGI</b>	TF	-	-
17	<b>5 LGI</b>	EB	+	+
18	<b>7 LGI</b>	EB	+	+
19	<b>13 LGI</b>	TF	+	-
20	<b>15 NB</b>	EB	-	+

\* (+): Presença do halo translúcido; (-): Ausência do halo translúcido.

\* EB: Vermicomposto de esterco bovino \* TF: Vermicomposto de torta de filtro.

\* Bactérias seguidas pelas letras LGI e NFb são diazotróficas confirmadas.

Tabela 23. Capacidade de solubilização de P e Zn dos isolados bacterianos utilizados na inoculação da planta milho em casa de vegetação, obtidos no tempo 60 do decorrer da maturação dos vermicompostos

	Isolados T60	Origem	(P)	(Zn)
1	4 NFb	EB	-	+
2	22 D	TF	+	+
3	12 NB	TF	+	+
4	8 D	EB	+	-
5	6 NFb	TF	-	-
6	6 LGI	EB	-	+
7	4 LGI	EB	-	+
8	5 LGI	EB	+	+
9	5 NFb	TF	+	-
10	14 NB	EB	-	+
11	4 D	EB	-	+
12	3 NB	TF	+	+
13	11 LGI	TF	+	-
14	1 LGI	EB	+	+
15	13 NB	EB	-	+
16	5 NB	TF	+	+
17	19 D	TF	-	+
18	8 NFb	TF	+	+
19	12 NFb	TF	-	+
20	18 NB	EB	+	+

\* (+): Presença do halo translúcido; (-): Ausência do halo translúcido.

\* EB: Vermicomposto de esterco bovino \* TF: Vermicomposto de torta de filtro.

\* Bactérias seguidas pelas letras LGI e NFb são diazotróficas confirmadas.

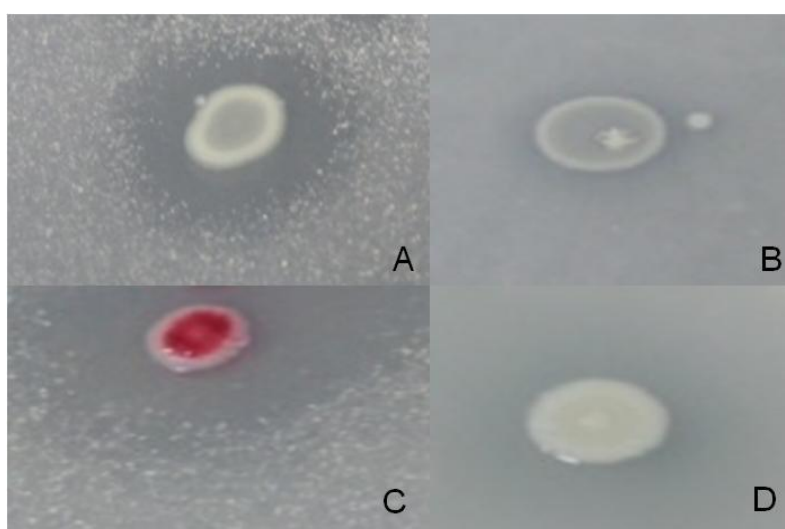


Figura 18. Solubilização de P e ZN. Onde: A e C: Solubilização de ZN; B e D: Solubilização de P.

Os solos Brasileiros são pobres em P (Massenssini et al., 2008), evidenciando a importância dos microrganismos solubilizadores de fontes de fosfato inorgânico insolúveis, de modo que este seja aproveitado pelas plantas em sua nutrição. Já o Zn, se torna pouco disponível pela sua baixa mobilidade no solo, se ligando à matéria orgânica, fazendo com que esse nutriente seja facilmente imobilizado (Fernandes, 2006).

Bento, (2013) testando isolados de serrapilheira em áreas de Mata Atlântica observou alta percentagem de cepas bacterianas capazes de solubilizar estes nutrientes. Além deste atributo, as bactérias possuem outros mecanismos que podem promover o crescimento de plantas, como a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e secretar compostos com atividade similar à dos fitormônios (Olivares et al., 2001).

Neste trabalho, todos os isolados em teste foram capazes de produzir ácido indol acético (AIA) na presença e na ausência de triptofano representados nas Figuras 19 e 20. Igualmente, Bento, (2013) ao testar dois grupos de isolados da serrapilheira, observou que 100% dos isolados bacterianos pertencentes aos dois grupos, na presença e ausência de triptofano, foram capazes de produzir esse fitormônio. Neste mesmo contexto Assumpção, (2009) avaliando a diversidade da comunidade bacteriana endofítica de soja e seu potencial biotecnológico *in vitro*, verificou que dos 176 isolados avaliados, 100 % produziram AIA e 39 % dos isolados solubilizaram fosfato de cálcio. As maiores médias para a síntese de indol foram obtidas quando os isolados foram crescidos na presença de triptofano em meio Dyg's. Corroborando com esses resultados, Baldotto et al., 2010 ao testarem vinte isolados bacterianos, observaram uma maior síntese de indol quando acrescentado o triptofano em meio Dyg's.

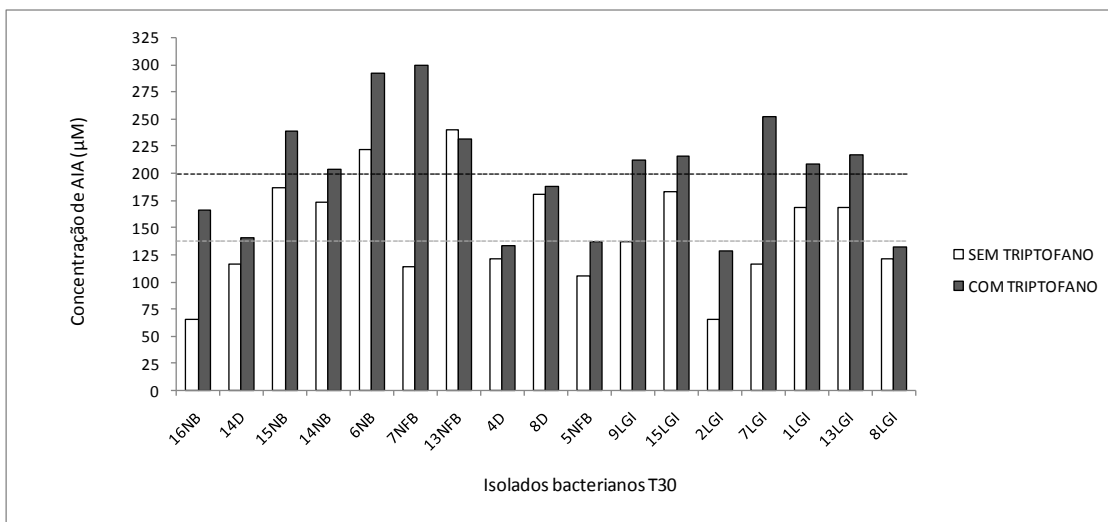


Figura 19. Produção de compostos indólicos equivalentes em AIA pelos isolados bacterianos T30. (---): Média obtida pela produção de AIA na presença de triptofano. (---): Média obtida pela produção de AIA na ausência de triptofano.

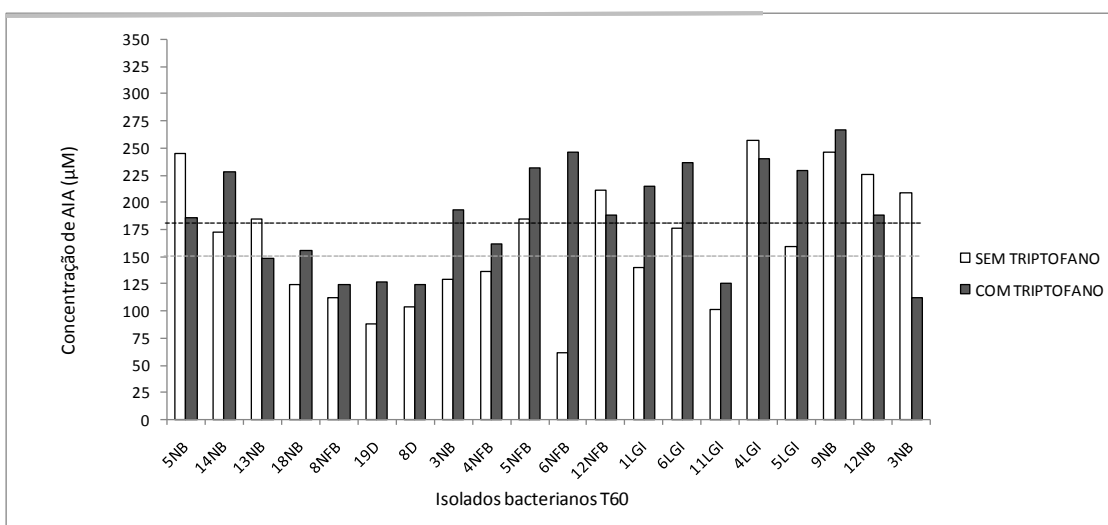


Figura 20. Produção de compostos indólicos equivalentes em AIA pelos isolados bacterianos T60. (---): Média obtida pela produção de AIA na presença de triptofano. (---): Média obtida pela produção de AIA na ausência de triptofano.

#### 4.5. Ensaio comparativos de promoção do crescimento de plantas de milho envolvendo bactérias isoladas dos vermicompostos.

De modo geral foi observado que a adição do vermicomposto (VC) ao substrato possibilitou incrementos positivos e significativos para todas as variáveis analisadas neste experimento. A adição de um terço de VC misturado ao Latossolo Amarelo contribuiu para o incremento de massa seca da parte aérea, da raiz e no volume de raiz (MSPA, MSR e VOL) de plântulas de milho. O substrato 2 que continha o VC, obteve médias superiores quando comparadas ao substrato 1 com incrementos percentuais médios de 21,88 %, 24,33 % e 32,61 %, respectivamente para MSPA, MSR e VOL em relação aos isolados do T30 (Tabela 24). Já para o T60 os incrementos percentuais médios foram de 52,23 %, 12,5 % e 30,29 %, respectivamente para MSPA, MSR e VOL (Tabela 25).

Tabela 24. Efeito dos substratos dentro das variáveis biométricas para a inoculação dos isolados bacterianos obtidos no tempo de 30 dias de maturação dos vermicompostos

Tratamento	MFPA	MSPA	MFR	MSR	VOL
<b>SUBST 1</b>	1.44 B	0.25 B	2.80 B	0.28 B	4.38 B
<b>SUBST 2</b>	2.33 A	0.32 A	4.05 A	0.37 A	6.50 A

\* MFPA: Matéria fresca parte aérea; \* MSPA: Matéria seca parte aérea; \* MFR: Matéria fresca raiz; \* MSR: Matéria seca raiz; \* VOL: Volume raiz.

\* SUBST I: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST II: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto  
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.

Tabela 25. Efeito dos substratos dentro das variáveis biométricas para a inoculação dos isolados bacterianos obtidos no tempo de 60 dias de maturação dos vermicompostos

Tratamento	MFPA	MSPA	MFR	MSR	VOL
<b>SUBST 1</b>	2.97 B	0.32 B	3.54 B	0.35 B	5.20 B
<b>SUBST 2</b>	3.25 A	0.67 A	4.14 A	0.40 A	7.46 A

\* MFPA: Matéria fresca parte aérea; \* MSPA: Matéria seca parte aérea; \* MFR: Matéria fresca raiz; \* MSR: Matéria seca raiz; \* VOL: Volume raiz.

\* SUBST I: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST II: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto  
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.

A ausência do VC no substrato 1 diminuiu significativamente a amplitude de resposta para as características de crescimento das variáveis biométricas analisadas, evidenciando sua importância na resposta de plantas de milho quanto à promoção do crescimento vegetal sob condições deste experimento. O VC já é comprovadamente um ótimo produto de mistura como substrato para plantio, devido à sua alta carga microbiana benéfica, ao alto conteúdo de matéria orgânica e à grande quantidade de macro e micronutrientes e seus condicionantes positivos sobre a estrutura física do substrato (Ali et al., 2007; Giro, 2011; Landgraf et al., 1999; Castro, 2003; Padmavathiamma et al., 2008), o que justifica os resultados observados.

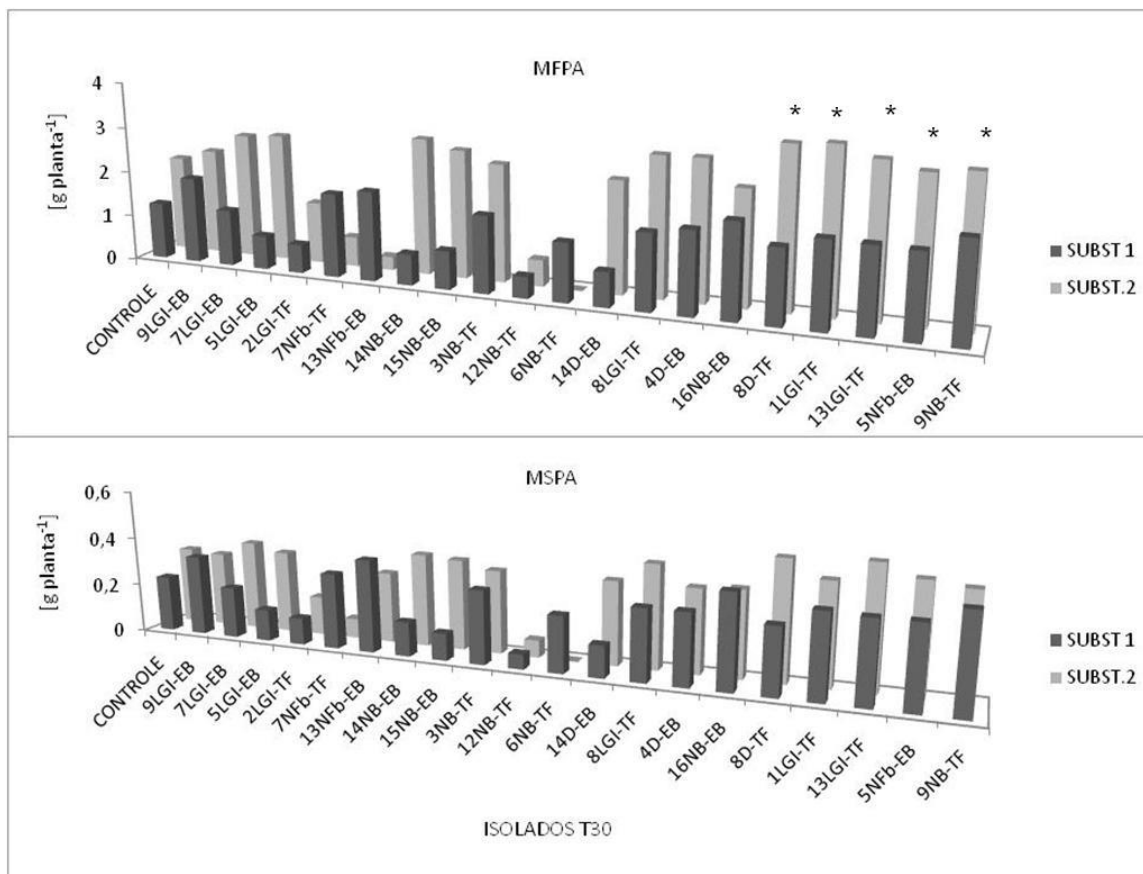
Devido ao seu alto teor de nutriente disponível, o VC vem sendo utilizado como meio de crescimento para as plantas e recomendado na horticultura (Arancón et al., 2004), substituindo outros substratos orgânicos a base de produtos não renováveis como a turfa (Zaller, 2007). Ricci et al., (1995), verificaram que o VC pode fornecer P, Ca, Mg e S na mesma medida em que fertilizantes inorgânicos. Além disso, é bem sabido que os vermicompostos apresentam elevado conteúdo de substâncias húmicas, que têm a capacidade de promover o crescimento da planta (Arancón et al., 2004).

Rodda et al., (2006) observaram que substâncias húmicas isoladas de diferentes VCs promoveram o crescimento radicular de alface, o que aumentou a resistência ao estresse após o transplante. O aumento na emergência das raízes laterais observado nestas plantas pode ser em parte justificado pelas



atribuições das substâncias húmicas em melhorar a atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase. Esta enzima faz o acoplamento da hidrólise da adenosina trifosfato (ATP) para o transporte de H<sup>+</sup> através das membranas celulares (Sze et al., 1999). Neste mesmo contexto, Façanha et al., (2002) ao avaliarem a ação de substâncias húmicas sobre o transporte de prótons através da membrana plasmática de células de raízes de milho e café e sua relação com o desenvolvimento dessas espécies, observaram que substâncias húmicas isoladas de vermicomposto estimularam a H<sup>+</sup>-ATPase de membrana plasmática nas plântulas, contribuindo para o incremento radicular. Como resultado, o processo da vermicompostagem ou substâncias isoladas a partir deste com potencial de promover o crescimento de plantas está bem documentado (Canellas et al., 2002, Nardi et al., 2009, Aguiar et al., 2013).

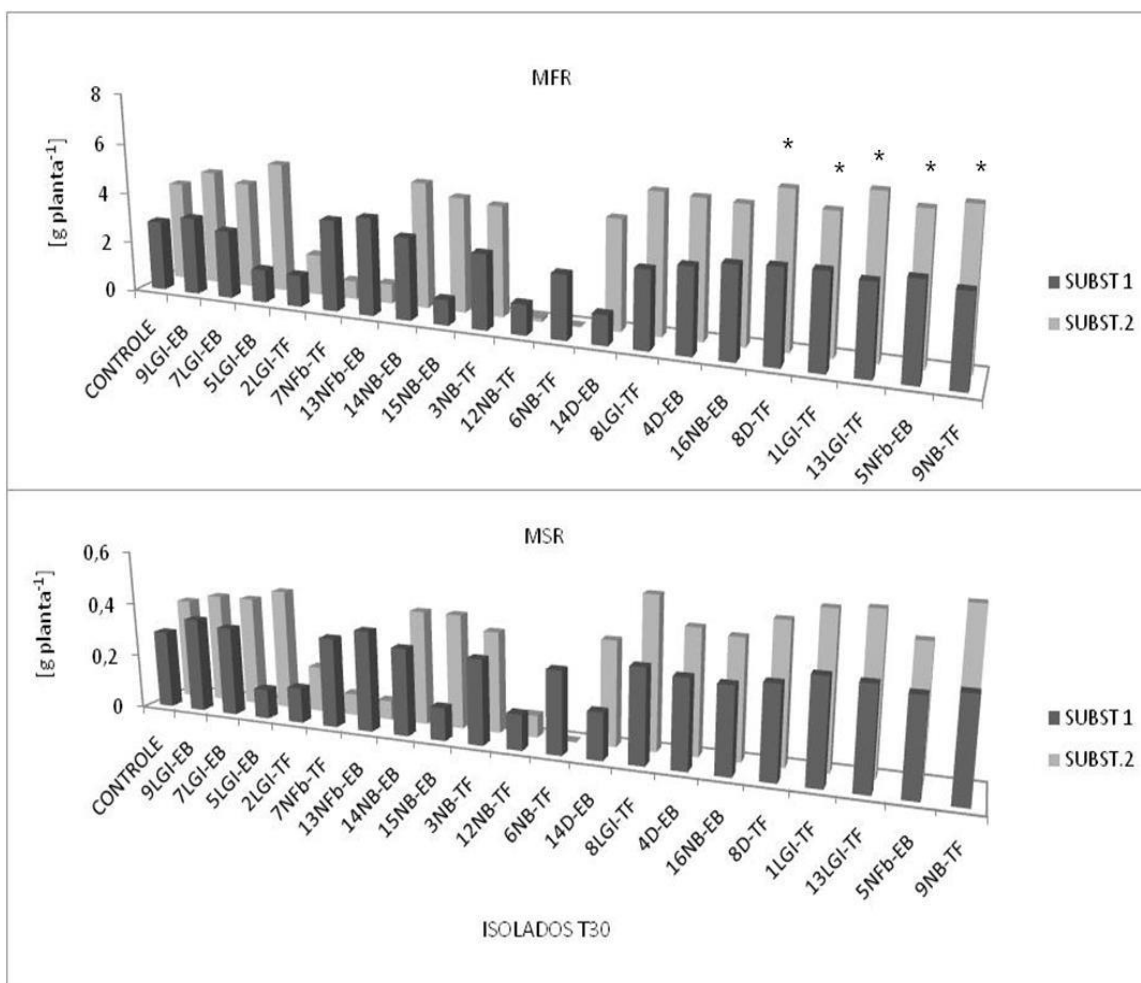
Quando avaliadas as análises biométricas do T30, foram obtidos resultados significativos, onde um grupo de bactérias se destacou repetindo médias altas nas análises, sendo este grupo composto pelas bactérias 1 LGI-TF; 13 LGI-TF; 5 NFb-EB; 9 NB-TF e 8 D-TF (Figuras 21, 22 e 23). Todas estas caracterizadas com potencial de solubilização de P e Zn como mostrado na Tabela 22. Bactérias solubilizadoras de fosfato, em condições de campo, podem promover o desenvolvimento de plantas (Verma et al., 2001). Além de solubilizadoras, essas bactérias também produziram compostos indólicos (Figura 19), fitormônios capazes de promover o desenvolvimento de plantas, e três dessas apresentaram características de fixadoras de nitrogênio (1LGI-TF, 13 LGI-TF e 5 NFb-EB), podendo em parte justificar tal desempenho por este grupo.



\* MFPA: Matéria fresca parte aérea; \* MSPA: Matéria seca parte aérea.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto. (\*): Isolados com médias altas.

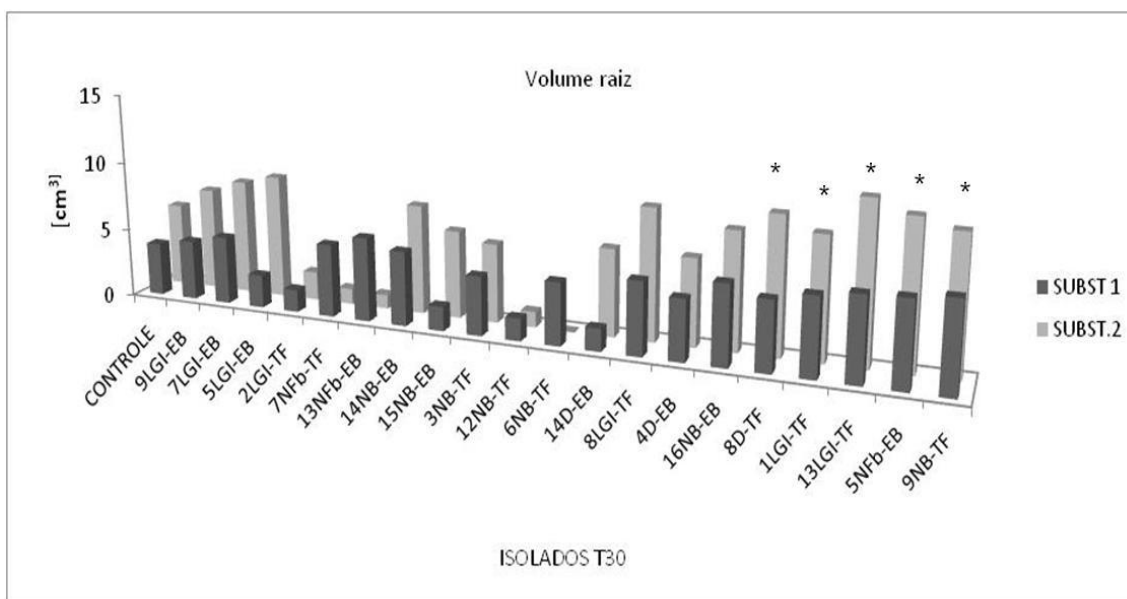
Figura 21. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias oriundas do tempo 30, inoculadas na planta milho.



\* MFR: Matéria fresca raiz; \* MSR: Matéria seca raiz.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto. (\*): Isolados com médias altas.

Figura 22. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias oriundas do tempo 30, inoculadas na planta milho.



\*VOL: Volume raiz.

\* SUBST1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto. (\*): Isolados com médias altas.

Figura 23. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias oriundas do tempo 30, inoculadas na planta milho.

Santos et al., (2012) em estudos com bactérias diazotróficas solubilizadoras de fosfato inorgânico associadas à planta de cana-de-açúcar, concluíram que essas bactérias são grandes candidatas a promoverem o crescimento vegetal em solos salinos. Corroborando com os dados Baldotto et al., (2010) ao testarem 20 isolados bacterianos fixadores de nitrogênio, solubilizadores de fosfato de cálcio e óxido de zinco e produtores de AIA, discriminaram quatro estirpes (UENF 118503b, UENF 118503a, UENF 117221 e UENF 114111), que foram capazes de incrementar a massa da parte aérea, do sistema radicular e nos conteúdos foliares de N, P, K, Ca e Mg do abacaxizeiro 'Vitória' durante a aclimatização.

Observa-se que o grupo de cinco bactérias de destaque encontradas no presente estudo, é composto por quatro bactérias isoladas do VC-TF. Isto evidencia a riqueza deste material em abrigar uma diversidade de bactérias capazes de, diretamente e/ou indiretamente, promover o crescimento vegetal.

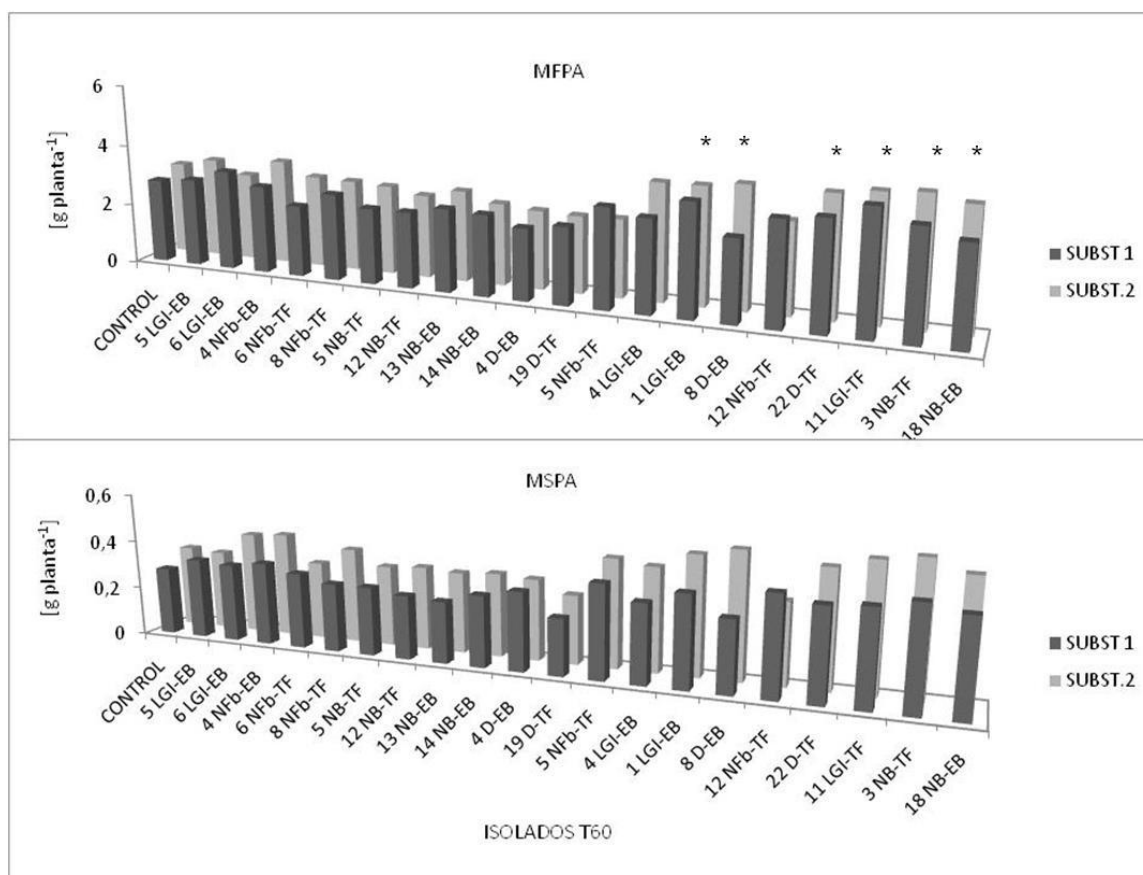
Quando inoculada no substrato 1, a bactéria 9 NB-TF obteve melhores resultados quando comparada com as demais do grupo. Já para o substrato 2 se destacou a bactéria 13 LGI-TF. A bactéria 6 NB-TF foi um caso particular, já que quando inoculada junto ao substrato 2 nenhuma plântula se desenvolveu, foram perdidas todas as parcelas envolvendo este ensaio, podendo essa bactéria inibir a germinação de sementes de milho na presença de VC.

Vessey, (2003) ao inocular bactérias em plantas, observou um aumento da área da superfície radicular e um conseqüente aumento da disponibilidade de nutrientes na rizosfera. Os resultados quanto ao aumento do volume de raiz considerando as alterações anatômicas que resultam em aumento de área / comprimento raiz e do surgimento de pelos radiculares podem também induzir a associação com outros microrganismos benéficos presentes no substrato, podendo em parte justificar as médias altas das variáveis biométricas.

A combinação de VC e bactérias no substrato 2 obteve médias superiores quando bactérias foram inoculadas somente no solo (substrato 1), evidenciando que a combinação de bactérias e VC ou ácidos húmicos oriundos da vermicompostagem podem levar a um incremento expressivo na produtividade das plantas. Marques Júnior et al., (2008) avaliando o enraizamento de microtoletes de cana-de açúcar tratados termicamente após a inoculação conjunta da estirpe *H. seropedicae*, estirpe HRC 54 e ácido húmico oriundo de vermicompostagem, promoveram o estímulo na biomassa da parte aérea, no comprimento e na área radicular. Nosso estudo indica que, quando há combinação de VC e bactéria, observa-se uma melhor resposta da planta milho quanto ao seu desenvolvimento. Igualmente, Canellas et al., (2013) quando inoculando bactérias combinadas com substâncias húmicas, oriundas de VC, em planta milho obtiveram um estímulo de raízes laterais e ativação da H<sup>+</sup>-ATPase. Neste mesmo sentido, Rodrigues et al., (2014) avaliando o efeito sinérgico de *Azospirillum brasilense* e ácidos húmicos isolados de VC em plantas de trigo, observaram um incremento na produção desta cultivar, principalmente em matéria seca das folhas.

Avaliando-se as variáveis biométricas do T60, foi observado um grupo com repetidas médias altas, sendo este grupo composto pelas bactérias 1 LGI-EB, 11 LGI-TF, 3 NB-TF, 18 NB-EB, 8 D-EB e 22 D-TF (Figuras 24, 25 e 26). Todas essas com potencial de produzir AIA (Figura 20), solubilizar P e somente

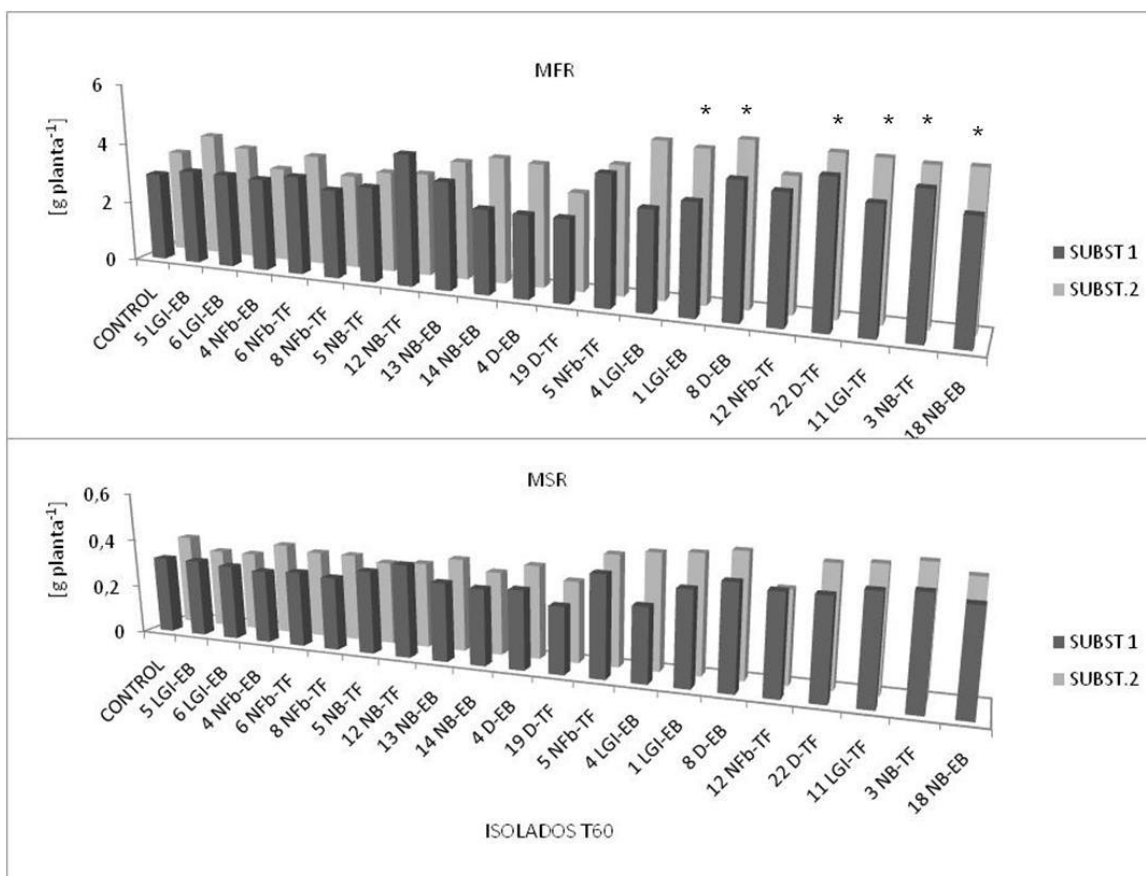
duas (11 LGI-TF e 8 D-EB) não solubilizaram Zn (Tabela 23). As bactérias 11 LGI-TF e 3 NB-TF se destacaram dentro deste grupo com melhores respostas das plantas quando inoculadas em ambos os substratos. Igualmente ao T30, avaliando-se a MS, os resultados corresponderam às médias altas obtidas na MF com as mesmas bactérias, tanto pela parte aérea quanto pela raiz, levando a considerar que o incremento de massa pode ser justificado pelo inóculo presente. Corroborando com estes resultados, Zucareli et al., (2011) obtiveram resultados significativos ao inocularem *Pseudomonas fluorescens* em plantas de milho, incrementando sua produtividade. Também, para o T60 foram observadas médias altas das bactérias quando inoculadas em conjunto com o VC, aumentando consideravelmente o incremento na parte aérea e raiz das plantas milho.



\* MFPA: Matéria fresca parte aérea; \* MSPA: Matéria seca parte aérea.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto. (\*): Isolados com médias altas.

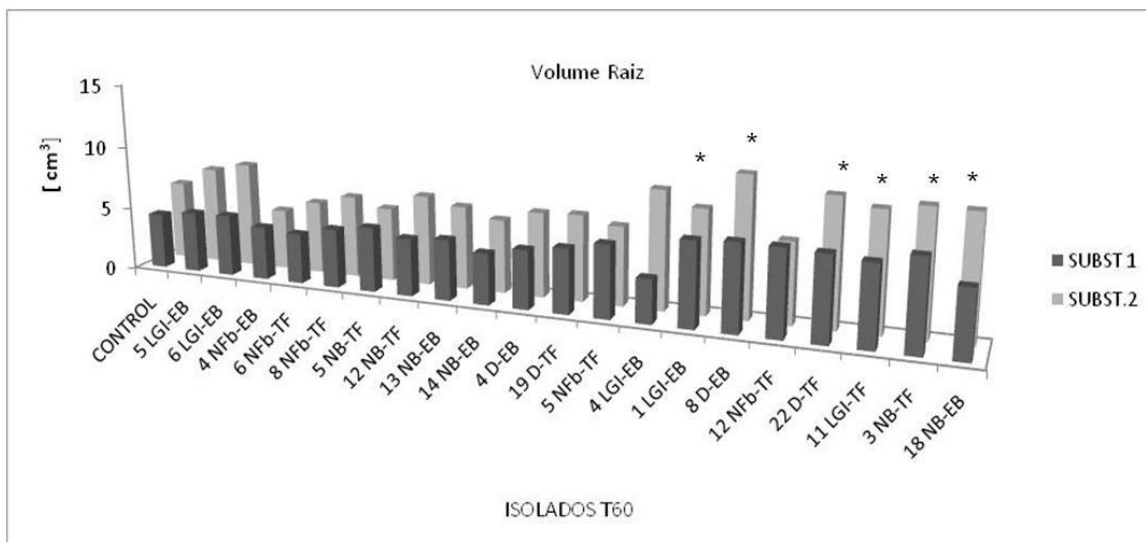
Figura 24. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias oriundas do tempo 60, inoculadas na planta milho.



\* MFR: Matéria fresca raiz; \* MSR: Matéria seca raiz.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto. (\*): Isolados com médias altas.

Figura 25. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias oriundas do tempo 60, inoculadas na planta milho.



\*VOL: Volume raiz.

\* SUBST1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto. (\*): Isolados com médias altas.

Figura 26. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias oriundas do tempo 60, inoculadas na planta milho.

Quando comparados ao ensaio do T30, os isolados do T60 não obtiveram nenhuma perda de parcela, como demonstrado na Figura 24, podendo ser explicado devido ao fato de estes isolados serem obtidos de um VC já maturado. Segundo Warman e Anglopez, (2010), o estímulo do crescimento das plantas por VC maduro pode não ser apenas pelo fator nutricional, mas também pode ser devido às diferenças de comunidades e das atividades microbianas presentes, bem como as substâncias que estimulam o crescimento vegetal (Arancón et al., 2004; Aguiar et al., 2013). Reforçando a ideia que um VC maduro compreende uma porção de microrganismos prontamente ativos para o estímulo do crescimento vegetal. Este fato ainda pode ser explicado devido à morte das minhocas, assim seu corpo acaba se tornando matéria orgânica prontamente disponível para uma nova comunidade microbiana (Aquino et al., 2005), assim como podem ser liberadas comunidades microbianas distintas, que residem no intestino das minhocas.



Neste estudo foram observadas diferenças significativas na estrutura das raízes (Figura 27). Aguiar et al., (2013) observaram um incremento de raízes laterais emergindo do eixo principal em plântulas de milho quando usado VC com 60 dias de maturação. Rodda, (2003) ao utilizar humatos extraídos de vermicompostos estabilizados observou um desenvolvimento radicular significativo em plantas de alface e milho, nesta última foi observado um estímulo de 420 % da área radicular.

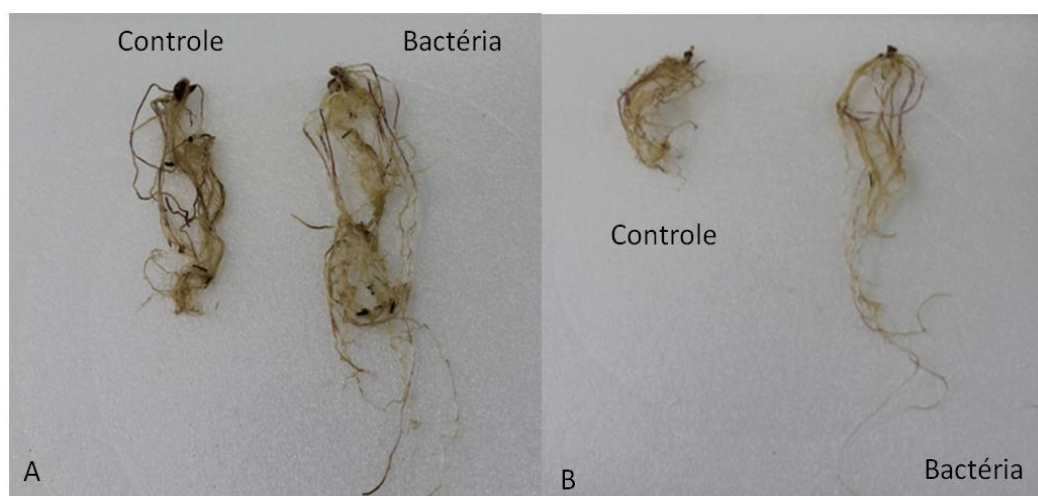


Figura 27. Raízes de plântulas de milho. A: Inoculação das bactérias no Substrato 2. B: Inoculação das bactérias no Substrato 1.

Os efeitos positivos da aplicação do VC sobre o crescimento de plantas de milho em casa de vegetação, independente da inoculação com bactérias, ficaram evidenciados nas Tabelas 24 e 25. Avaliando separadamente o efeito da aplicação do VC na forma do % de incremento da aplicação de VC em plantas controle e do % de incremento de VC mais a média do conjunto das bactérias inoculadas (20 estirpes obtidas em T30 e 20 estirpes obtidas em T60) observa-se, que a exceção da MSPA e Vol para isolados bacterianos obtidos em T30, não existiram diferenças significativas no desempenho de plantas inoculadas e controle quando da aplicação de VC (substrato 2) pelo teste t de student em nível de 5% de probabilidade de acordo com a Tabela 26.

Tabela 26. Efeito da aplicação do vermicomposto em plantas bacterizadas (isolados bacterianos do grupo do tempo 30 e do tempo 60) e plantas controle (não inoculadas) expresso como percentual de incremento nas características de crescimento de plantas de milho

	<i>MFPA</i>	<i>MSPA</i>	<i>MFR</i>	<i>MSR</i>	<i>VOL</i>	<i>MFPA</i>	<i>MSPA</i>	<i>MFR</i>	<i>MSR</i>	<i>VOL</i>
<i>%</i>	<i>Isolados bacterianos T30</i>					<i>Isolados bacterianos T60</i>				
<b>Plantas</b>	62,0 <sup>+</sup>	26,5	41,9	31,0	56,6	10,1	21,4	16,4	18,7	42,5
<i>VC+bac/bac</i>	(n.s.)	(*)	(n.s.)	(n.s.)	(*)	(n.s.)	(n.s.)	(n.s.)	(n.s.)	(n.s.)
<b>Controle</b>	69,3	39,1	44,7	29,3	47,9	9,4	20,9	16,9	14,6	43,5
<i>VC+/VC-</i>	(n.s.)	(*)	(n.s.)	(n.s.)	(*)	(n.s.)	(n.s.)	(n.s.)	(n.s.)	(n.s.)

\* Comparação entre médias na mesma coluna: (n.s.) – não significativo e (\*) significativo (5% de probabilidade).

O efeito isolado da combinação entre diferentes isolados de bactéria e do VC (substrato 2) com relação a plantas bacterizadas (substrato 1) evidenciou mais claramente o potencial particular de cada estirpe na promoção do crescimento de plântulas de milho, tomando com referência a razão % de incremento de plantas controle no substrato 2 sobre o substrato 1. Três grupos de isolados foram considerados: aqueles que promoveram quatro ou cinco características biométricas da planta (Grupo I), aqueles que promoveram três ou menos características de crescimento (Grupo II), com respostas similares a aplicação de VC em plantas não inoculadas e o Grupo III, este contendo isolados que se destacaram como promotores do crescimento de milho no substrato sem VC (substrato 1), gerando no gráfico razão negativa (Figuras 28 e 29). Observando estas figuras, notou-se que o grupo de isolados obtidos a partir do estágio de maturação dos VCs de 30 dias (T30) foi mais efetivo que o grupo de isolados de 60 dias de maturação (T60). No grupo T30, os isolados 5 LGI-EB, 15 NB-EB, 14 D-EB, 14 NB-EB foram capazes de promover consistentemente as cinco características de crescimento avaliadas em plantas de milho, com incrementos de até sete vezes superiores àqueles obtidos para a razão entre plantas não inoculadas crescidas no substrato 2/ substrato 1. Ainda neste grupo, também se destacaram os isolados 8 D-TF, 7 LGI-EB, 8 LGI-TF e 13 LGI-TF, embora com menor magnitude de resposta. O grupo II abriga oito isolados com magnitude de resposta similar àqueles observados para plantas não inoculadas que receberam VC, e o terceiro grupo (Grupo III) é formado por

quatro isolados (12 NB-TF, 7 NFb-TF, 13 NFb-EB e 6 NB-TF) que foram mais efetivos em promover o crescimento de plantas de milho no substrato 1 em relação ao substrato 2.

Para os isolados T60 a magnitude de resposta à inoculação na presença e ausência de VC foi menor (Figura 29). No grupo I (isolados 4 LGI-EB e 8 D-EB), 13 isolados no grupo II e 5 isolados no grupo III. Ressalta-se efeito marcante da aplicação do VC sobre o volume radicular, com incrementos entre 45 e 180 %.

Ficou claramente demonstrado que alguns isolados obtidos de VCs são mais efetivos na estimulação de plantas quando se aplica VC no substrato de crescimento. Contrariamente, existe um grupo de isolados mais efetivos em substratos isentos de VC em sua composição. Estas diferenças de desempenho não são facilmente explicadas, de um lado, Balmori et al., (2013) descreveram o papel relevante do VC como veículo microbiano, mantendo elevados níveis populacionais de bactérias naturalmente associadas e introduzidas, evidenciando ainda, a habilidade diferencial de VCs abrigarem microrganismos. Assim, além dos efeitos nutricionais previsíveis, estes oriundos da aplicação do VC, efeitos sinérgicos podem ser conseguidos pelas formulações envolvendo bioinoculantes e estirpes selecionadas de bactérias.

Para alguns isolados, o desempenho das plantas inoculadas não foi estimulado pela presença do VC. A interação destes isolados com o VC deve ser estudada no sentido de avaliar possíveis efeitos fitotóxicos destes isolados ou alterações deletérias da estrutura da comunidade microbiana presente ou estimulada pelo VC em função da introdução do isolado.

Como função das respostas diferenciais das plantas obtidas neste estudo, um experimento interessante envolveria as respostas dos isolados na presença de vermicomposto de esterco bovino e de torta de filtro, já que neste estudo apenas VC-EB foi utilizado.

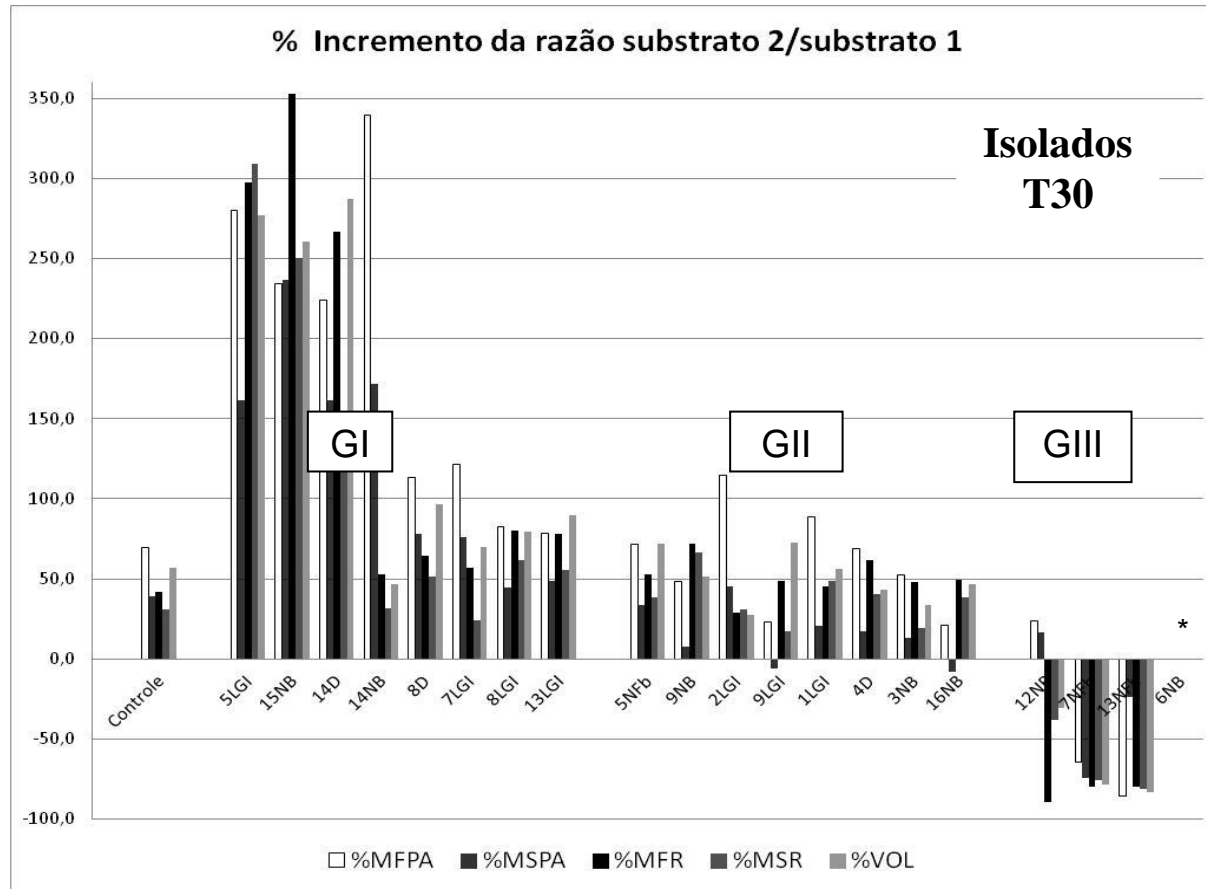


Figura 28. Efeito da aplicação combinada de vermicomposto e diferentes isolados bacterianos obtidos no tempo 30 de maturação dos vermicompostos em plântulas de milho. As diferentes barras representam o % de incremento das características de crescimento (matéria fresca e seca da parte aérea e raiz e volume radicular: MFPA, MSPA, MFR, MSR e VOL) para cada tratamento no substrato 2 em relação ao substrato. (valores percentuais como média de quatro repetições). \* Plantas inoculadas com isolado 6NB no substrato 2 tiveram 100% de mortalidade.

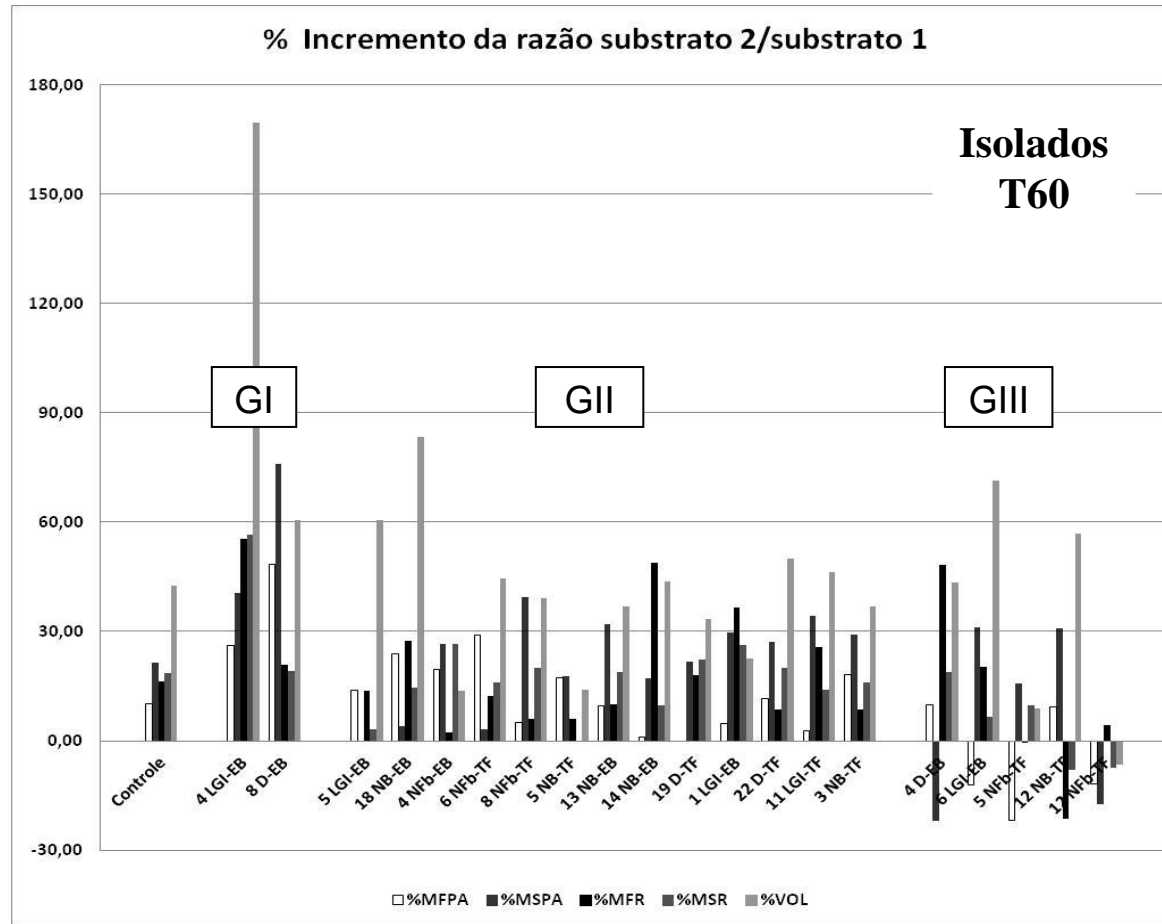


Figura 30. Efeito da aplicação combinada de vermicomposto e diferentes isolados bacterianos obtidos no tempo 30 de maturação dos vermicompostos em plântulas de milho. As diferentes barras representam o % de incremento das características de crescimento (matéria fresca e seca da parte aérea e raiz e volume radicular: MFPA, MSPA, MFR, MSR e VOL) para cada tratamento no substrato 2 em relação ao substrato. (valores percentuais como média quatro repetições).

## 5. CONCLUSÕES

- I. Vermicompostos de matérias-primas distintas são capazes de abrigar diferentes comunidades bacterianas tanto no quesito qualitativo quanto quantitativo;
- II. Pelo teste de fitoxidade concluímos que, ambos os vermicompostos apresentaram-se maturados aos 60 dias de vermicompostagem;
- III. Ocorreu um incremento de macronutrientes no decorrer da vermicompostagem (0- 120 dias) com valores de 8,7 e 4,3 % P; 209 e 12,5 % K; 214 e 138,2 % Ca; 287,5 e 629,1 % Mg; 73,6 e 88,5 % S, respectivamente para o VC-EB e VC-TF, com destaque para o último. Já para os micronutrientes houve incremento apenas para Zinco e Sódio;
- IV. Durante a maturação foi observado um pico populacional aos 30 dias, que pode estar relacionado com a maior atividade das minhocas neste período;
- V. A partir de 60 dias de vermicompostagem, há uma tendência do VC-TF (torta filtro) abrigar maiores densidades populacionais quando comparado ao VC-EB (esterco bovino);
- VI. As populações de diazotróficos utilizadores de C-malato predominaram sobre diazotróficos utilizadores de C-sacarose;
- VII. O substrato II demonstrou um melhor “veículo” de inóculo, apresentando médias superiores ao substrato 1;

- VIII. Os isolados bacterianos pertencentes ao tempo de vermicompostagem T30 (8D-EB; 1LGI-TF; 13LGI-TF; 5NFb-EB e 9NB-TF) e do T60 (8D-EB, 22D-TF; 3NB-TF; e 11-LGI –TF) demonstraram potencial de promoção do crescimento vegetal quando inoculados em plântulas de milho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, K.P. (2012) *Prospecção de Bactérias Promotoras do Crescimento vegetal Associadas em Vermicomposto*. Tese de Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro.
- Aguiar N.O., Olivares F.L., Novotny E.H., Oliveira, A.L., Rumjanek, V.M., Olivares, F.L., Canellas, L.P. (2012) Prediction of humic acids bioactivity using spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Geochemical Exploration*, 129 p:95–102.
- Aguiar, N.O., Olivares, F.L., Novotny, E.H., Dobbss, L.B., Martizez-Balmori, D., Santos-Júnior, L.G., Chagas, J.G., Façanha, A.R., Canellas, L.P. (2013). Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages. *Plant Soil*, 362, 161–174.
- Aira, M., Monroy F., Dominguez, J. (2007) Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry. *Sci Total Environ*, 385: 252– 261.
- Albanell, E., Plaixats, J., Cabrero, T. (1988) Chemical changes during vermicomposting (*Eisenia fetida*) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes. *Biol Fertil Soils*, 6: 266-269.
- Almeida, D.L. de. (1991) *Contribuição da matéria orgânica na fertilidade do solo*. Itaguaí: Tese de Doutorado Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 188p.



- Ali, M., Griffiths, A.J., Williams, K.P., Jones, D.L. (2007) Evaluating the growth characteristics of lettuce in vermicompost and green waste compost. *Eur. J. Soil Biol.* 43:S316-S319. doi: 10.1016/j.ejsobi.08.045.
- Amorim, E.P.R., Melo, I.S. (2002) Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora* parasítica e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. *Revista Brasileira de Fruticultura.*, 24:565-568.
- Andreola, F. & Fernandes, S.A.P.(2007) A microbiota do solo na agricultura orgânica e no manejo das culturas. In: Silveira, A.P.D. e Freitas, S.S. *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Instituto Agrônomo de Campinas – On line. p.21-38.
- Aquino, A.M. de., Almeida, D.L. de., Freire, L.R., De-Polli, H. (1994) Reprodução de minhocas (*Oligochaeta*) em esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29, p.161- 168.
- Aquino, A.M., Almeida, D.L., Guerra, J.G.M., De-Polli, H. (2005) Biomassa microbiana, colóides orgânicos e nitrogênio inorgânico durante a vermicompostagem de diferentes substratos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* Brasília, v.40, n.11, p.1087-1093.
- Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Atiyeh, R., Metzger, J.D. (2004) Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers. *Biores. Technol.* 93:139–144. doi: [10.1016/j.biortech.2003.10.015](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.015).
- Arancon, N.Q., Pant A., Radovich T., Hue N.V., Potter J.K., Converse, C.E. (2012). Seed Germination and Seedling Growth of Tomato and Lettuce as Affected by Vermicompost Water Extracts (Teas). *Hortscience* 47, 1722-1728
- Araujo, F. F., Hungria, M. (1999). Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/B. elkanii. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília. DF, 34:1633-1643.
- Araújo, A.S.F., Burity, H.A., Lyra, M.C.C.P. (2001). Influência de diferentes níveis de fósforo na associação *Rhizobium* - fungo micorrizico arbuscular em algaroba (*Prosopis juliflora*). *Revista Científica Rural*, Bagé, 6:1-7.
- Assumpção, L. de C.; Lacava, P. T.; Dias, A. C. F.; Azevedo, J. L. de; Menten, J. O. M. (2009) Diversidade e Potencial Biotecnológico da Comunidade Bacteriana Endofítica de Sementes de Soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, n. 5, 44:503-510.
- Atiyeh, R.M., Dominguez, J., Subler, S., Edwards, C.A. (2000) Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouché) and the effects on seedling growth. *Pedobiologia* 44: 709-724.

- Atiyeh, R.M., Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Metzger, J.D. (2000) Influence of earthworm- processed pig manure on the growth and yield of green house tomatoes. *Bioresour Technol* 75: 175-180.
- Avis, T.J., Gravel, V., Antoun, H., Tweddell, R.J. (2008) Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 40:1733-1740.
- Baldani, V.D. & Döbereiner J. (1980) Host plant specificity en the enfecction of cereaes whith *Azospirillum spp* soil boil. *Biochem.* 12:433-439.
- Baldani, V.D.L. (1996) *Efeito da inoculação de Herbaspirillum spp no processo de colonização e infecção de plantas de arroz, ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.* Tese de Doutorado. UFRRJ Seropédica, RJ.
- Baldotto, L. E. B., Baldotto, M. A., Olivares, F. L., Viana, A. P., Bressan-Smith, R. (2010) Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34: 349-360.
- Baldotto, E.B.; Silva, Luiz,G.S. ; Canellas, L.P. ; Olivares, F.L. ; Baldotto, M.A. (2012) Initial growth of maize in response to application of rock phosphate, vermicompost and endophytic bacteria. *Revista Ceres*, v. 59, p. 262-270.
- Balmori, D.M. (2012) *Caracterização molecular da matéria orgânica durante a vermicompostagem.* Tese de Doutorado em Produção Vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro.
- Bansal, S., Kapoor, K.K. (2000) Vermicomposting of crop residues and cattle dung with *Eisenia foetida*. *Bioresour Technol* 73: 95-98.
- Banu, J.R., Logakanthi, S., Vijayalakshmi, G.S. (2001) Biomanagement of paper mill sludge using an indigenous (*Lampito mauritii*) and two exotic (*Eudrilus eugineae* and *Eisenia foetida*) earthworms. *J Environ Biol* 22: 181-185.
- Bashan, Y.O.A.V. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*. v. 16, n. 4, p. 729 – 770.
- Benitez, E., Nogales, R., Elvira, C., Masciandaro, G., Ceccanti, B. (1999) Enzymes activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting by *Eisenia foetida*. *Bioresour Technol* 67: 297-303.
- Bento, M.A.O. (2013) *Prospecção e avaliação do Potencial Biotecnológico de Bactérias da Serrapilheira e do Solo em Área de Floresta Atlântica do Norte Fluminense.* Tese de Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro.

- Bhatnagar, R.K., Palta, R.K. (1996) Earthworm-Vermiculture and Vermicomposting. *Kalyani Publishers*: New Delhi.
- Binet, F., Fayolle, L., Pussard, M. (1998) Significance of earthworms in stimulating soil microbial activity. *Biol Fertil Soils* 27: 79-84.
- Butt, K.R. (1993) Utilization of solid paper mill sludge and spent brewery yeast as a feed for soil dwelling earthworms. *Bioresour Technol* 44: 105-107.
- Canellas L.P., Olivares F.L., Okorokova-Façanha A.L., Façanha A.R. (2002) Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.* 130, 1951-1957.
- Canellas, L.P., Santos, G.A. (2005) *Humosfera*: Tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. Campos dos Goytacazes-RJ.
- Canellas, L. P., Piccolo, A.; Dobbss, L. B.; Spaccini, R.; Olivares, F. L.; Zandonadi, D. B. ; Facanha, A. R. (2010). Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid. *Chemosphere (Oxford)*, v. 78, p. 457-466.
- Canellas, L.P., Dantas, D.J., Aguiar, N.O., Peres, L.E.P., Zsögön, A., Olivares, F.L., Dobbss, L.B., Façanha, A.R., Nebbioso, A., Piccolo, A. (2011) Probing the hormonal activity of fractionated molecular humic components in tomato auxin mutants. *Ann Appl Biol*, 159:202–211.
- Canellas, L.P., & Martínez Balmori, D., Médici, L.O., Aguiar, N.O., Campostrini, E., Rosa, R.C., Façanha, A., Olivares, F.L. (2013) A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). *Plant Soil* 366:119–132.
- Canellas, L.P. & Olivares, F.L. (2014) *Physiological responses to humic substances used as plant growth promoter*. Artigo Submetido.
- Carvalho, E. C. (2012) *Identificação Fenotípica e Molecular de Bactérias Patogênicas Associadas à Criação de Peixes Amazônicos*. Tese (Mestrado em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva) – Manaus – AM, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, 120p.
- Castro, A. C. (2003) *Dimensionamento piloto para um sistema de vermicompostagem*. Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias. 178 p.
- Chan, L.P.S., Griffiths, D.A. (1988) The vermicomposting of pretreated pig manure. *Biol Wastes* 24: 57-69.

- Chanway, C.P. (1997) Inoculation of tree roots with plant growth promoting soil bacteria: an emerging technology for reforestation. *Rev. Forest. Sci., Bethesda.*, 43:99-112.
- Conceição, P.M., Vieira, H.D., Canellas, L.P., Júnior, R.B.M., Olivares, F.L. (2008) Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. *Notas Científicas. Pesquisa Agropecuária Brasileira.*, 43.
- Conti, M., Arrigo, N., Marelli, H. (1997) Relationship of soil carbon light fraction, microbial activity, humic acid production and nitrogen fertilization in the decaying process of corn stubble. *Biol Fertil Soils.* 25:75–78.
- Danon, M., Franke-Whittle, I.H., Insam, H., Chen, Y., Hadar, Y. (2008) Molecular analysis of bacterial community succession during prolonged compost curing. *FEMS Microbial Ecol* 65: 133-144
- Daniel, O., Anderson, J.M. (1992) Microbial biomass and activity in contrasting soil material after passage through the gut of earthworm *Lumbricus rubellus* Hoffmeister. *Soil Biol Biochem* 24: 465-470.
- Devi, S.H., Vijayalakshmi, K., Pavana Jyotsna, K., Shaheen, S.K., Jyothi, K., Surekha Rani, M. (2009) Comparative assessment in enzyme activities and microbial populations during normal and vermicomposting. *Journal of Environmental Biology*, 30:1013-1017.
- Devliegher, W., Verstraete, W. (1995) *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) and their effect on microbial biomass and microbial activity. *Soil Biol Biochem* 27: 1573-1580.
- Devliegher, W., Verstraete, W. (1997) Microorganisms and soil physicochemical conditions in the drilosphere of *Lumbricus terrestris*. *Soil Biol Biochem* 29: 1721–1729.
- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M., Chauhan, S.M. (2004) Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research.*, 159:371-394.
- Dias, B.O., Silva, C.A., Higashikawa, F.S., Roig, A. & Sánchez-Monedero, M.A.(2010) Use of biochar as bulking agent for the composting of poultry manure: Effect on organic matter degradation and humification. *Biores. Technol.* 101:1239-1246.
- Dobbss, L.B., Canellas, L.P., Olivares, F.L., Aguiar, N.O., Peres, L.E.P., Azevedo, M., Spaccini, R., Piccolo, A., Façanha, A.R. (2010). Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on plant root growth. *J. Agric. Food Chem.* 58, 3681-3688.

- Döbereiner, J., Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. (1995) *Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas*. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 66.
- Döbereiner, J., Baldani, V.L.D., Reis, V.M. (1995) Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops In: Fendrik, I., Del Gallo, M.; Vanderleyden, J.; De Zamaroczy, M. (Ed.). *Azospirillum VI* and related microorganisms. Berlin: Springer-Verlag., 3 -14.
- Dominguez, J., Edwards, C.A., Webster, M. (2000) Vermicomposting of sewage sludge: effects of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*. *Pedobiologia* 44: 24-32.
- Edwards, C.A., Lofty, R. (1977) *The Biology of Earthworms*. Chapman and Hall, London.
- Edwards, C.A., Burrows, I., Fletcher, K.E., Jones, B.A. (1985) The use of earthworms for composting farm wastes. In: Gasser JKR (ed) *Composting Agricultural and Other Wastes*. Elsevier, London and New York, pp 229-241.
- Edwards, C.A., Fletcher, K.E. (1988) Interaction between earthworms and microorganisms in organic matter breakdown. *Agric Ecosyst Environ* 20: 235-249.
- Edwards, C.A., Bohlen, P.J. (1996) *Biology and Ecology of earthworms*, Chapman and Hall, London.
- Edwards, C.A. (1998) The use of earthworms in the breakdown and management of organic wastes. In: Edwards, C.A. (ed) *Earthworm Ecology*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 327-354.
- Edwards, C.A., Dominguez, J., Neuhauser, E.F. (1998) Growth and reproduction of *Perionyx excavatus* (Perr.) (Megascolecidae) as factors in organic waste management. *Biol Fertil Soils* 27: 155-161.
- Elmerich, C., Newton, W. E. (2007) *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations*, ed: Springer, 336p.
- Elvira, C., Dominguez, J., Sampedro, L., Mato, S. (1995) Vermicomposting for the pulp industry. *Biocycle* 36: 62-63.
- Elvira, C., Sampedro, L., Benítez, E., Nogales, R. (1998) Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: a pilot-scale study. *Bioresour Technol* 63: 205-211.
- Façanha, A. R., Façanha, A. L. O., Olivares, F. L., Guridi, F., Santos, G. A., Velloso, A. C. X., Rumjanek, V. M., Brasil, F.; Schripsema, J., Braz, R., Oliveira, M. A., Canellas, L. P. (2002) Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos

sobre o desenvolvimento radicular e sobre as bombas de prótons da membrana plasmática. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37: 1301-1310.

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

Fracchia, L., Dohrmann, A.B., Martinotti, M.G., Tebbe, C.C. (2006) Bacterial diversity in a finished compost and vermicompost: differences revealed by cultivation independent analyses of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Appl Microbiol Biotechnol* 71: 942-952.

Gajalakshmi.S., Ramasamy, E.V., Abbasi, S.A. (2001) Assessment of sustainable vermiconversion of water hyacinth at different reactor efficiencies employing *Eudrilus engeniae* Kinberg. *Bioresour Technol* 80: 131-135

Gajalakshmi, S., Ramasamy, E.V, Abbasi, S.A. (2002). Vermicomposting of paper waste with the anecic earthworm *Lampito mauritii* Kinberg. *Indian J. Chem Technol* 9: 306-311.

Gandhi, M., Sangwan, V., Kapoor, K.K., Dilbaghi, N. (1997) Composting of household wastes with and without earthworms. *Environ Ecol* 15: 432-434.

Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F. (1997) Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Commun Soil Sci Plant Anal* 28: 123–134.

Garg, P., Gupta, A., Satya, S. (2006) Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: a comparative study. *Bioresour Technol* 97: 391–395.

Gao, M., Li, B., Yu, A., Liang, F., Yang, L., Sun, Y., (2010). The effect of aeration rate on forced-aeration composting of chicken manure and sawdust. *Bioresource Technology*. 101, 1899–1903.

Ghosh, M., Chattopadhyay, G.N., Baral, K. (1999) Transformation of phosphorus during vermicomposting. *Bioresour Technol* 69: 149-154.

Giro, V.B. (2011) *Crescimento do abacaxizeiro 'vitória' em resposta à aplicação de vermicomposto, ácidos húmicos e bactérias promotoras de crescimento*. Tese de Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense-Darcy Ribeiro, 96p.

Gómez-Brandón, M., Lazcano, C., Domínguez, J., (2008). The evaluation of stability and maturity during the composting of cattle manure. *Chemosphere*. 70, 436-444.

Gunadi, B., Blount, C., Edward, C.A. (2002) The growth and fecundity of *Eisenia foetida* (Savigny) in cattle solids pre-composted for different periods. *Pedobiologia* 46: 15-23.

- Gunathilagraj, K., Ravignanam, T. (1996) Vermicomposting of sericulture wastes. *Madras Agric J*: 455-457.
- Gutierrez-Manero, F.J., Ramos, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Talon, M. (2001) The plant growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111:206-211.
- Harris, G.D., Platt, W.L., Price, B.C. (1990) Vermicomposting in a community. *Biocycle*, New York, 4(1):48-51.
- Hartenstein, R., Neuhauser, E.F., Kaplan, D.L. (1979) Reproductive potential of the earthworm *Eisenia foetida*. *Oecologia* 43: 329-340.
- Hassen, A., Belguith. K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A. (2001) Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresour Technol* 80: 217-225.
- Hungria, M. *Embrapa e UFPR desenvolvem primeiro inoculante para milho e trigo*:[http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2009/agosto/1a-semana/embrapa-e\\_ufpr-desenvolvem-primeiro-inoculante-para-milho-e-trigo-em-09/03/2012](http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2009/agosto/1a-semana/embrapa-e_ufpr-desenvolvem-primeiro-inoculante-para-milho-e-trigo-em-09/03/2012).
- Hungria, M., Andrade, D.S., Chueire, L.A.O., Probanza, A., Gutierrez-Manero, F.J., Megias, M. (2000) Isolation and characterization of new efficient competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. *Soil Biology & Biochemistry*, 32:515-528.
- Kale, R.D., Mallesh, B.C., Bano, K., Bagyaray, D.J. (1992) Influence of vermicompost application on the available macronutrients and selected microbial populations in paddy field. *Soil Biol Biochem* 24: 1317-1320.
- Kloepper, J.W., Quadt-Hallmann., Mahaffee, W.F., Hallmann, J. (1997) *Recent studies on the microbial ecology of bacterial endophytes in plants*. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 26, Rio de Janeiro, 1997. Resumos. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.
- Komilis, D.P., Ham, R.K. (2006). Carbon dioxide and ammonia emissions during composting of mixed paper, yard waste and food waste. *Waste Manag.* 26, 62–70.
- Kristufek, V., Ravasz, K., Pizl, V. (1993) Actinomycete communities in earthworm guts and surrounding soil. *Pedobiologia* 37: 379-384
- Kumar, R., Verma, D., Singh, B.L., Kumar, U., Shweta, (2010). Composting of sugarcane waste by-products through treatment with microorganisms and subsequent vermicomposting. *Bioresource Technology*. 101 (17), 6707–6711.

- Lazcano, C., Gomez-Brandon, M., Dominguez, J. (2008) Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. *Chemosphere* 72: 1013-1019.
- Landgraf, M. D., Alves, M. R., Silva S. C. E., Rezende, M. O. O. (1999) *Química Nova*, 22: 483.
- Lee, K.E. (1985) Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use. *Academic Press*, Sydney.
- Lee, S. (2004) Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strain with mutations in cytochrome c biogenesis genes. *Journal of Bacteriology*, 186:5384-5391.
- Leite, L. F. C., Araújo, A. S. F. (2007). *Ecologia Microbiana do Solo*. Embrapa Meio-Norte, Teresina, 24 p.
- Lehmann, T., Hoffmann, M., Hentrich, M., Pollmann, S. (2010) Indole-3-acetamide-dependent auxin biosynthesis: A widely distributed way of indole-3-acetic acid production? *European Journal of Cell Biology*, 89:895-905.
- Lima, A. S. (2013) *Ecologia Microbiana do Solo* Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias; curso de graduação em agronomia. Disciplina: Microbiologia e Bioquímica do Solo. Disponível em: <[www.ccta.ufcg.edu.br/admin.files.action](http://www.ccta.ufcg.edu.br/admin.files.action)>. Acesso em 20 de agosto de 2013.
- Lynch, J.P. (2007) Roots of the second green revolution. *Austral J Bot* 55: 493-512.
- Magalhães, F.M., Baldani, J.I., Souto, S.M., Kuyendall, J.R., Döbereiner, j. (1993) A. New Acid Tolerant *Azospirillum* especie na acad Brasil ciense 53(4):471-430.
- Marques-Júnior, R.B., Canellas, L.P., Silva, L.G., Olivares, F.L. (2008). Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32: 1121-1128.
- Marquez-Júnior, R.B., (2010) *Uso de ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas na produção do milho e cana-de-açúcar*. Tese de doutorado em Produção Vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense- Darcy Ribeiro.
- Marra, L.M., Soares, C.R.F.S., Oliveira, S.M., Ferreira, P.A.A. Soares, B.L., Carvalho, R.F., Lima, J.M., Moreira, F.M.S. (2012) Biological nitrogen fixation ADN phosphate solubilization by bacterial isolated from tropical soils. *Plant and Soil*, x:1-19.



- Martinez-Romero, E., Rosenblueth, M. (1990). Increases bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodulation competitiveness of genetically modified *Rhizobium* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 56:2384-2388.
- Martinez, A. A. (1991) Folder sobre minhocultura. Campinas: CAT. Danon M, Franke-Whittle IH, Insam H, Chen Y, Hadar Y (2008) Molecular analysis of bacterial community succession during prolonged compost curing. *FEMS Microbial Ecol* 65: 133-144.
- Martins, C. R. F., Ferreira, J. A. P. de S., Siqueira, L. F. de G., Ferreira, L. A. P., Bazzo, M. L., Franchini, M., Berro, O. J., Valle, S. (2001) *Técnica de Coloração de Gram*. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS.
- Massenssini, A. M.; Costa, M. D.; Reis, M. R.; Silva, A. A. (2008) Atividade de Isolados Bacterianos Solubilizadores de Fosfato na Presença de Formulações Comerciais de Glyphosate. *Planta Daninha*. Viçosa, n.4, 26:815- 823.
- Mitchell, M.J., Hornor, S.G., Abrams, B.I. (1980) Decomposition of sewage sludge in drying beds and the potential role of the earthworm, *Eisenia foetida*. *J Environ Qual* 9: 373-378.
- Moreira, F.M.S., Siqueira, J.O. (2ed.) (2006) *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: UFLA. 729p.
- Nardi, S., Carletti, P., Pizzeghello, D., Muscolo, A., (2009) Biological Activities of Humic Substances. In: *Biophysico-Chemical Processes Involving Natural Non Living Organic Matter in Environmental Systems*. Seni, N.; Xing, B.; Huang, P.M.(eds) Wiley, New Jersey, pp. 305-340.
- Ndegwa, P.M.; Thompson, S.A.; Das, K.C. (2000) Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. *Bioresource Technology*, v.71, p.5-12.
- Okon, Y., Vanderleyden, J. (1997) Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *The American Society For Microbiology News*, 63:366-370.
- Olivares, F.L., Reis, V.M., Facanha, A.R., Baldani, J.I., Baldani, V.L., Ferreira, F.P., Batista, Q.R., Barreto, B.R., Silva, L. G., Azevedo, I.G., Brasil, F. C., Rossiello, R.O.P., Miguens, F.C., James, E.K. (2001) The role of endophytic diazotrophs in sugarcane root morphogenesis and development. 13<sup>th</sup> International N<sub>2</sub> Fixation Congress, Nitrogen Fixation-Global Perspectives, 13, Hamilton: *Oxford CABI Publishing*, p. 471-471.
- Olivares, F.L., Ferreira F.P., Silva, L.G., Facanha, A.R., Ramos, A.C., Netto, A.T., Campostrini, E., Reis, V.M., Miguens, F.C. (2002) Physiological changes induced on the host plant during the endophytic interaction between sugar cane and diazotrophic bacteria. In: *9th international symposium on nitrogen*

*fixation with non-legumes, Leuven: Book of Abstracts of 9th International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes, p. 38-38.*

- Olivares, F.L. (2009) Bactéria promotora do crescimento vegetal. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa – MG, p.33-34.
- Orozco, F.H., Cegarra, J., Trujillo, L.M., Roig, A. (1996) Vermicomposting of coffee pulp 1 using the earthworm *Eisenia fetida*: effects on C and N contents and the availability of nutrients. *Biol Fertil Soils* 22: 162-166.
- Padmavathiamma, P. K., Li, L. Y., Kumari, U. R. (2008) An experimental study of vermi-biowaste composting for agricultural soil improvement. *Bioresource Technology*: 99, 1672–1681.
- Parle, J.N. (1963) A Microbiological Study of Earthworm Casts. *J gen Microbiol* 31: 13-22.
- Paul, E.A.; Clark, F.E. (1996) *Soil microbiology and biochemistry*. 2.ed. New York: Academic Press, 340p.
- Pedersen, J.C., Hendriksen, N.B. (1993) Effect of passage through the intestinal tract of detritivore earthworms (*Lumbricus* spp.) on the number of selected gram-negative and total bacteria. *Biol Fertil Soils* 16: 227-232.
- Perin, L. (2002) *Ecologia e diversidade de Gluconacetobacter diazotrophicus associada à cana-de-açúcar (Saccharum spp.)*. Dissertação de Mestrado. UFRRJ, Seropédica, RJ.
- Petersen, H., Luxton, M.A. (1982) A comparative analysis of soil fauna populations and their role in decomposition process. *Oikos* 39: 287-388.
- Pramanik, P., Gosh, G.K., Banik, P. (2009) Effect of microbial inoculation during vermicomposting of different organic substrates on microbial status and quantification and documentation of acid phosphatase. *Waste Management*, 29:574-578.
- Piccolo, A. (2012) The nature of soil organic matter and innovative soil management to fight global changes and maintain agricultural productivity. p.1-20. In: *Carbon sequestration in Agricultural soils. A multidisciplinary approach to innovative methods*. A. Piccolo (ed) Springer.
- Radwan, T.E.E., Mohanmed, Z.K., Reis, V.M. (2005) Aeração e adição de sais na produção de ácido indol acético por bactérias diazotróficas. *Pesq.Agropec.Bras.*, 40:997-1004.
- Reeh, U. (1992) Influence of population densities on growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei* on pig manure. *Soil Biol Biochem* 24: 1327-1331.

- Reis, R.J.A., Campos, S.A., Martins, G.S.L., Jesus, E.L., Bastiani, M.L.R., Campos, A.N.R.,(2012) Efeitos de Plantas de Cobertura nas Associações do Milho (*Zea Mays* L.) com Fungos Benéficos do Solo. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* (RBAS), Viçosa. v.2, n.2., p.75-80.
- Ricci, M.S.F., Casali, V.W., Cardoso, A.A., Ruiz, H.A. (1995) Teores de nutrientes em duas cultivares de alface adubadas com composto orgânico. *Pesq. Agropec. Bras.*30:1035-1039. doi: 10.1590/S0102-05362006000200004.
- Rodda, M.R.C. (2003)*Caracterização e Avaliação do uso Agrícola de Humatos de vermicompostos*. Tese de Magister Scientiae em Agronomia. Ciência do Solo. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Rodda, M. R. C., Canellas, L. P., Façanha, A. R., Zandonadi, D. B., Guerra, J. G. M., Almeida, D. L. De, Santos, G.A. (2006) Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração. *R. Bras. Ci. Solo*, 30: 649-656.
- Rodrigues, L.F.O.S., Guimarães, V.F., Silva M.B., Pinto Júnior, A.S., Klein, J., Costa, A.C.P.R. (2014) Características agrônômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Campina Grande, PB .v.18, n.1, p.31-37.
- Russo, A., Vettori, L. Felici. C., Fiaschi, G., Morini, S. Toffanin, A. (2008) Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on *Prunus cerasifera* L. clone Mr S 2/5 plants. *Journal of Biotechnology*, 134:312-319.
- Sánchez-Monedero, M.A., Serramiá, N., Civantos, C.G.O., Fernández-Hernández, A. & Roig, A. (2010) Greenhouse gas emissions during composting of two-phase olive Mill wastes with different agroindustrial by products. *Chemosphere*, 81:18-25.
- Sanchez, P.A. (2002) Ecology-Soil fertility and hunger in Africa. *Science*295:2019-2020.
- Santos, I. B., Lima, D. R. M., Barbosa, J. G., Oliveira, J. T.C., Freire, F.J., Kuklinsky-Sobral, J. (2012) Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-de-açúcar: Solubilização de fosfato inorgânico e tolerância a salinidade. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 28, Supplement 1, p. 142-149.
- Sarwar, M., Kremer, R.J. (1995) Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan-derived compounds by deleterious rhizobacteria. *Plant Soil*, 172:261-269.
- Sessistsch, A.; Weilharter, A.; Gerzabek, M. H.; Kirchmann, H.; Kandeler, E. (2001) Microbial Population Structures in Soil Particle Size Fractions of a Long

- Term Fertilizer Field Experiment. *Applied and Environmental Microbiology*, n. 9, 67:4215-4224.
- Sharma, S., Pradhan, K., Satya, S., Vasudevan, P. (2005) Potentiality of earthworms for waste management and in other uses – A Review. *The Journal of American Science* 1: 4-16.
- Sharpley, A.N., Syers, J.K. (1976) Potential role of earthworm casts for the phosphorous enrichment of runoff waters. *Soil Biol Biochem* 8: 341-346
- Shi-wei, Z., Fu-zhen, H. (1991) The nitrogen uptake efficiency from <sup>15</sup>N labeled chemical fertilizer in the presence of earthworm manure (cast). In: Veeresh GK, Rajagopal D, Viraktamath CA (eds) *Advances in Management and Conservation of Soil Fauna*, Oxford and IBH publishing Co., New Delhi, Bombay, pp 539-542.
- Silveira, A.P.D. da., Freitas, S.S. (2007) *Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental*. Instituto Agronômico de Campinas (SP).
- Singleton, D.R., Hendrix, P.F., Coleman, D.C., Whitman, W.B. (2003) Identification of uncultured bacteria tightly associated with the intestine of the earthworm *Lumbricus rubellus* (Lumbricidae; Oligochaeta). *Soil Biol Biochem* 35: 1547-1555.
- Singh, A., Sharma, S. (2002). Composting of a crop residue through treatment with micro-organisms and subsequent vermicomposting. *Bioresour. Technol.* 85, 107–111.
- Sinha, R.K., Heart, S., Agarwal, S., Asadi, R., Carretero, E. (2002) Vermiculture technology for environmental management: study of the action of the earthworms *Eisenia foetida*, *Eudrilus euginae* and *Perionyx excavatus* on biodegradation of some community wastes in India and Australia. *The Environmentalist* 22: 261-268.
- Siqueira, J. O ; Moreira, F. M. S. ; Lopes, A. S. (1999). Inter-relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição Mineral de plantas: base para um novo paradigma na agrotecnologia do século XXI. In: Siqueira, J. O; Moreira, F.M.S.; Lopes, A.S.; Guilherme, L.R.; Faquin, V.; Furtini Neto, A. E.; Carvalho, J.G. *Inter-relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Plantas*. Lavras: UFLA, v. , p. 1-10.
- Srivastava, P.K., Singh, P.C., Gupta, M., Sinha, A., Vaish, A., Shukla, A. Singh, N., Tewari, S.K. (2011) Influence of earthworm culture on fertilization potential and biological activities of vermicomposts prepared from different plant wastes. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174:420-429.
- Subler, S., Edwards, C.A., Metzger, P.J. (1998) Comparing vermicomposts and composts. *Biocycle* 39: 63-66

- Sze, H., Li, X., Palmgren, M.G. (1999) Energization of plant cell membranes by H<sup>+</sup> pumping ATPases: Regulation and biosynthesis. *Plant Cell* 11:677-689. doi: 10.1105/tpc.11.4.677
- Tajbakhsh, J., Abdoli, M.A., Mohammadi, Goltapeh, E., Alahdadi, I., Malakouti, M.J. (2008) Trend of physico chemical properties change in recycling spent mushroom compost through vermicomposting by epigeic earthworms *Eisenia foetida* and *E. andrei*. *J Agric Technol* 4: 185-198.
- Tauk, S.M. (1990) Biodegradação de resíduos orgânicos do solo. *Revista Brasileira de Geociência* 20(1-4):299-301.
- Tiwari, S.C., Tiwari, B.K., Mishra, R.R. (1989) Microbial populations, enzyme activities and nitrogen, phosphorous, potassium enrichment in earthworm casts and in the surrounding soil of pine apple plantation. *Biol Fertil Soils* 8: 178-182.
- Tiquia, S.M. (2005) Microbiological parameters as indicators of compost maturity. *J Appl Microbiol* 99: 816- 828
- Toyota, K., Kimura, M. (2000) Microbial community indigenous to the earthworm *Eisenia foetida*. *Biol Fertil Soils* 31: 187-190.
- Trautmann, N. & Krasny, M., (1997). Composting in the Classroom, Scientific Inquiry for High School Students. Ed. *Cornell University*.
- Trevors, J.T. (1984) Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biol Biochem* 16: 673-674
- Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., Neutrusov, A.I. (2005) Auxin production by bacteria associated with orchid roots. *Mikrobiologia*, 74:55-62.
- Vaz-Moreira, I., Maria, E. Silva, Célia M. Manaia, Olga C .Nunes (2008) Diversity of Bacterial Isolates from Commercial and Homemade Composts. *Microbial Ecol* 55: 714-722
- Verma, S.C., Ladha, J.K., Tripathi, A.K. (2001) Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol.*, 91:127-141.
- Vessey, J.K. (2003) Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil.*, 255:571-586.
- Vinceslas-Akpa, M., Loquet, M. (1997) Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (*Eisenia fetida Andrei*): Chemical Analysis and <sup>13</sup>C CPMAS NMR spectroscopy. *Soil Biology and Biochemistry*, 29:751-758.

- Vivas, A, Moreno B, Garcia-Rodriguez S, Benitez E (2009) Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and functional diversity of an olive-mill waste. *Bioresour Technol* 100: 1319-1326
- Walter, I., Martínez, F., Cala, V., (2006) Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environmental Pollution*. 139, 507-514.
- Warman, P.R., Anglopez, M.J. (2010) Vermicompost derived from different feedstocks as a plant growth medium. *Biores. Technol.* 101:4479–4483. doi:[10.1016/j.biortech.2010.01.098](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.098).
- Weber, B.O., Baldani, J.I., Döbereiner, J. (2000) Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.35, n.11, p.2277-2285.
- Wu, L., Ma, L.Q., Martinez, G.A. (2000) Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *J Environ Qual*. 29:424–429.
- Yasir, M., Aslam, Z., Kim, S.W., Lee, S-W., Jeon, C.O., Chung, Y.R. (2009) Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity. *Bioresource Technology*, 100:4396-4403.
- Zaller, J.G. (2007) Vermicompost in seedling potting media can affect germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties. *Eur J Soil Biol* 43: S332–S336.
- Zhang, B.G., Li, G.T., Shen, T.S., Wang, J.K., Sun, Z. (2000) Changes in microbial biomass C, N, and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia foetida*. *Soil Biol Biochem* 32: 2055-2062.
- Zucareli, C., Cil, I.R., Prete, C.E.C., Prando, A.M. (2011) Eficiência agrônômica da inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho. *Revista Agrarian*. Dourados, v.4, n.13, p.152-157.
- Zucconi, F., Monaco, A., Debertoldi, M. (1981) Biological evaluation of compost maturity. *Biocycle* 22:27–29.

## 7. APÊNDICES

Tabela 1. Análise química/física do material orgânico: Esterco Bovino e torta de Filtro

Resíduo	C	pH	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Ca	Mg	U
	----- g kg <sup>-1</sup> -----							%
Esterco Bovino	329	8,6	9,73	7,28	11,56	9,98	4,99	54,40
Torta de filtro	262	8,1	9,66	9,09	6,18	18,30	3,74	65,00

Conforme as recomendações Embrapa (2006) - Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ. Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O = fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável e; U= teor de umidade do resíduo.

Tabela 2. Análise química dos vermicompostos T30

T30																					
	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	S.B	T	t	m	V	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
	-- mg/dm <sup>3</sup> --		----- cmolc/dm <sup>3</sup> -----					%	g/dm <sup>3</sup>	---- cmolc/dm. <sup>3</sup> ----			-- % --	----- mg/dm <sup>3</sup> -----							
EBC1	7,2	1476	4278	9	12,8	0	1	2,53	5,58	96,2	35,3	36,3	35,3	0	97	8,5	1,3	44,8	187,2	482	0,47
EBC2	8,2	1558	4879	8,3	12,5	0	0,5	2,86	6,58	113,4	36,1	36,6	36,1	0	99	8,3	1	52,8	249,6	308	0,46
EBC3	7,1	1640	5781	11,2	15,6	0	0,3	2,87	6,24	107,6	44,5	44,8	44,5	0	99	10,5	1,1	44,8	219,2	250	0,59
TFC1	7,7	2142	1995	11,2	5,2	0	0,3	0,24	4,42	76,2	21,7	22	21,7	0	99	239,4	10	36,8	198,4	372	0,1
TFC2	7,8	2142	1995	11,9	4,9	0	0,2	0,22	4,84	83,4	22,1	22,3	22,1	0	99	186,6	9,3	36,8	187,2	374,7	0,08
TFC3	7,7	1836	1701	11,1	4,6	0	0,2	0,19	4,02	69,3	20,2	20,4	20,2	0	99	187,8	10,8	32	166,4	367,8	0,11

Conforme as recomendações Embrapa (2006): C = dicromatometria em meio ácido; P e K<sup>+</sup> = extrator Carolina do Norte; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> = extrator KCl 1mol L<sup>-1</sup> (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al<sup>3+</sup>; m= saturação de Al<sup>3+</sup> ; V= saturação por bases.



Tabela 3. Análise química dos vermicompostos T60.

T60																					
	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	S.B	T	t	m	V	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
	-- mg/dm <sup>3</sup> --			----- cmolc/dm <sup>3</sup> -----					%	g/dm <sup>3</sup>	---- cmolc/dm. <sup>3</sup> ----			-- % --		----- mg/dm <sup>3</sup> -----					
EBC1	6,3	2244	8296	17,9	17,9	0	5,7	3,57	11,8	203,4	60,6	66,3	60,6	0	91	6	0,7	46,8	207	601,6	0,1
EBC2	8	2142	7038	10,2	16	0	0,8	4,08	10,24	176,5	48,3	49,1	48,3	0	98	6	0,7	40,8	250	N	N
EBC3	7	2244	8601	15,3	19,6	0	3,2	4,08	11,8	203,4	61	64,2	61	0	95	6	1,1	45,6	336	N	N
TFC1	8,1	2244	3627	17	7,6	0	0,2	0,35	7,68	132,4	34,2	34,4	34,2	0	99	342	6	40,8	306	655,5	0,15
TFC2	8,1	2958	2550	18,3	7,2	0	0	0,24	8,13	140,2	32,3	32,3	32,3	0	100	315	5,7	46,8	312	574,7	0,14
TFC3	8,2	2958	3225	21,1	8,8	0	0	0,32	7,68	132,4	38,5	38,5	38,5	0	100	168	5	43,8	300	552,5	0,13

Conforme as recomendações Embrapa (2006): C = dicromatometria em meio ácido; P e K<sup>+</sup> = extrator Carolina do Norte; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> = extrator KCl 1mol L<sup>-1</sup> (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al<sup>3+</sup>; m= saturação de Al<sup>3+</sup> ; V= saturação por bases.

Tabela 4. Análise química dos vermicompostos T90.

T90	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	S.B	T	t	m	V	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
	-- mg/dm <sup>3</sup> --			----- cmolc/dm <sup>3</sup> -----					%	g/dm <sup>3</sup>	---- cmolc/dm. <sup>3</sup> ----			-- % --		----- mg/dm <sup>3</sup> -----					
EBC1	6,8	2214	8610	16,2	20	0	3,1	4,51	10,44	180	62,7	65,8	62,7	0	95	8	1,1	48,6	276	477,8	0,14
EBC2	7,4	2050	8200	13,1	19,6	0	1,8	4,92	11,16	192,4	58,6	60,4	58,6	0	97	7,5	1,1	42,6	264	477,8	0,24
EBC3	8,1	2142	8262	11,4	17,3	0	0,4	5,1	11,48	197,9	54,9	55,3	54,9	0	99	10,3	1,3	40,8	282	679,4	0,71
TFC1	8,4	2952	3209	17,6	7,6	0	0	0,36	7,92	136,5	33,8	33,8	33,8	0	100	200,4	5,1	37,4	126	493,2	0,2
TFC2	8,1	2624	1995	17,3	6,2	0	0	0,14	7,47	128,8	28,7	28,7	28,7	0	100	185,4	6,7	37,4	96	393,3	0,19
TFC3	8,1	2952	3158	21,8	8,6	0	0	0,29	8,13	140,2	38,8	38,8	38,8	0	100	156	5,4	41,8	126	960,4	0,10

Conforme as recomendações Embrapa (2006): C = dicromatometria em meio ácido; P e K<sup>+</sup> = extrator Carolina do Norte; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> = extrator KCl 1mol L<sup>-1</sup> (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al<sup>3+</sup>; m= saturação de Al<sup>3+</sup> ; V= saturação por bases.

Tabela 5. Análise química dos vermicompostos T120.

T120																					
	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	S.B	T	t	m	V	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
	-- mg/dm <sup>3</sup> --			----- cmolc/dm <sup>3</sup> -----					%	g/dm <sup>3</sup>	---- cmolc/dm. <sup>3</sup> ----			-- % --	----- mg/dm <sup>3</sup> -----						
EBC1	6,2	1734	10200	19,7	10,1	0	7,5	4,59	11,16	192,4	69,5	77	69,5	0	90	6,2	1,4	67,1	178,2	555,5	
EBC2	8,1	1632	7752	10,4	7,6	0	0,5	4,59	10,24	176,5	48,7	49,2	48,7	0	99	6,6	1,5	51,7	292,6	619,7	
EBC3	6,6	1836	10200	17,01	10,4	0	4,3	5,61	12,48	215,2	71,7	76	71,7	0	94	4,9	1,3	55	216,7	624,7	
TFC1	8,1	2040	4845	20,6	19,1	0	0,6	0,54	8,61	148,4	43,6	44,2	43,6	0	99	69,3	5,2	48,4	179,3	763,3	
TFC2	8,1	2142	3162	19,1	13,9	0	0,8	0,36	8,13	140,2	35,1	35,9	35,1	0	98	93,5	4,1	52,8	222,2	529	
TFC3	7,7	2040	4743	25,7	22,9	0	0,6	0,6	8,61	148,4	48,8	49,4	48,8	0	99	58,3	4,6	51,7	196,9	808,6	

Conforme as recomendações Embrapa (2006): C = dicromatometria em meio ácido; P e K<sup>+</sup> = extrator Carolina do Norte; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> = extrator KCl 1mol L<sup>-1</sup> (Análises feitas no Laboratório de Análise de Solos e Fertilizantes da UFRRJ, Campus Leonel Miranda. Campos dos Goytacazes, RJ). Onde: C= teor de carbono orgânico; pH= potencial hidrogeniônico em água; P e K= fósforo e potássio disponível; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>= cálcio e magnésio trocável; H+Al= acidez potencial; SB= soma de bases (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>3+</sup>); T= capacidade de troca de cátions= SB+(H+Al) ; t= capacidade efetiva de troca de cátions= SB+Al<sup>3+</sup>; m= saturação de Al<sup>3+</sup> ; V= saturação por bases.

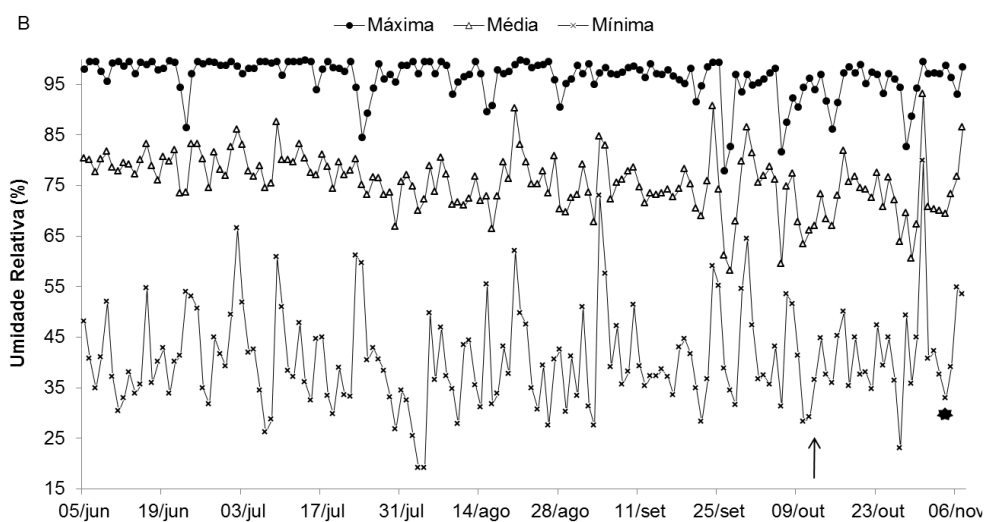


Figura 3. Variações na umidade relativa do ar durante o cultivo em casa de vegetação.

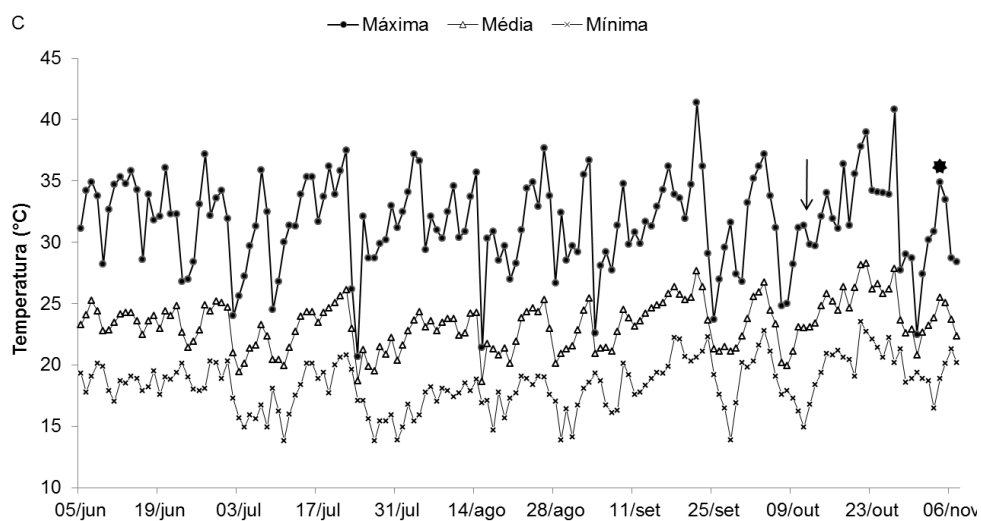


Figura 4. Variações de temperatura durante o cultivo em casa de vegetação.

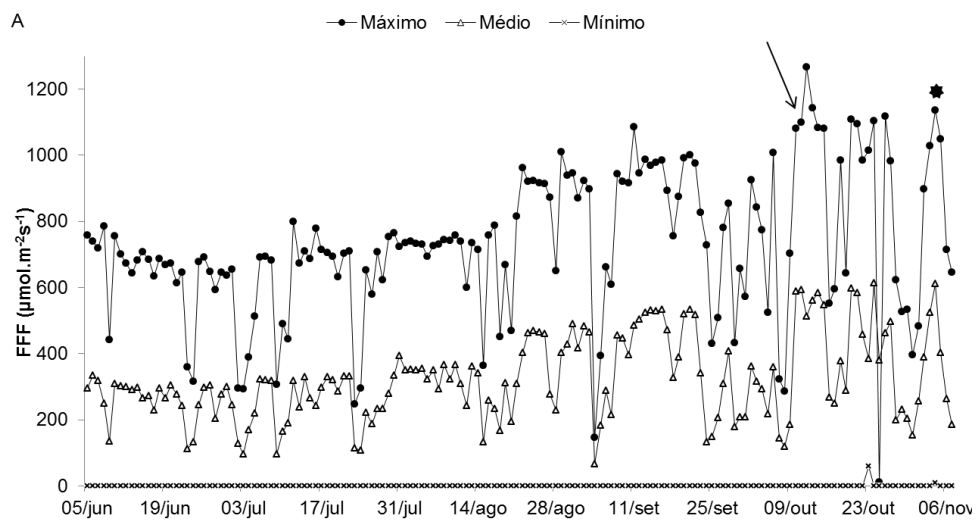


Figura 5. Fluxo de fótons fotossintético durante o cultivo em casa de vegetação.

Tabela 10. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias inoculadas na planta milho (T30)

Tratamento	MFPA (g planta <sup>-1</sup> )		MSPA(g planta <sup>-1</sup> )	
	SUBST. 1	SUBST.2	SUBST. 1	SUBST.2
CONTROLE	1.24 BCD	2.10 D	0.23 BCDEF	0.32 CD
9LGI-EB	1.89 EF	2.33 DE	0.33 EFG	0.31 CD
7LGI-EB	1.24 BCD	2.75 EFGHI	0.21 ABCDE	0.37 CD
5LGI-EB	0.74 ABC	2.81 EFGHI	0.13 ABC	0.34 CD
2LGI-TF	0.63 AB	1.35 C	0.11 AB	0.16 BC
7NFb-TF	1.84 DEF	0.65 B	0.31 EFG	0.08 AB
13NFb-EB	1.97 F	0.29 AB	0.38 FG	0.29 DE
14NB-EB	0.68 ABC	2.99 EFGHIJ	0.14 ABCD	0.38 DE
15NB-EB	0.84 ABC	2.81 EFGHI	0.11 AB	0.37 DE
3NB-TF	1.69 DEF	2.58 DEFGH	0.30 EFG	0.34 DE
12NB-TF	0.47 A	0.58 AB	0.06 A	0.07 AB
6NB-TF	1.29 CDE	0.00 A	0.23 BCDEF	0.00 A
14D-EB	0.76 ABC	2.46 DEF	0.13 ABC	0.34 DE
8LGI-TF	1.67 DEF	3.05 FGHIJ	0.29 DEFG	0.42 DE
4D-EB	1.81 DEF	3.06 FGHIJ	0.29 DEFG	0.34 DE
16NB-EB	2.07 F	2.51 DEFGH	0.38 FG	0.35 DE
8D-TF	1.63 DEF	3.48 J	0.27 CDEFG	0.48 E
1LGI-TF	1.88 DEF	3.54 J	0.34 EFG	0.41 DE
13LGI-TF	1.85 DEF	3.30 IJ	0.33 EFG	0.49 E
5NFb-EB	1.82 DEF	3.12 GHIJ	0.33 EFG	0.44 DE
9NB-TF	2.16 F	3.21 HIJ	0.39 G	0.42 DE

\* MFPA: Matéria fresca parte aérea; \* MSPA: Matéria seca parte aérea.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.

Tabela 11. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias inoculadas na planta milho (T30)

Tratamento	MFR (g planta <sup>-1</sup> )		MSR(g planta <sup>-1</sup> )	
	SUBST. 1	SUBST.2	SUBST. 1	SUBST.2
CONTROLE	2.79 BCD	3.96 C	0.29 B	0.38 C
9LGI-EB	3.08 BCDEF	4.57 CDEF	0.35 B	0.41 CD
7LGI-EB	2.71 BC	4.25 CD	0.33 B	0.41 CD
5LGI-EB	1.30 A	5.17 EFGH	0.11 A	0.45 CD
2LGI-TF	1.25 A	1.61 B	0.13 A	0.17 B
7NFb-TF	3.61 DEF	0.72 A	0.33 B	0.08 AB
13NFb-EB	3.86 F	0.77 AB	0.37 B	0.07 AB
14NB-EB	3.25 BCDEF	4.97 DEFG	0.32 B	0.42 CD
15NB-EB	1.00 A	4.53 CDEF	0.12 A	0.42 CD
3NB-TF	2.95 BCDE	4.36 CDE	0.31 B	0.37 C
12NB-TF	1.20 A	0.13 A	0.13 A	0.08 AB
6NB-TF	2.52 B	0.00 A	0.30 B	0.00 A
14D-EB	1.18 A	4.33 CDE	0.17 A	0.38 C
8LGI-TF	3.05 BCDEF	5.49 GHI	0.34 B	0.55 EFG
4D-EB	3.34 BCDEF	5.40 FGHI	0.32 B	0.45 CDE
16NB-EB	3.57 CDEF	5.32 FGH	0.31 B	0.43 CD
8D-TF	3.66 DEF	6.02 HI	0.33 B	0.50 DEFG
1LGI-TF	3.69 EF	5.37 FGHI	0.37 B	0.55 EFG
13LGI-TF	3.49 CDEF	6.22 I	0.36 B	0.56 FG
5NFb-EB	3.76 EF	5.75 GHI	0.34 B	0.47 CDEF
9NB-TF	3.52 CDEF	6.05 HI	0.36 B	0.60 G

\* MFR: Matéria fresca raiz; \* MSR: Matéria seca raiz.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.

Tabela 12. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias inoculadas na planta milho (T30)

Tratamento	Volume Raiz	
	SUBST 1	SUBST 2
CONTROLE	3.83 B	6.00 C
9LGI-EB	4.31 BC	7.43 DE
7LGI-EB	4.90 BCDE	8.31 EFG
5LGI-EB	2.37 A	8.93 FGH
2LGI-TF	1.62 A	2.06 B
7NFb-TF	5.25 CDEF	1.12 AB
13NFb-EB	6.05 EF	1.00 AB
14NB-EB	5.37 CDEF	7.87 EF
15NB-EB	1.75 A	6.31 CD
3NB-TF	4.25 BC	5.68 C
12NB-TF	1.62 A	1.12 AB
6NB-TF	4.50 BCD	0.00 A
14D-EB	1.62 A	6.27 CD
8LGI-TF	5.25 CDEF	9.43 GHI
4D-EB	4.37 BC	6.25 CD
16NB-EB	5.75 DEF	8.43 EFG
8D-TF	5.00 BCDE	9.81 HI
1LGI-TF	5.61 CDEF	8.75 EFGH
13LGI-TF	6.03 EF	11.43 J
5NFb-EB	6.12 EF	10.50 IJ
9NB-TF	6.47 F	9.81 HI

\*VOL: Volume raiz.

\* SUBST1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.



Tabela 13. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias inoculadas na planta milho (T60).

TRATAMENTO	MFPA (g planta <sup>-1</sup> )		MSPA (g planta <sup>-1</sup> )	
	SUBST 1	SUBST 2	SUBST 1	SUBST 2
CONTROL	2.77 DEF	3.05 D	0.28 ABC	0.34 ABC
5 LGI-EB	2.89 FG	3.29 E	0.33 CDEF	0.33 ABC
6 LGI-EB	3.28 IJ	2.88 CD	0.32 CDEF	0.42 DE
4 NFb-EB	2.88 FG	3.44 E	0.34 DEF	0.43 DEF
6 NFb-TF	2.34 A	3.02 D	0.31 BCDE	0.32 AB
8 NFb-TF	2.84 EFG	2.98 D	0.28 ABCD	0.39 CD
5 NB-TF	2.49 AB	2.92 D	0.28 ABC	0.33 ABC
12 NB-TF	2.49 ABC	2.72 BC	0.26 AB	0.34 BC
13 NB-EB	2.72 DEF	2.98 D	0.25 AB	0.33 ABC
14 NB-EB	2.65 BCD	2.68 AB	0.29 ABCD	0.34 BC
4 D-EB	2.34 A	2.57 AB	0.32 CDEF	0,33ABC
19 D-TF	2.52 ABC	2.52 A	0.23 A	0.28 A
5 NFb-TF	3.26 IJ	2.55 AB	0.38 FG	0.44 DEF
4 LGI-EB	3.03 GH	3.82 F	0.32 CDEF	0.45 EFG
1 LGI-EB	3.66 L	3.83 F	0.37 FG	0.48 FGH
8 D-EB	2.68 CDE	3.98 FG	0.29 ABCD	0.51 GH
12 NFb-TF	3.38 JK	2.98 D	0.40 G	0.33 ABC
22 D-TF	3.53 KL	3.94 FG	0.37 EFG	0.47 EFG
11 LGI-TF	3.99 M	4.10 GH	0.38 FG	0.51 GH
3 NB-TF	3.54 KL	4.18 H	0.41 G	0.53 H
18 NB-EB	3.19 HI	3.95 FG	0.38 FG	0,48FGH

\* MFPA: Matéria fresca parte aérea; \* MSPA: Matéria seca parte aérea.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.

Tabela 14. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias inoculadas na planta milho (T60)

TRATAMENTO	MFR (g planta <sup>-1</sup> )		MSR (g planta <sup>-1</sup> )	
	SUBST 1	SUBST 2	SUBST 1	SUBST 2
CONTROL	2.93 BC	3.41 C	0.32 BC	0.38 C
5 LGI-EB	3.13 DE	4.08 G	0.32 BC	0.33 A
6 LGI-EB	3.12 DE	3.75 DE	0.31 BC	0.33 A
4 NFb-EB	3.07 CD	3.14 A	0.30 B	0.38 C
6 NFb-TF	3.27 E	3.67 D	0.31 BC	0.36 ABC
8 NFb-TF	2.93 BC	3.11 A	0.30 AB	0.36 ABC
5 NB-TF	3.14 DE	3.33 BC	0.34 C	0.34 A
12 NB-TF	4.32 J	3.39 C	0.38 D	0.35 ABC
13 NB-EB	3.54 F	3.89 EF	0.32 BC	0.38 C
14 NB-EB	2.77 AB	4.12 GH	0.31 BC	0.34 AB
4 D-EB	2.72 A	4.03 FG	0.32 BC	0.38 C
19 D-TF	2.72 A	3.21 AB	0.27 A	0.33 A
5 NFb-TF	4.23 IJ	4.21 GH	0.41 DEF	0.45 D
4 LGI-EB	3.26 E	5.07 I	0.30 AB	0.47 DE
1 LGI-EB	3.60 F	4.92 I	0.38 D	0.48 EFG
8 D-EB	4.37 JK	5.28 J	0.42 EF	0.50 FG
12 NFb-TF	4.12 HI	4.30 H	0.40 DE	0.37 BC
22 D-TF	4.69 L	5.09 I	0.40 DE	0.48 EFG
11 LGI-TF	4.01 GH	5.04 I	0.43 E	0.49 EFG
3 NB-TF	4.55 KL	4.94 I	0.44 E	0.51 G
18 NB-EB	3.90 G	4.97 I	0.41 DEF	0.47 DEF

\* MFR: Matéria fresca raiz; \* MSR: Matéria seca raiz; VOL: Volume raiz.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.

Tabela 15. Médias obtidas para tratamentos e variáveis relativas ao efeito das bactérias inoculadas na planta milho (T60)

Tratamento	Volume Raiz	
	SUBST 1	SUBST 2
CONTROLE	4.36 BCD	6.18 CD
5 LGI-EB	4.75 DEF	7.62 G
6 LGI-EB	4.81 EF	8.25 H
4 NFb-EB	4.18 BC	4.75 A
6 NFb-TF	3.93 B	5.68 B
8 NFb-TF	4.62 CDEF	6.43 DE
5 NB-TF	5.06 FG	5.77 BC
12 NB-TF	4.50 CDE	7.06 F
13 NB-EB	4.75 DEF	6.50 DE
14 NB-EB	4.00 B	5.75 BC
4 D-EB	4.62 CDEF	6.62 DEF
19 D-TF	5.06 FG	6.75 EF
5 NFb-TF	5.68 H	6.18 CD
4 LGI-EB	3.43 A	9.25 I
1 LGI-EB	6.62 IJ	8.12 H
8 D-EB	6.81 JK	10.93 K
12 NFb-TF	6.75 IJK	6.31 DE
22 D-TF	6.62 IJ	9.93 J
11 LGI-TF	6.33 I	9.25 I
3 NB-TF	7.12 K	9.75 J
18 NB-EB	5.28 GH	9.68 IJ

\* Volume raiz.

\* SUBST 1: Argissolo Amarelo + Areia; \* SUBST 2: Argissolo Amarelo + Areia + Vermicomposto  
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste T student (LSD) em 5% de probabilidade.