

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Estratégias de aplicação de substâncias húmicas na ecofisiologia e mitigação  
do estresse hídrico em plantas de milho**

Welber Melo da Silva  
*Doctor Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2023**

**WELBER MELO DA SILVA**

**Estratégias de aplicação de substâncias húmicas na ecofisiologia e mitigação do estresse hídrico em plantas de milho**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Joao Carlos Cardoso Galvao

Coorientador: Orismário Lúcio Rodrigues

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586e  
2023  
Silva, Welber Melo da, 1990-  
Estratégias de aplicação de substâncias húmicas na  
ecofisiologia e mitigação do estresse hídrico em plantas de milho  
/ Welber Melo da Silva. – Viçosa, MG, 2023.  
1 tese eletrônica (76 f.): il.

Orientador: João Carlos Cardoso Galvão.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Agronomia, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.367>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Milho - Resistência à seca. 2. Húmus. 3. Milho -  
Crescimento. I. Galvão, João Carlos Cardoso, 1962-.  
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.  
III. Título.

CDD 22. ed. 633.1586

**WELBER MELO DA SILVA**

**Estratégias de aplicação de substâncias húmicas na ecofisiologia e mitigação do estresse hídrico em plantas de milho**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 26 de setembro de 2023.

Assentimento:

---

Welber Melo da Silva  
Autor

---

Joao Carlos Cardoso Galvao  
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pelo autor em 15/09/2025 às 17:20:34 e pelo orientador em 15/09/2025 às 19:35:34. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **3WY3.96EP.A75S** e clique no botão 'Validar documento'.

À minha mãe, maior personificação do amor que conheci nessa vida, cuja energia se transformou em cuidado desde os meus primeiros passos até os recentes fatos que me permitiram trilhar este caminho!

Ao meu pai, sem o qual minha estrutura estaria incompleta, que com amor e complacência me foi exemplo na vida e amparo nas adversidades.

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, primeiramente, pelo direcionamento nas escolhas e por nunca ter me abandonado, especialmente em meio às tempestades mais difíceis, nunca me permitindo desistir.

Aos meus amados pais, pelo amor e cuidado me dado desde os pilares da minha educação e que, mesmo em meio às limitações que encontraram ao longo do caminho, nunca deixaram de realizar o “impossível” pelo meu bem estar.

Ao meu irmão, que mesmo fisicamente longe se fez presente na minha vida, sendo uma fonte de apoio que me motivou a continuar.

Ao PPGFIT e à UFV, pelo acolhimento, incentivo e apoio ao longo do curso.

À FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais, pelo financiamento do meu trabalho.

Ao orientador João Carlos Galvão, exemplo de professor e pessoa, pela compreensão, apoio, auxílio sem medida e por ter sido um dos melhores orientadores que encontrei ao longo da minha trajetória acadêmica.

Ao co-orientador Orismário Rodrigues, pela orientação e contribuições ao longo da construção desse trabalho.

Aos amigos de Viçosa, especialmente Matheus e Luíza, que foram como uma família durante todo o andamento do meu curso de doutorado.

E a todos que contribuíram indiretamente, de diferentes e significantes formas, para a concretização deste sonho.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## RESUMO

SILVA, Welber Melo da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2023. **Estratégias de aplicação de substâncias húmicas na ecofisiologia e mitigação do estresse hídrico em plantas de milho.** Orientador: Joao Carlos Cardoso Galvao. Coorientador: Orismário Lúcio Rodrigues.

O presente trabalho busca investigar os efeitos das substâncias húmicas (SH) no crescimento, metabolismo e tolerância ao estresse hídrico do milho, quando aplicadas na semeadura e via pulverização foliar, com ou sem micronutrientes. As SH são compostos derivados da decomposição da matéria orgânica do solo e desempenham papéis muito importantes nos cultivos agrícolas, contendo propriedades químicas e biológicas que favorecem a fertilidade, o desenvolvimento radicular, a absorção de nutrientes e a tolerância a estresses ambientais. Este estudo foi impulsionado pela investigação sobre os efeitos e modo de aplicação mais eficiente dessas substâncias, particularmente em condições de deficiência hídrica.

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa - UFV (Viçosa-MG), desenvolvidos em vasos contendo uma planta de milho como parcela, a condução se fez em delineamento experimental do tipo blocos ao acaso em arranjo fatorial (2x4) com seis repetições. Os fatores testados incluíram a utilização de SH (aplicação ou não) na semeadura e quatro pulverizações foliares (com SH, com micronutrientes, com ambos, e controle com água deionizada). Foram avaliadas variáveis morfológicas da parte aérea e radicular, indicadores fisiológicos (como índice SPAD, assimilação de CO<sub>2</sub>, transpiração) e bioquímicos (como carboidratos solúveis, açúcares redutores e proteínas). Em relação à deficiência hídrica, executou-se restrição de água no solo (90% e 50% da capacidade de campo - CC) aplicando-se SH (na semeadura, em pulverização foliar, na semeadura e em pulverização foliar), tomando a aplicação de água deionizada como controle.

Os resultados indicam que a aplicação de SH na semeadura promove aumento significativo na altura das plantas, massa da matéria seca das folhas e colmos, índice SPAD, comprimento radicular, número de raízes laterais e massa radicular, sem efeitos negativos observados. A pulverização foliar com SH também pode ser um manejo eficiente, neste estudo observou-se incrementos em variáveis como massa da matéria seca de folhas e índice SPAD, além de maiores taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> e variáveis bioquímicas. Contudo, a aplicação conjunta de SH e micronutrientes por via foliar apresentou eficiência reduzida, possivelmente por antagonismos nas interações químicas entre os

compostos. Em situações adversas de disponibilidade de água no solo, as SH mitigam os prejuízos acometidos às plantas, promovendo variações menos drásticas na maioria das variáveis de trocas gasosas e bioquímicas, principalmente quando aplicadas na semeadura e em pulverização foliar.

Portanto, destaca-se que o uso de substâncias húmicas, especialmente na semeadura, promove maior crescimento radicular, por outro lado, sua aplicação por vias foliares mostra-se favorável ao processo fotossintético, assim como a aplicação combinada nas duas situações estimula melhor tolerância ao déficit hídrico de plantas de milho. Assim, o uso estratégico de SH mostra-se promissor como bioestimulante, sendo sugerida a continuidade de estudos para explorar seu potencial sob diferentes condições ambientais e sistemas de cultivo.

Palavras-chave: bioestimulante; crescimento radicular; trocas gasosas; estresse hídrico; *Zea mays*

## ABSTRACT

SILVA, Welber Melo da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2023. **Strategies for application of humic substances in ecophysiology and mitigation of water stress in maize plants.** Adviser: Joao Carlos Cardoso Galvao. Co-adviser: Orismário Lúcio Rodrigues.

This study aimed to investigate the effects of humic substances (HS) on the growth, metabolism, and drought stress tolerance of maize (*Zea mays* L.) when applied at sowing and via foliar spraying, with or without micronutrients.

Humic substances are organic compounds derived from the decomposition of soil organic matter and play critical roles in agricultural systems. They possess chemical and biological properties that enhance soil fertility, root development, nutrient uptake, and plant tolerance to environmental stresses. This research was motivated by the need to elucidate both the effects and the most efficient application methods of these substances, particularly under conditions of water deficit.

The experiments were conducted in a greenhouse at the Federal University of Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brazil. The experimental design was a randomized complete block, arranged in a factorial scheme ( $2 \times 4$ ) with six replications, using pots with one maize plant per experimental unit. The tested factors included the application of HS (applied or not) at sowing and four foliar spray treatments: HS alone, micronutrients alone, HS combined with micronutrients, and a control with deionized water. Evaluated variables included shoot and root morphological parameters, physiological indicators (SPAD index, CO<sub>2</sub> assimilation, transpiration), and biochemical markers (soluble carbohydrates, reducing sugars, and proteins). To assess the effects under water deficit, soil moisture was restricted to 90% and 50% of field capacity (FC), with HS applied at sowing, via foliar spraying, or both, using deionized water as the control.

The results demonstrated that HS application at sowing significantly increased plant height, leaf and stem dry biomass, SPAD index, root length, number of lateral roots, and root biomass, without any observed negative effects. Foliar application of HS also proved to be an effective management practice, promoting increases in leaf dry biomass, SPAD index, CO<sub>2</sub> assimilation rates, and improvements in biochemical parameters. However, the combined foliar application of HS and micronutrients showed reduced efficacy, possibly due to antagonistic interactions between the compounds. Under reduced soil water availability, HS mitigated the detrimental effects of drought stress, leading

to less pronounced variations in gas exchange and biochemical parameters, particularly when applied both at sowing and via foliar spraying.

In conclusion, the use of humic substances, especially when applied at sowing, promotes enhanced root growth, while foliar application supports improved photosynthetic activity. Combined application further enhances maize tolerance to water deficit. These findings highlight the potential of HS as promising biostimulants, underscoring the need for further research to explore their efficacy under diverse environmental conditions and cropping systems.

Keywords: biostimulant; root growth; gas exchange; water stress; Zea mays

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>12</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>15</b>
<b>SUBSTÂNCIAS HÚMICAS APLICADAS NA SEMEADURA E EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR INDUZEM O CRESCIMENTO DO MILHO</b>	<b>17</b>
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 INTRODUÇÃO	19
2 MATERIAL E MÉTODOS	20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1 Crescimento da parte aérea do milho	25
3.2 Crescimento radicular do milho	27
4 CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	31
<b>SUBSTÂNCIAS HÚMICAS APLICADAS NA SEMEADURA E EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR INDUZEM BENEFÍCIOS NO METABOLISMO DO MILHO</b>	<b>35</b>
RESUMO	35
ABSTRACT	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	38
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1 Variáveis ecofisiológicas	43
3.2 Variáveis bioquímicas	46
4 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51
<b>SUBSTÂNCIAS HÚMICAS APLICADAS NA SEMEADURA E EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR MELHORAM A TOLERÂNCIA DO MILHO AO DÉFICIT HÍDRICO</b>	<b>55</b>
RESUMO	55
ABSTRACT	56
1 INTRODUÇÃO	57
2 MATERIAL E MÉTODOS	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.1 Variáveis ecofisiológicas	63
3.2 Variáveis bioquímicas	68
3.2 Variáveis bioquímicas	69
4 CONCLUSÕES	71
4 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b>	<b>76</b>

## RESUMO GERAL

O presente trabalho busca investigar os efeitos das substâncias húmicas (SH) no crescimento, metabolismo e tolerância ao estresse hídrico do milho, quando aplicadas na sementeira e via pulverização foliar, com ou sem micronutrientes.

As SH são compostos derivados da decomposição da matéria orgânica do solo e desempenham papéis muito importantes nos cultivos agrícolas, contendo propriedades químicas e biológicas que favorecem a fertilidade, o desenvolvimento radicular, a absorção de nutrientes e a tolerância a estresses ambientais. Este estudo foi impulsionado pela investigação sobre os efeitos e modo de aplicação mais eficiente dessas substâncias, particularmente em condições de deficiência hídrica.

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa - UFV (Viçosa-MG), desenvolvidos em vasos contendo uma planta de milho como parcela, a condução se fez em delineamento experimental do tipo blocos ao acaso em arranjo fatorial (2x4) com seis repetições. Os fatores testados incluíram a utilização de SH (aplicação ou não) na sementeira e quatro pulverizações foliares (com SH, com micronutrientes, com ambos, e controle com água deionizada). Foram avaliadas variáveis morfológicas da parte aérea e radicular, indicadores fisiológicos (como índice SPAD, assimilação de CO<sub>2</sub>, transpiração) e bioquímicos (como carboidratos solúveis, açúcares redutores e proteínas). Em relação à deficiência hídrica, executou-se restrição de água no solo (90% e 50% da capacidade de campo - CC) aplicando-se SH (na sementeira, em pulverização foliar, na sementeira e em pulverização foliar), tomando a aplicação de água deionizada como controle.

Os resultados indicam que a aplicação de SH na sementeira promove aumento significativo na altura das plantas, massa da matéria seca das folhas e colmos, índice SPAD, comprimento radicular, número de raízes laterais e massa radicular, sem efeitos negativos observados. A pulverização foliar com SH também pode ser um manejo eficiente, neste estudo observou-se incrementos em variáveis como massa da matéria seca de folhas e índice SPAD, além de maiores taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> e variáveis bioquímicas. Contudo, a aplicação conjunta de SH e micronutrientes por via foliar apresentou eficiência reduzida, possivelmente por antagonismos nas interações químicas entre os compostos. Em situações adversas de disponibilidade de água no solo, as SH mitigam os prejuízos acometidos às plantas, promovendo variações menos drásticas na maioria das variáveis de trocas gasosas e bioquímicas, principalmente quando aplicadas na sementeira e em pulverização foliar.

Portanto, destaca-se que o uso de substâncias húmicas, especialmente na semeadura, promove maior crescimento radicular, por outro lado, sua aplicação por vias foliares mostra-se favorável ao processo fotossintético, assim como a aplicação combinada nas duas situações estimula melhor tolerância ao déficit hídrico de plantas de milho. Assim, o uso estratégico de SH mostra-se promissor como bioestimulante, sendo sugerida a continuidade de estudos para explorar seu potencial sob diferentes condições ambientais e sistemas de cultivo.

## INTRODUÇÃO GERAL

A matéria orgânica do solo divide-se em três frações: matéria orgânica complexa ou pouco decomposta no solo, biomoléculas em processo intermediário de decomposição com alguma identidade bioquímica, e a terceira fração, a mais decomposta de todas, são as substâncias húmicas (SH) ou húmus (CANELLAS et al., 2001). O húmus define-se, portanto, como a porção de matéria orgânica em estágio avançado de decomposição, resultando em uma substância rica em carbono estável e nutrientes. A humificação da matéria orgânica é o processo em que compostos complexos são decompostos em moléculas mais simples e estáveis, durante o qual os resíduos orgânicos depositados no solo são decompostos via reações enzimáticas mediadas pela microbiota decompositora. Essas enzimas quebram as moléculas complexas da matéria orgânica em substâncias menores, como açúcares e ácidos orgânicos simples (BRADY; WEIL, 2013).

Os compostos orgânicos resultantes da decomposição são então transformados em substâncias mais estáveis, por meio de processos de condensação e polimerização. Essas reações químicas resultam na formação de compostos com alto teor de carbono estável, conhecidos como ácidos húmicos e fúlvicos, que compõem a fração húmus do solo. Essas duas frações são as responsáveis, em maior parte, pela movimentação de cátions no solo, troca de nutrientes com o sistema radicular das plantas, remediação de elementos traço nas camadas superficiais etc. (ROSA et al., 2017).

Devido a isso, nas últimas décadas, o emprego de materiais derivados de húmus do solo tem sido bastante explorado nas várias cadeias produtivas agrícolas, assim, produtos e resíduos contendo SH são aplicados no solo ou nas plantas, seja por meio de aplicação na semeadura ou pulverização foliar, atuando como bioestimulantes, ou seja, estimulam processos metabólicos nas plantas, promovendo seu desenvolvimento como um todo (JARDIN, 2015). Essa estratégia tem se mostrado bastante eficiente no contexto agrícola atual, especialmente em virtude das mudanças climáticas globais, cada vez mais atuantes sobre o processo produtivo, constituindo-se como alternativa para a amenização de tais efeitos.

Esses impactos afetam tanto a produção de alimentos quanto a sustentabilidade das lavouras, e podem exercer alteração principalmente quanto à mudança nos padrões de regimes pluviométricos. O aquecimento global tem acentuado alterações no regime pluviométrico, desencadeando veranicos, secas prolongadas ou transbordamentos de rios. Secas prolongadas podem reduzir a disponibilidade de água para irrigação e afetar diretamente a produção de

culturas, por outro lado, chuvas intensas e enchentes podem causar erosão do solo, perdas de nutrientes e danos às plantas (MARENGO et al, 2009).

Diversos trabalhos discutem a importância das SH na atividade agrícola, como na eficiência da aplicação de herbicidas (FOLONI; SOUZA, 2010), na utilização para fins de fitorremediação de solos (BANDIERA et al., 2009), e na mitigação dos efeitos perniciosos de estresses oxidativos sobre as plantas, ocasionados por estresses salino e hídrico (GARCIA et al., 2012; BATISTA et al., 2012; GARCIA et al., 2014). Adicionalmente, as SH têm o potencial de melhorar a expressão de diversos genes integrantes do metabolismo primário das plantas, como alguns responsáveis pela quantidade e atividade de aquaporinas, e outros grupos de genes que controlam enzimas antioxidantes envolvidas na redução dos efeitos adversos da peroxidação lipídica em membranas de células vegetais (GARCIA et al., 2012, 2014).

No entanto, apesar dos inúmeros efeitos benéficos obtidos pelo emprego de SH nos cultivos agrícolas, essa temática ainda carece de estudos investigativos que determinem a constituição desses compostos, métodos e concentrações ideais de aplicação e, sobretudo, que definam uma padronização necessária para a avaliação desses produtos no processo de comercialização (BALDOTTO et al., 2014).

De igual importância, a nutrição mineral de plantas com enfoque em micronutrientes é outro importante campo de investigação científica, no qual os resultados experimentais apontam respostas bastante diversas. Os micronutrientes são elementos exigidos em baixas concentrações nos tecidos vegetais, e os efeitos ocasionados por esse tipo de deficiência incluem desde o comprometimento do desenvolvimento à redução da produtividade das espécies vegetais (RAIJ, 2011). Embora o fornecimento de micronutrientes pós-plantio geralmente não resulte em alterações significativas de produtividade, seu suprimento tem demonstrado influência sobre o vigor, tolerância às pragas e doenças, e qualidade produtiva (PROCHNOW et al., 2010).

Nesse contexto, a maioria dos estudos busca tão somente avaliar os efeitos isolados das SH na produção das culturas, sem verificar interações resultantes de sua aplicação com outros produtos minerais. Adicionalmente, em sua maior parte os trabalhos envolvem a aplicação de SH na semeadura, sendo os dados sobre aplicação dessas substâncias via pulverização foliar bastante restritos. Tendo como base a atividade de complexação mineral das SH e sua natureza bioquímica apresentando quantidades apreciáveis de micronutrientes, é de interesse agrônomo comparar o efeito de tais substâncias com o suprimento de micronutrientes via foliar.

Sendo assim, objetivou-se neste trabalho avaliar a aplicação de SH, na semeadura e pulverização foliar, sobre o metabolismo e a morfofisiologia de plantas de milho, comparando-a à aplicação de micronutrientes via foliar, a fim de compreender o efeito dessas substâncias sobre os aspectos de crescimento, desenvolvimento, e tolerância a estresse hídrico.

## REFERÊNCIAS

- BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, v. 61, Suplemento, p. 856-881, 2014.
- BANDIERA, M. et al. Humic acids affect root characteristics of fodder radish (*Raphanus sativus* L. var. oleiformis Pers.) in metal-polluted wastes. **Desalination**, v. 246, p. 78-91, 2009.
- BATISTA, L. R. L. et al. Efeito do ácido húmico no desenvolvimento da cultura da alface (*Lactuca sativa*) irrigada com diferentes níveis de salinidade. In: CONNEPI – Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação, 7, Palmas, 2012. **Anais [...]** Palmas: IFTO, 2012. p.1-7.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Matéria orgânica do solo**. In: Elementos da natureza e propriedades dos solos. 3. ed. São Paulo: Bookman, 2013, cap. 11.
- CANELLAS, L. P. et al. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, 2001.
- CARON, V. C.; GRAÇAS, J. P.; CASTRO, P. R. C. **Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, Série Produtor Rural, nº 58, 2015. 46 p.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamento de safras - Fevereiro de 2023**: Sexto levantamento, março 2023 – safra 2022/2023. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2023.
- FOLONI, L. L.; SOUZA, E. L. C. Avaliação do uso de ácido húmico na redução do uso de herbicidas pré-emergentes na cana planta. In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 27, Ribeirão Preto, 2010. **Anais [...]** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Plantas Daninhas, 2010. p. 2056-2060.
- GARCIA, A. C. et al. Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.) **Journal of Geochemical Exploration**, v. 136, p. 48-54, 2014.
- GARCIA, A. C. et al. Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. **Ecological Engineering**, v. 47, p. 203-208, 2012.
- GRABOWSKA, A.; KUNICKI, E.; SEKARA, A.; KALISZ, A. AND WOJCIECHOWSKA, R. The effect of cultivar and biostimulant treatment on the carrot yield and its quality. **Veg. Crops Res. Bull**, v. 77, n. 1, p. 37-48, 2012.
- JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.
- LOUREIRO, D. C. et al. Influência do uso do solo sobre a conservação de carbono na biomassa microbiana em sistemas orgânicos de produção. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 11, p. 1-10, 2016.

MARENGO, J. A. et al. **Mudanças climáticas e eventos extremos no Brasil**. Rio de Janeiro: FBDS, 2009. 76 p.

MATTNER, S. W.; WITE, D.; RICHES, D. A.; PORTER, I. J. AND ARIOLI, T. The effect of kelp extract on seedling establishment of broccoli on contrasting soil types in southern Victoria, Australia. **Biol. Agric. Hortic.**, v. 29, n. 4, p. 258-270, 2013.

PETROZZA, A; SUMMERER, S.; DI-TOMMASO, G.; DI-TOMMASO, D. AND PIAGGESI, A. Evaluation of the effect of Radifarm® treatment on the morpho-physiological characteristics of root systems via image analysis. **Acta Hortic**, v. 18, p. 149-153, 2013.

PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes. 3 ed. Piracicaba: IPNI, 2010.

RAIJ, B. V. Fertilidade do solo e manejo de nutrientes. International Plant Nutrition Institute, 2011.

## **SUBSTÂNCIAS HÚMICAS APLICADAS NA SEMEADURA E EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR INDUZEM O CRESCIMENTO DO MILHO**

### **RESUMO**

As substâncias húmicas (SH) derivam-se da decomposição da matéria orgânica do solo e desempenham inúmeras funções no solo e conseqüentemente no crescimento de plantas. Avaliou-se, com este trabalho, o crescimento de plantas de milho em função da aplicação de SH via foliar e no solo. O ensaio foi desenvolvido em casa de vegetação no delineamento de blocos ao acaso, com seis repetições em esquema fatorial 2 x 4. Foram testadas duas condições de semeadura (com e sem a aplicação de SH) e quatro tipos de pulverização foliar (pulverização foliar com SH, pulverização foliar com micronutrientes, pulverização foliar com SH e micronutrientes, e controle – pulverização foliar com água deionizada). As variáveis morfológicas de raiz analisadas foram comprimento total, área total, comprimento de raízes axiais, comprimento de raízes laterais, número de pontas e massa da matéria seca de raízes. Na parte aérea, avaliou-se a altura de plantas, diâmetro do colmo, massa da matéria seca das folhas e do colmo, e o índice SPAD. Referente às variáveis radiculares, a aplicação de SH na semeadura proporcionou aumento no comprimento total, número de pontas e comprimento lateral das raízes, porém, não houve efeito do fator pulverização foliar. Todas as variáveis da parte aérea expressaram aumentos resultantes da aplicação de SH na semeadura, exceto o diâmetro do colmo, além disso, houve efeito da pulverização foliar com SH na massa da matéria seca das folhas e no índice SPAD. Aplicações de SH na semeadura favorecem o crescimento de plantas de milho, favorecendo o desenvolvimento radicular e conseqüentemente possibilitando melhor estabelecimento da cultura.

**Palavras-chave:** Ácido fúlvico; Ácido húmico; Bioestimulante; Crescimento radicular; *Zea mays*.

## ABSTRACT

Humic substances (HS) derive from organic matter decomposition in soil and play numerous roles in building soil fertility and plant nutrition. This study aimed to evaluate maize growth as a function of SH application, analyzing biometric variables. An experiment was carried out in a greenhouse using a randomized block design (2x4 factorial) containing 6 replications, totaling 48 experimental units, where an experimental unit corresponded to a maize plant in a vase. Two sowing conditions were tested (with and without HS application) and four foliar spraying (HS foliar spraying, micronutrients foliar spraying, HS and micronutrients foliar spraying, and control - deionized water foliar spraying). Morphological root variables analyzed included total length, total area, axial root length, lateral root length, tips number, and root dry matter weight. In the aboveground part, plant height, stem diameter, leaf and stem dry matter weight, as well as the SPAD index, were estimated. All aboveground variables showed increases resulting from HS application at sowing, except stem diameter. Furthermore, there was effect HS foliar spraying on leaf dry matter weight and the SPAD index. Regarding root variables, HS application at sowing led to an increase in total length, tips number, and lateral root length, but there was no effect of HS application through foliar spraying. HS applications at sowing promote aboveground part growth and root system of maize plants, enabling achievement more substantial yields.

Keywords: *Zea mays*; Biostimulant; Humic acid; Fulvic acid; Root growth.

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com a CONAB (2022), o Brasil destina mais de 22.000.000 ha ao cultivo de milho, e espera-se que o país atinja a marca de produção de 125.000.000 t, o que torna o milho um dos cereais mais cultivados a nível global. Apesar do constante aprimoramento de tecnologias e do aumento da produção agrícola nos últimos anos, o mercado demonstra uma incessante busca por avanços no intuito de, além do aumento da produtividade, construir sistemas agrícolas mais sustentáveis e minimizar o impacto das mudanças climáticas globais, o que se reflete nas práticas de manejo do solo quanto à construção de sua fertilidade. Isso se reforça, no cultivo de milho, em virtude da alta demanda nutricional dessa planta, resultante de sua alta eficiência na conversão de energia radiante em biomassa devido ao seu mecanismo fotossintético C<sub>4</sub> e a suas características morfológicas (FORNASIERI FILHO, 2007; SANGOI, 2012).

A abundância da matéria orgânica do solo (MOS) torna-se um indicador crucial de fertilidade, especialmente em solos localizados em regiões tropicais. Nessas áreas, os atributos de fertilidade são frequentemente afetados por processos intempéricos mais intensos, resultando em características de fertilidade mais limitadas (SILVA; MACHADO, 2000). A matéria orgânica contida no solo é classificada em 3 frações: biomassa viva (tecidos intactos de plantas, animais e micro-organismos), raízes mortas e serrapilheira e, por fim, húmus do solo. Esse último segmento é também denominado de substâncias húmicas (SH), definidas como um sistema coloidal de partículas orgânicas complexas de natureza amorfa e que não possuem estruturas de tecido (BRADY; WEIL, 2013).

As SH dividem-se em quatro frações e, dentre elas, as mais importantes são as frações ácido húmico e ácido fúlvico. Os ácidos húmicos são compostos de elevada massa molecular e que possuem capacidade de troca catiônica (CTC) variando de 350 a 500 meq 100 g<sup>-1</sup>, por outro lado, os ácidos fúlvicos apresentam menor massa molecular e CTC mais elevada, entre 700 a 1000 meq 100 g<sup>-1</sup>, apresentando maior reatividade que o primeiro grupo (CARON et al., 2015). As SH desempenham inúmeras funções no solo e no metabolismo geral das plantas. Quimicamente, melhoram a mobilidade de cátions no solo ao longo de seu perfil através da formação de complexos entre a matéria orgânica e esses elementos, além de exercerem ação complexante sobre metais pesados e aumentarem sua CTC, tornando-o mais fértil (CARON et al., 2015; CANELLAS et al., 2001; ROSE et al., 2014).

Referente aos aspectos físicos do solo, as SH desempenham um papel fundamental ao favorecerem a retenção de água, aumentarem a difusão do ar, melhorarem a estrutura dos agregados de partículas e reduzirem a susceptibilidade do solo à erosão (CANELLAS et al., 2001). Ademais, essas substâncias são promotoras da manutenção e estabelecimento da comunidade microbiana no solo, e agem sobre a morfologia radicular e da parte aérea do milho, promovendo incrementos no crescimento de raízes, o que por consequência tem efeito positivo na absorção de nutrientes e água, e na atenuação de susceptibilidade aos efeitos de estresses (ROSE et al., 2014).

[Diante disso, diversos bioestimulantes a base de SH têm sido utilizados na agricultura, não só com o intuito de proporcionar aumentos na produtividade, mas também como forma de substituir, ainda que parcialmente, a fertilização mineral empregada majoritariamente na cadeia produtiva. Além do mais, o perfil econômico de grande parte dos produtores não permite a aquisição de equipamentos que executem a aplicação de SH via solo, justificando a utilização de tratamentos contendo aplicação foliar neste experimento. Simultaneamente, muito se questiona sobre a interação entre bioestimulantes e fertilizantes aplicados em cobertura, principalmente os que suprem demandas por micronutrientes, comumente aplicados dessa forma em várias culturas.

Nesse contexto, busca-se também reduzir o efeito da dependência de fontes finitas de fertilizantes minerais sob ameaça de escassez, e da flutuação de mercados cada vez mais instáveis, dado o intenso processo de globalização. A crise no abastecimento de fertilizantes minerais em 2022 foi um claro exemplo desse processo, ocasionado pela pandemia de COVID-19 e concentração mundial da extração e produção de fertilizantes agrícolas.

Este trabalho objetivou estudar a aplicação de SH, no momento da semeadura e pulverização foliar, sobre o crescimento da parte aérea e desenvolvimento do sistema radicular de milho.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação durante o período de 03/07/2021 a 12/10/2021 no município de Viçosa (MG) – Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, UFV (20°45'14" e 42°52'53" W). A região apresenta altitude de 650m e predominância do clima Cwa - tropical de altitude (classificação de Köppen Geiger). Durante

a condução experimental, foram realizadas leituras diárias da temperatura ( $T$  °C) e umidade relativa do ar (UR) utilizando-se higrômetro digital (7666.02.0.00 - INCOTERM®).

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com seis repetições, em esquema fatorial ( $2 \times 4$ ), perfazendo 48 unidades experimentais. O primeiro fator foi a aplicação de SH na semeadura (com ou sem aplicação de SH) e o segundo a pulverização foliar (pulverização foliar com SH, pulverização foliar com micronutrientes, pulverização foliar com SH e micronutrientes, e controle - sem aplicação foliar). Considerou-se cada parcela como um vaso de capacidade para 25 L de substrato com uma planta de milho.

O substrato para cultivo utilizado foi formado por uma combinação entre Latossolo Vermelho Distrófico (SANTOS et al., 2018) e areia lavada, na proporção de 70% e 30%, respectivamente. A inclusão da areia se deu para facilitar a remoção das raízes durante a avaliação. Anteriormente ao preparo do substrato, o solo foi seco ao ar, destorroado e corrigido com calcário dolomítico ( $1,44 \text{ t ha}^{-1}$  - 90% de PRNT). Para isso, o solo foi armazenado em sacos de rafia durante 60 dias, período em que se realizou umedecimento e homogeneização diários para uma adequada reatividade do calcário com o solo.

O substrato obtido apresentou a composição granulométrica ( $\text{g kg}^{-1}$ ): argila – 434; silte – 63; areia fina – 265; e areia grossa – 238 (ALMEIDA et al., 2012). Quanto aos atributos químicos, o substrato apresentou: pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ) – 4,92; Ca –  $1,17 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Mg –  $0,21 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Al –  $0,14 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  - Extrator KCl  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ); P –  $0,08 \text{ mg dm}^{-3}$ ; K –  $50,40 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Fe –  $23,18 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Zn –  $1,81 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Mn –  $7,2 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Cu –  $23,55 \text{ mg dm}^{-3}$  (P, K, Fe, Zn, Mn e Cu – Extrator Mehlich 1); H + Al –  $2,77 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Extrator Acetato de Cálcio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0);  $\text{CTC}_{\text{pH}7}$  –  $4,28 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; V (%) - 35,28; e M.O -  $1,47 \text{ dag kg}^{-1}$  (C. Org x 1,724).

Como fonte de SH, foi utilizado o bioestimulante comercial (SH-24-0 Lottus, Biosoluções®) composto por 28,5% de carbono orgânico total, dos quais 6,35% são de ácido húmico e 1,6% de ácido fúlvico. Já para a pulverização foliar com micronutrientes, foi utilizado o formulado Agrumax MZ da empresa Biolchim® (composto por 1% de B; 0,2% de Fe; 0,1% de Cu; 10% de Zn, 10% de Mn; 10,8% de S e 12% de N em forma amídica). A dose de bioestimulante utilizada na semeadura foi de  $15 \text{ L ha}^{-1}$ , enquanto na pulverização foliar foi de  $1 \text{ L ha}^{-1}$ , adaptado de Paiva (2020). Para os micronutrientes, a dose utilizada na pulverização foliar foi de  $2 \text{ kg ha}^{-1}$ , seguindo a recomendação do fabricante. As mesmas doses foram utilizadas nos tratamentos combinando SH e micronutrientes, e para o tratamento controle houve pulverização com água deionizada.

O milho foi adubado, em quantidades equivalentes proporcionais ao volume da parcela, com uréia ( $45 \text{ kg ha}^{-1}$ ), superfosfato triplo ( $295 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e cloreto de potássio ( $300 \text{ kg ha}^{-1}$ ), este último aplicado parceladamente na adubação de semeadura e em cobertura juntamente à uréia ( $400 \text{ kg ha}^{-1}$ ) no estágio V4 - quatro folhas completamente expandidas (ALVES et al., 1999).

As sementes de milho utilizadas foram do híbrido SHS 7939 PRO 2, de ciclo superprecoce, grão semiduro e cor alaranjada. Semeou-se 3 sementes por vaso e, sucedidos 10 dias após a germinação, efetuou-se o desbaste para continuidade do cultivo de uma planta em cada vaso. A pulverização foliar com o bioestimulante SH-24-0 Lottus e o fertilizante Agrumax MZ foi realizada no estágio V5 (cinco folhas expandidas) utilizando pulverizador de  $\text{CO}_2$  calibrado para vazão constante de  $0,693 \text{ L min}^{-1}$  (4,0 bar). No ato da pulverização foliar, os vasos foram separados e sinalizados por tratamento para evitar-se o efeito da deriva.

A irrigação foi aplicada de modo a repor a taxa de evapotranspiração de cultura ( $\text{ETc}$ ) diária, estimada segundo a evapotranspiração de referência ( $\text{ET}_0$  - método de Penman-Montheith), obtida com dados fornecidos por uma estação meteorológica situada próximo ao local de cultivo, e do coeficiente de cultivo ( $\text{Kc}$ ) adotado no cultivo de milho (ALLEN et al., 1998). A lâmina líquida total aplicada foi de 470 mm, esse número variou diariamente (3,50 – 5,25 mm) conforme as fases da cultura, para isso, utilizou-se sistema de irrigação localizada através de gotejamento.

Executou-se as avaliações no estágio R2 (Grão bolha d'água) da cultura. Na parte aérea, foram avaliadas a altura, diâmetro do colmo, massa da matéria seca das folhas (MMSF), massa da matéria seca do colmo (MMSC) e índice SPAD. Em relação à morfologia da raiz, foram mensurados o comprimento radicular (L), área radicular total (S), comprimento de raízes axiais (LA), comprimento de raízes laterais (LL), número de pontas radiculares (NP) e massa da matéria seca das raízes (MMSR).

Determinou-se a altura das plantas com utilização de fita métrica, sendo correspondente à medida entre o ponto de intersecção solo-colmo e o auge do pendão. Para a estimativa do diâmetro do colmo utilizou-se paquímetro digital na altura do colmo correspondente a 5cm acima da superfície do solo, e o índice SPAD (SPAD-502 Plus, Konica Minolta®) foi determinado na terceira folha imediatamente anterior ao pendão, correspondendo à média aritmética de três medições ao longo da lâmina foliar. Para obtenção da MMSF e MMSC, realizou-se separação morfológica dos componentes da parte aérea e as frações obtidas foram embaladas e submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar ( $65 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 72 h para posterior pesagem.

Na avaliação radicular, as raízes foram destacadas no ponto de intersecção solo-colmo e foram separadas do substrato por lavagem com água, após isso, foram condicionadas em potes de plástico com solução de água e etanol (25%) para leitura em scanner (Epson XL 10000) por meio do software de análise de imagens de raízes WinRHIZO®. Raízes axiais e laterais foram classificadas conforme o diâmetro, cujo valor igual inferior ou equivalente a 0,5 mm e maior que 0,5 mm definem raízes laterais e axiais, respectivamente (TRACHSEL et al., 2009).

Seguindo os mesmos procedimentos executados para a determinação da MMSC e MMSF, a MMSR foi obtida a partir da separação morfológica entre parte aérea e sistema radicular, o conjunto de raízes foi embalado e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar (65 °C) por 72 h para posterior pesagem.

O conjunto de dados foi avaliado quanto aos pressupostos estatísticos de distribuição normal, homogeneidade das variâncias e homoscedasticidade. Em seguida, executou-se a análise de variância e comparação das médias por teste de tukey ( $\alpha = 0,05\%$ ) mediante a utilização do software R (R CORE TEAM, 2022).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as plantas emergiram em até 14 dias nas unidades experimentais. As médias de temperatura (13,3 °C e 26,6 °C – T °C mínima e máxima, respectivamente) e UR (75,9%) mensuradas na casa de vegetação nesse período são consideradas ideias para o cultivo de milho (GADIOLI et al., 2000).

Não foi observada interação entre os fatores para as variáveis avaliadas (Tabela 1). Para a parte aérea das plantas, observou-se efeito isolado de pelo menos um dos fatores na altura de plantas, MMSF, MMSC e no índice SPAD, porém, não se observou influência de nenhum deles no diâmetro do colmo (Tabela 1). Para as variáveis de morfologia da raiz, houve efeito apenas do fator aplicação de SH na semeadura (Tabela 2).

**Tabela 1** – Resumo da análise de variância para crescimento radicular e da parte aérea de plantas de

F.V	Altura	Diâmetro	MMSF	MMSC	SPAD
Aplicação na Semeadura (AS)	6325**	3,53 <sup>ns</sup>	102,23**	761,45**	119,01**
Aplicação Foliar (AF)	715,57 <sup>ns</sup>	1,55 <sup>ns</sup>	35,51*	36,83 <sup>ns</sup>	66,28**
AS x AF	83,40 <sup>ns</sup>	0,65 <sup>ns</sup>	3,81 <sup>ns</sup>	3,58 <sup>ns</sup>	2,93 <sup>ns</sup>
Resíduo	532,60	0,21	11,44	46,86	15,07
Média	217,40	1,86	44,87	87,73	49,9
C.V (%)	10,62	10,68	7,54	18,70	7,78

F.V	L	A	LA	LL	NP	MMSR
AS	2926141**	5825445*	2500147**	1674727**	5,3327e+09**	761,45**
AF	684779,33 <sup>ns</sup>	64216,33 <sup>ns</sup>	6657409 <sup>ns</sup>	29043,33 <sup>ns</sup>	2,6325e+07 <sup>ns</sup>	36,83 <sup>ns</sup>
AS x AF	123781,33 <sup>ns</sup>	60246 <sup>ns</sup>	14603781 <sup>ns</sup>	372678 <sup>ns</sup>	8,9197e+06 <sup>ns</sup>	3,58 <sup>ns</sup>
Resíduo	305949,11	960453,46	26832080	147844,09	49,6971e+10	46,86
Média	28762,19	5287,02	28008	1900	101609,79	36,60
C.V (%)	18,49	17,99	18,49	20,24	21,94	18,70

Valores seguidos de \*\* são significantes pelo teste F ( $\alpha = 0,01\%$ ); Valores seguidos de \* são significantes pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ); Valores seguidos de <sup>ns</sup> não são significantes pelo teste F.

### 3.1 Crescimento da parte aérea do milho

A altura respondeu positivamente à SH aplicada na semeadura, de modo que a aplicação proporcionou o incremento de cerca de 10% na altura de plantas em relação à ausência da aplicação da substância na semeadura (Figura 1a). Resultados similares foram reportados por Al-Taweel & Al-Saadawi (2021), que obtiveram incremento de 13,44% na altura de plantas de milho com aplicação na semeadura de ácido húmico em forma de pó ( $20 \text{ kg ha}^{-1}$ ) combinado com vermicomposto em relação ao controle sem aplicação. Ainda naquele estudo, foi observado incremento de aproximadamente 8% na altura de plantas adubadas na ocasião da semeadura com ácido húmico em forma de pó ( $20 \text{ kg ha}^{-1}$ ) combinado com fertilizante nanofosfatado.

Também para o milho, Feng Gao et al. (2022) atribuíram incremento de 7,81% na altura de plantas ao uso combinado de uréia e ácido fúlvico ( $45 \text{ kg ha}^{-1}$ ) comparativamente à aplicação isolada de uréia no estágio V12 (doze folhas expandidas), sendo aproximadamente essa mesma diferença estimada na comparação desses dois tratamentos em estádios reprodutivos posteriores da cultura.

Nas principais adubações da cultura do milho, na semeadura e em cobertura, a aplicação parcelada de ácido húmico derivado de esterco bovino em conjunto com fertilizante NPK proporcionou aumento de 8,42% na altura das plantas em comparação às que receberam tratamento contendo apenas NPK (WULANDARI et al., 2019). Os aumentos nessa variável podem ser atribuídos à melhora na disponibilidade de diversos nutrientes, cuja essencialidade no metabolismo vegetal está ligada a processos como fotossíntese, respiração celular, ativação enzimática, divisão celular, e síntese de macromoléculas (ALI et al., 2022).

Para a MMSF, a aplicação de SH na semeadura promoveu aumento de 6,30% nessa variável em relação às plantas semeadas sem incorporação de SH (Figura 1b). Quando isolado o fator de aplicação foliar, a maior média obtida foi com pulverização foliar de SH, com a qual houve incremento de 8,73% em relação ao controle, que expressou a menor média (Figura 1c). Os valores de MMSF obtidos com aplicação de micronutrientes e SH juntamente com micronutrientes foram indiferentes entre si e situados entre os valores máximo e mínimo mencionados.

A variável MMSC respondeu apenas ao fator aplicação na semeadura, obtendo-se média 11,83% superior através da aplicação de SH em comparação ao controle sem aplicação (Figura 3d). Resultados semelhantes foram obtidos a partir da aplicação conjunta de ácido húmico e vermicomposto na semeadura de milho, nesse manejo, a parte aérea expressou matéria seca

11,69% maior que as plantas submetidas ao tratamento controle (AL-TAWEEL & AL-SAADAWI, 2021).

Eyheraguibel et al. (2008) analisaram solução nutritiva contendo extratos húmicos líquidos derivados de resíduos lignocelulósicos em cultivo hidropônico de milho, que resultou em incrementos de cerca de 35% e 50% na MMSF e massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA), respectivamente, em comparação às plantas cultivadas em solução nutritiva padrão. De modo análogo, Yuan et al. (2022) verificaram a eficiência da aplicação de ácido húmico em forma de pó derivado da palha de milho na semeadura dessa mesma cultura, constatando aumento de aproximadamente 63% sobre a MMSPA das plantas tomando o grupo controle como referência.

Provavelmente, esses resultados se atribuem ao fato de que as SH aumentam a aquisição de diversos íons pelo sistema radicular e estimulam a síntese de biomassa seca na parte aérea em condições ideais ou adversas de cultivo. A pulverização foliar de ácido fúlvico, por exemplo, resulta em maior aquisição de fósforo pelas raízes e maior concentração de clorofila nos tecidos foliares, o que contribui para a formação de biomassa (ÇELIK et al., 2011). Corroborando com isso, Jannin et al. (2012) observaram que os aumentos na MMSPA de plantas de colza (*Brassica napus*) com aplicação de ácido húmico, são resultantes de regulações gênicas em mais de 100 genes da parte aérea após 30 dias de aplicação do tratamento, e todos estão envolvidos em vias metabólicas fundamentais das plantas, demonstrando que os tratamentos com SH podem resultar em muitas mudanças na fisiologia vegetal.

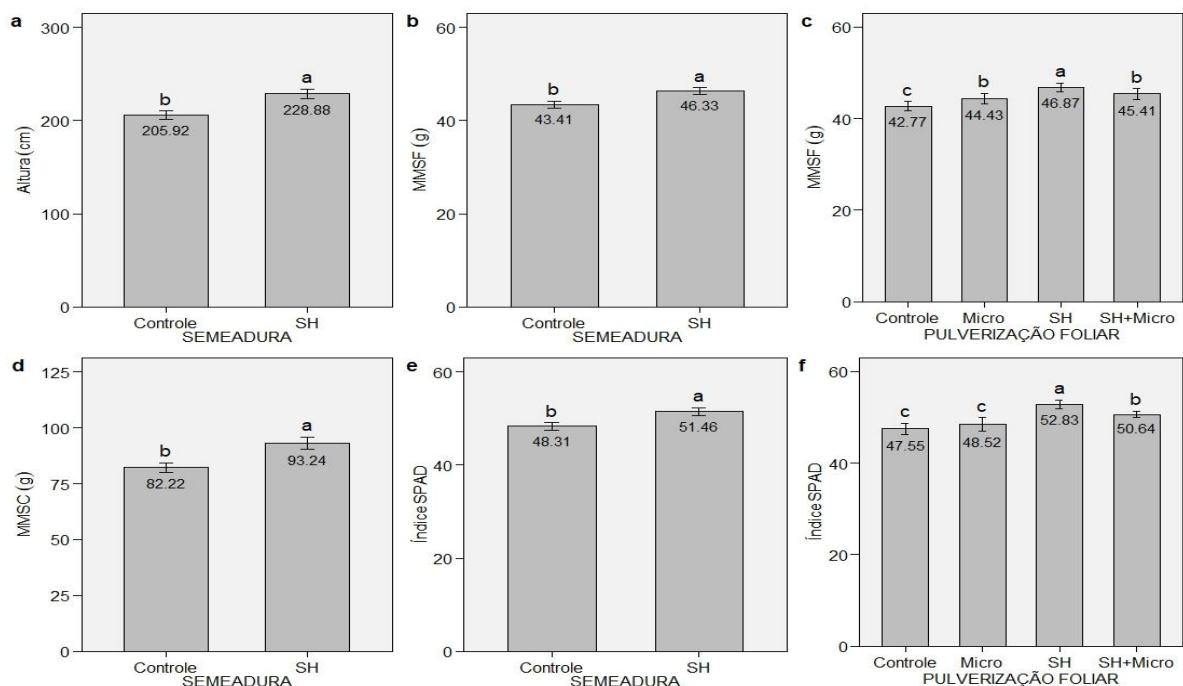
O índice SPAD respondeu isoladamente aos dois fatores estudados. As médias do índice SPAD decorrentes da aplicação foliar de SH foram as maiores observadas, seguidas das médias obtidas com a aplicação foliar de SH e micronutrientes e, por fim, das médias provenientes da aplicação de micronutrientes, as quais foram estatisticamente iguais às do grupo controle (Figura 1f). Em relação à aplicação na semeadura, o uso de SH resultou em aumento de 6,12% no índice SPAD em relação ao sem aplicação (Figura 3e). Já o aumento verificado para uso de SH na pulverização foliar em relação ao controle foi de cerca de 10% (figura 1e).

Efeitos semelhantes foram relatados na literatura para milho e outras culturas. Em soja e azevém (*Lolium multiflorum*), a aplicação de ácido fúlvico também resultou em aumentos na concentração de clorofila (CHEN et al., 2004). Segundo Kaya et al. (2018), dois cultivares de milho (DK 5783 e Apex 836) apresentaram menor decréscimo no teor de clorofila com aplicação de ácido húmico sob condições de estresse salino. Os principais mecanismos de ação das SH sobre as clorofilas estão relacionados à manutenção de suas estruturas e integridade de suas atividades: manutenção da biossíntese da clorofila, mitigação dos processos de degradação

e minimização das alterações em complexos proteicos e membranas dos cloroplastos (KAYA et al., 2018).

Ressalta-se que a performance superior das plantas submetidas à pulverização foliar apenas com SH em relação aos grupos tratados simultaneamente com SH e micronutrientes se deu, provavelmente, em razão do antagonismo entre os produtos devido ao teor de agentes quelantes contidos no adubo foliar (1,1% do agente quelante EDTA e 4,05% do agente complexante Ácido Cítrico). Possivelmente, houve indisponibilidade de parte dos micronutrientes aplicados como consequência da interação química entre estes e as moléculas do bioestimulante, resultando numa menor reatividade dos dois produtos aplicados de forma conjunta em comparação à eficiência isolada de SH.

**Figura 1.** Substâncias húmicas (SH) aplicadas na sementeira e pulverização foliar com e sem micronutrientes no crescimento da parte aérea de milho ( $p \leq 0,05$ ).



Médias seguidas das mesmas letras nas barras não diferem entre si pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ); Médias seguidas de letras diferentes nas barras diferem entre si pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ).

### 3.2 Crescimento radicular do milho

O comprimento radicular total foi maior nas plantas tratadas com SH na sementeira, sendo 15,25% superior comparado às médias do controle (Figura 2a). Segundo Zandonadi et

al. (2007), que compararam a influência de SH e do ácido indolacético (AIA) sobre o desenvolvimento rizosférico de plântulas de milho, as SH aplicadas na sementeira promoveram um incremento quatro vezes maior no comprimento radicular do que AIA. Rodda et al. (2006) também observaram efeito similar no cultivo de alface, obtiveram aumento significativo do comprimento radicular (140-150%) consequente de SH derivada de vermicomposto e bagaço de cana-de-açúcar aplicada na sementeira.

Respostas semelhantes também foram obtidas para o comprimento radicular de azevém, pimenta e morango a partir da aplicação na sementeira de ácido húmico extraído de resíduos alimentares (SILVA et al., 2000; ARANCON et al., 2006). Maiores comprimentos do sistema radicular possibilitam maior potencial de exploração do perfil do solo, assim, as raízes penetram mais profundamente o substrato e absorvem maior quantidade de nutrientes e água, e em casos de estresses hídricos ocasionados por seca, essas plantas apresentam vantagens adaptativas em relação à outras com menores sistemas radiculares (TRACHSEL et al., 2009).

A área radicular total foi superior em 12,02% ( $p \leq 0,05$ ) nas plantas que receberam SH na sementeira em relação às que não receberam (Figura 2b). Em consonância com esse resultado, foi observado incremento de 45% na área radicular de plântulas de milho tratadas com ácido húmico comparadas ao controle (RIMA et al., 2011). Sistemas radiculares com maiores áreas exploram volumes de solos mais amplos, o que é favorável em termos de adaptação vegetal às diversidades de condições edafoclimáticas (NIBAU et al., 2008).

O fornecimento de SH na sementeira propiciou incremento no número de raízes axiais e laterais, o grupo tratado com SH expressou aumento de mais de 15% e cerca de 18% na quantidade de raízes axiais e laterais, respectivamente, em comparação ao grupo controle (Figura 2c-d). Semelhantemente, o número de pontas radiculares foi afetado pela adubação na sementeira com SH, apresentando aumento de 18,8% em relação ao grupo com tratamento controle (Figura 2e). Na cultura do milho, normalmente a adubação mineral orienta o crescimento mais acentuado das raízes axiais em detrimento das raízes laterais, dessa forma o crescimento radicular se dá majoritariamente em profundidade (TRACHSEL et al., 2009; HUND et al., 2009). No entanto, a ação das SH atua diferentemente dessa tendência, promovendo simultaneamente crescimento nas raízes laterais.

A aplicação de ácido húmico demonstra similaridade de efeito sobre as raízes em comparação com baixas concentrações de AIA, estimulando a proliferação de raízes laterais através de maior atividade das  $H^+$ -ATPases e  $H^+$ -pirofosfatases da plasmalema e do tonoplasto (ZANDONADI et al., 2007). As raízes laterais são predominantemente responsáveis pela maior extrusão de fosfatases ácidas e ácidos orgânicos, viabilizando a absorção de nutrientes com

baixa mobilidade no solo, como o fósforo. Além disso, atenuam o impacto de baixas temperaturas no crescimento do milho, por outro lado, a principal função exercida pelas raízes axiais é a absorção de água em profundidade, o que colabora com a absorção de nutrientes (HUND et al., 2009).

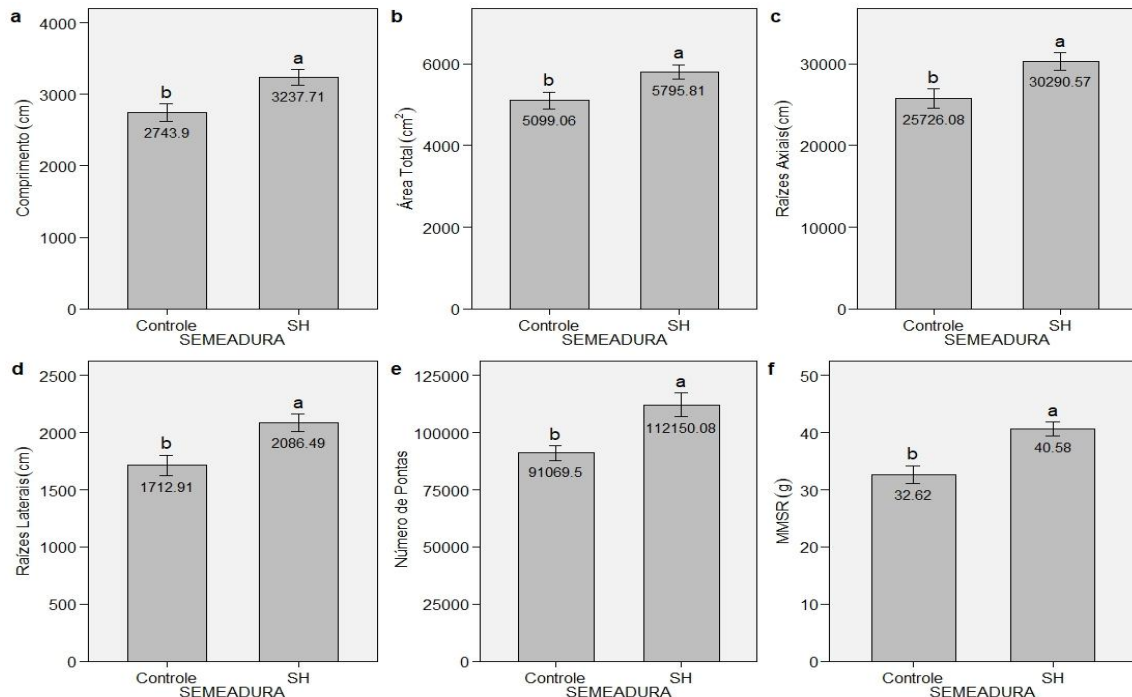
O mecanismo de atuação das SH na indução do crescimento radicular lateral está principalmente ligado à natureza hidrofílica destas, sobretudo em virtude da composição com os grupos O-alkil, N-metoxil e N-alkil (CANELLAS et al., 2011). A presença de grupos funcionais polares em substâncias com menor grau de humificação, principalmente grupos carboxílicos e nitrogenados, também induz o crescimento radicular lateral, nessas substâncias essa atividade se dá em grande parte através do potencial de quelatização sobre micronutrientes, como Zn, Cu e Fe, os quais podem contribuir para melhorar o crescimento radicular (GARCIA-MINA et al., 2004; CHEN et al., 2004).

A liberação de exsudados radiculares advém predominantemente das pontas das raízes, especialmente das raízes laterais, e esses compostos realizam a quebra das SH em subunidades bioativas, posteriormente, os compostos provenientes dessa fragmentação exercem estímulos nos receptores das células superficiais ou do interior das pontas radiculares do milho, promovendo crescimento dos segmentos radiculares nessas plantas (FAÇANHA et al., 2002).

Também acerca da MMSR, a aplicação de SH na semeadura promoveu acréscimo de mais de 20% nessa variável em relação ao controle (figura 2f). Esse efeito foi confirmado por Rose et al. (2014), que estimaram uma média de aumento da massa da matéria seca radicular em plantas de 22% ( $\pm 6\%$ ) via meta-análise. Incrementos análogos foram obtidos em cróton, hibisco e sanquésia, nas quais essa variável aumentou 4%, 15% e 36% com suprimento exógeno de SH tendo como referência plantas semeadas sem aplicação (BALDOTTO & BALDOTTO, 2012; BALDOTTO & BALDOTTO, 2015).

A maior quantidade de matéria seca presente na raiz é resultado do agrupamento de atributos que se desenvolveram mais com a aplicação de SH na semeadura, sobretudo as variações observadas no dimensionamento radicular, como a área total, além da maior emissão lateral de raízes. A principal vantagem desses incrementos associa-se com a maior absorção nutricional e hídrica exercida pelo sistema radicular, o que contribui para o bom funcionamento do metabolismo primário em plantas de milho.

**Figura 2.** Substâncias húmicas (SH) aplicadas na sementeira e pulverização foliar com e sem micronutrientes no crescimento das raízes de milho ( $p \leq 0,05$ ).



Médias seguidas das mesmas letras nas barras não diferem entre si pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ); Médias seguidas de letras diferentes nas barras diferem entre si pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ).

#### 4 CONCLUSÕES

Na sementeira, o uso de SH proporciona incrementos no crescimento do milho, no índice SPAD e na morfologia da raiz. Em relação à aplicação foliar, a SH promove relativamente poucas alterações nos principais componentes biométricos do milho e seu efeito na morfologia radicular é insignificante. Mesmo assim, pequenos incrementos podem ser alcançados com a aplicação foliar de SH, isso sugere a necessidade de novos estudos para estimar o potencial dessas substâncias de promover crescimento em condições variadas.

## REFERÊNCIAS

- ALI, J. et al. Impact of humic acid with organic and inorganic nitrogen sources on growth and yield traits of maize (*Zea mays* L.). **Pure and Applied Biology**, v. 12, n. 1, p. 103-115, 2022.
- ALMEIDA, B. et al. **Padronização de métodos para análise granulométrica no Brasil**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, comunicado técnico 66, 2012.
- AL-TAWEEL, L. S. J.; AL-SAADAWI, A. M. W. The Effect of Humic Acid, Vermicompost and Nano-Phosphorous on Growth and Yield Characteristics of Maize (*Zea mays* L.). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 923, 2021.
- ALVES, V. M. C. et al. Sugestões de Adubação para Grandes Culturas Anuais ou Perenes. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5a. aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 314-316.
- ARANCON, N. Q. et al. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, p. 65 - 69, 2006.
- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A. Growth and production of ornamental sunflower grown in the field in response to application of humic acids. **Ciência Rural**, v. 45, n. 5, p. 1000 - 1005, 2015.
- BALDOTTO, L. E. B. et al. Adventitious rooting in cuttings of croton and hibiscus in response to indolbutyric acid and humic acid. **Revista Ceres**, v. 59, p. 476 - 483, 2012.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades do solo**. 3ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 686 p.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, p. 3-41, 2014.
- CANELLAS, L. P. et al. Chemical properties of humic matter as related to induction of plant lateral roots. **Europe Journal of Soil Science**, v. 63, n. 3, p. 315 – 324, 2011.
- CANELLAS, L. P. et al. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, 2001.
- CARON, V. C.; GRAÇAS, J. P.; CASTRO, P. R. C. **Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, Série Produtor Rural, nº 58, 2015. 46 p.
- CHEN, Y.; CLAPP, C. E.; MAGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. **Soil Science an Plant Nutrition**, v. 50, n. 7, p. 1089 – 1095, 2004.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA - GRÃOS SAFRA 2022/23**. 2º Levantamento, v. 20, n. 2, 2022.

ÇELIK, H. et al. Effect of Foliar-Applied Humic Acid to Dry Weight and Mineral Nutrient Uptake of Maize under Calcareous Soil Conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 42, n. 1, p. 29 — 38, 2011.

EYHERAGUIBEL, B.; JÉRÔME, S.; PHILIPPE, M. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4206 - 4212, 2008.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da Cultura do Milho**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 576 p.

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

FAN, D. et al. A commercial extract of Brown Macroglia (*Ascophyllum nodosum*) affects yield and the nutritional quality of spinach in vitro. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 44, n. 12, p. 1873 – 1884, 2013.

GADIOLI, J. L. et al. Temperatura do ar, rendimento de grãos de milho e caracterização fenológica associada à soma calórica. **Scientia Agricola**, v.57, n.3, p.377-383, 2000.

GAO, F. et al. The combined application of urea and fulvic acid solution improved maize carbon and nitrogen metabolism. **Agronomy**, v. 12, 2022.

GARCIA-MINA, J. M.; ANTOLIN, M. C.; SANCHEZ-DIAZ, M. Metal-humic complexes and plant micronutrient uptake: a study based on different plant species cultivated in diverse soil types. **Plant Soil**, v. 258, p. 57 – 68, 2004.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. Ed. DF: Embrapa, 2018. 356 p.

HUND, A.; TRACHSEL, S.; STAMP, P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a 330 phenotyping platform. **Plant and Soil**, v. 325, p. 335 – 349, 2009.

JANNIN, L. et al. Brassica napus growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 1, p. 31 – 52, 2013.

JANNIN, L. et al. Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: involvement of N, C and S metabolisms. **Plant Soil**, v. 359, p. 297–319, 2012.

KAYA, C. et al. Exogenous Application of Humic Acid Mitigates Salinity Stress in Maize (*Zea mays* L.) Plants by Improving some Key Physico-biochemical Attributes. **Cereal Research Communications**, v. 46, n. 1, p. 67 – 78, 2018.

MACHADO, P. L. O. A. Manejo da matéria orgânica de solos tropicais. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2001. 20 p. (**Documentos**, n. 24)

MANCUSO, S. et al. Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. **Advances in Horticultural Science**, v. 20, p. 156 – 161, 2006.

NIBAU, C.; GIBBS, D. J.; COATES, J. C. Branching out in new directions: the control of root architecture by lateral root formation. **New Phytologist**, v. 179, n. 3, p. 595 - 614, 2008.

PAIVA, M. J. A. **Ação e modo de aplicação dos ácidos húmicos e fúlvicos sobre características morfológicas e fisiológicas de milho**. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa - UFV. Viçosa, 46 p. 2020.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022.

RIMA, J. A. H. et al. Adição de ácido cítrico potencializa a ação de ácidos húmicos e altera o perfil protéico da membrana plasmática em raízes de milho. **Ciência Rural**, v. 41, n. 4, p. 614 – 620, 2011.

RODDA, M. R. C. et al. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, v. 30, n. 4, p. 649 - 656, 2006.

ROSE, M. T. et al. A Meta-Analysis and Review of Plant-Growth Response to Humic Substances: Practical Implications for Agriculture. In: SPARKS, D. L. (Ed). *Advances In Agronomy*, p. 37 – 89, 2014.

SANGOI, L. Fisiologia do crescimento e desenvolvimento de milho. In: PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DUARTE, A. P.; TSUNESHIRO, A. (Eds). **Diversidade e Inovações na Cadeia Produtiva de Milho e Sorgo na Era dos Transgênicos**. Campinas – SP: Instituto Agrônomo de Campinas, 2012. 780 p.

SILVA, C. A.; MACHADO, P. L. O. A. Sequestro e emissão de carbono em ecossistemas agrícolas: Estratégias para o aumento dos estoques de matéria orgânica em solos tropicais. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2000. 23p. (Documentos, 19)

SILVA, R. M. et al. Desenvolvimento das raízes do azevém cultivado em solução nutritiva completa, adicionada de substâncias húmicas, sob condições de casa de vegetação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1623 - 1631, 2000.

SIVASANKARI, S. et al. Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 14, p. 1745 – 1751, 2006.

SPINELLI, F. et al. A novel type of seaweed extract as a natural alternative to the use of iron chelates in strawberry production. **Scientia Horticulturae**, v. 125, p. 263 – 269, 2010.

TRACHSEL, S. et al. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 119, p. 1413 – 1424, 2009.

WULANDARI, P. et al. Growth and Yield Response of Maize (*Zea mays* L.) on Acid Soil to Different Rates of Humic Acid and NPK Fertilizer. **Ilmu Pertanian** (Agricultural Science), v. 4, n. 2, p 76–84, 2019.

YUAN, Y. et al. Artificial humic acid improves maize growth and soil phosphorus utilization efficiency. **Applied Soil Ecology**, v. 179, 2022.

ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, v. 225, p. 1583-1595, 2007.

## SUBSTÂNCIAS HÚMICAS APLICADAS NA SEMEADURA E EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR INDUZEM BENEFÍCIOS NO METABOLISMO DO MILHO

### RESUMO

As substâncias húmicas (SH) derivam-se da decomposição da matéria orgânica do solo e desempenham inúmeras funções no solo e no crescimento de plantas. Sendo as SH bastante associadas a um bom perfil de fertilidade dos solos, estas podem ser um grande determinante para o alcance de produtividades satisfatórias, sobretudo em culturas como o milho, que demandam rigorosos padrões nutricionais. Objetivou-se com este estudo avaliar indicadores do metabolismo do milho em função da aplicação de SH na semeadura e em pulverização foliar, com e sem micronutrientes. Conduziu-se o ensaio em casa de vegetação no delineamento de blocos ao acaso com seis repetições, em esquema fatorial (2x4). Foram testadas duas condições de semeadura (com e sem a aplicação de SH) e quatro tipos de pulverização foliar (pulverização foliar com SH, pulverização foliar com micronutrientes, pulverização foliar com SH e micronutrientes, e controle – pulverização foliar com água deionizada). A parcela experimental foi formada por uma planta de milho em vaso com 25 L de substrato. Todas as variáveis responderam positivamente à aplicação de SH na semeadura, exceto a eficiência do uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação (EC), quanto à pulverização foliar, foram verificados aumentos resultantes da aplicação de SH na taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), transpiração (*E*), carboidratos solúveis totais (CST), açúcares redutores (AR), amido (AM) e em proteínas solúveis totais (PST). A aplicação de substâncias húmicas, especialmente na semeadura, estimula o metabolismo fotossintético e bioquímico das plantas de milho, enquanto pulverização foliar com SH tende a melhorar os indicadores bioquímicos e algumas variáveis de trocas gasosas do milho, porém, apresenta baixa eficiência quando aplicada em conjunto com fontes de micronutrientes.

**Palavras-chave:** Bioestimulante; Ácido Fúlvico; Ácido húmico; Trocas gasosas; *Zea mays*.

## ABSTRACT

Maize is a cereal that requires a good soil fertility profile to reach satisfactory yields. Humic substances (HS) are derived from organic matter decomposition in the soil and play crucial roles in plant nutrition, especially in tropical regions. This study aimed to evaluate HS application on maize development vegetative analyzing ecophysiological and biochemical plants variables. An experiment was carried out in a greenhouse using a randomized block design (2x4 factorial) containing 6 replications, totaling 48 experimental units, where an experimental unit corresponded to a maize in a vase. Two sowing conditions were tested (with and without HS application) and four foliar spraying (HS foliar spraying, micronutrients foliar spraying, HS and micronutrients foliar spraying, and control – water foliar spraying). All variables responded positively to HS applied at sowing, except water use efficiency (WUE) and carboxylation efficiency (CE). Regarding foliar spraying, increases were observed in CO<sub>2</sub> net assimilation rate (*A*), transpiration (*E*), total soluble carbohydrates (CST), reducing sugars (AR), starch (AM), and total soluble proteins (PST) due to HS application. HS applications, especially at sowing, stimulates the photosynthetic and biochemical maize plant metabolism, while HS foliar spraying tends to improve biochemical indicators and some gas exchange maize variables. However, it shows low efficiency when applied together with micronutrient sources.

Keywords: *Zea mays*; Biostimulant; Humic acid; Fulvic acid; Gas exchanges.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho é uma das mais expressivas a nível mundial, no Brasil, sua produção engloba uma área de mais de 22.000.000 ha e rendimento de grãos estimado em mais de 125.000.000 t (CONAB, 2022). Diante de um cenário agrícola cada vez mais tecnificado, no qual a produtividade alcança maiores patamares a cada ano, o sucesso econômico de uma lavoura é ponderado por muitos fatores, controláveis ou não. Esses fatores são de origem bastante variada e, segundo estudos, podem ser quantificados em 52, dos quais alguns podem ser manejados apenas indiretamente, o que determina a imprevisibilidade dos sistemas agrícolas (TISDALE et al., 1993). Dentre esses fatores, o solo apresenta-se como um campo de vastas intervenções no que diz respeito a obtenção de lavouras mais produtivas, uma vez que se trata do principal meio/substrato de cultivo da maioria dos sistemas.

A partir de uma visão sistêmica do solo, sua fertilidade pode ser compreendida como uma capacidade derivada de vários processos e agentes, dentre eles, a matéria orgânica constitui-se num importante indicador, especialmente em solos de regiões tropicais, cujos pobres atributos de fertilidade são produto de processos intempéricos mais intensos (SILVA; MACHADO, 2000).

A MOS é constituída de três frações: biomassa viva (tecidos intactos de plantas, animais e micro-organismos), raízes mortas e serrapilheira e, ainda, húmus do solo. Esta última, também denominada de substâncias húmicas (SH), definida como uma mistura sem forma definida de substâncias orgânicas coloidais que não possuem estrutura de tecidos, desempenha o papel mais importante de todas as frações em termos de fertilidade do solo (BRADY; WEIL, 2013).

As SH subdividem-se em quatro frações com composições distintas, destas, as frações de ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) exercem maior importância agrícola, além delas, estão presentes também as frações huminas e ácidos himatomelânicos. Os AH constituem-se de cadeias com alto peso molecular e solubilidade tanto em ácidos minerais como em solventes orgânicos, além de apresentarem capacidade de troca catiônica (CTC) inferior à fração AF, situada entre 350 e 500 meq 100 g<sup>-1</sup>. Diferentemente, os AF apresentam cadeias de menor peso molecular e solubilidade alcalina/ácida e em água, com uma faixa de CTC entre 700 e 1000 meq 100 g<sup>-1</sup>, apresentando assim maior reatividade em comparação aos AH (CARON et al., 2015).

São inúmeras as funções que as SH desempenham no solo e no metabolismo primário das plantas. Melhoram a mobilidade de íons ao longo do solo, sobretudo em função das

interações organo-metálicas exercidas com esses elementos, além da complexação de metais pesados, aumento da CTC e redução das variações bruscas de pH (CARON et al., 2015; ROSE et al., 2014; CANELLAS et al., 2001). Em relação aos atributos físicos, promovem maior acúmulo de água nas camadas superficiais, difusão adequada de O<sub>2</sub>, formação de agregados e mitigação da erodibilidade do solo (CANELLAS et al., 2001). As SH também favorecem a manutenção e diversidade da microbiota, o que pode influenciar positivamente o sistema radicular das plantas no estabelecimento de condições ideais de exploração do solo (CALVO et al., 2014).

Diante disso, o emprego de bioestimulantes a base de SH tem sido cada vez mais recorrente, objetivando-se promover fertilidade no solo e constituição nutricional adequada nas safras. Além do mais, grande parte dos produtores não dispõe de tecnologias de aplicação que adicionem SH no ato de semeadura, o que justifica a utilização de aplicação foliar neste experimento. Simultaneamente, muito se questiona sobre a interação entre bioestimulantes e fertilizantes aplicados em cobertura, principalmente os que suprem demandas por micronutrientes, cuja forma de aplicação é na maioria dos casos através de pulverização foliar.

No contexto geopolítico e de alterações climáticas globais, as SH podem constituir uma alternativa para a redução da dependência de fontes não renováveis de fertilizantes minerais sob ameaça de escassez. A crise no abastecimento de fertilizantes minerais em 2022, decorrente da pandemia de COVID-19 e concentração mundial da extração e produção de fertilizantes, constitui um exemplo da dependência agrícola brasileira das fontes mencionadas.

Objetivou-se com este trabalho estudar a aplicação de SH, na semeadura e pulverização foliar, sobre o desempenho ecofisiológico do milho, analisando variáveis do metabolismo primário e de trocas gasosas das plantas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Desenvolveu-se um ensaio em casa de vegetação durante o período de 03/07/2021 a 12/10/2021 no departamento de agronomia da UFV (20°45'14" e 42°52'53" W), município de Viçosa - MG. A altitude da região é de cerca de 650 m e o município apresenta clima Cwa - tropical de altitude (método de Köppen Geiger). Nesse período, foram realizadas leituras diárias de temperatura (T °C) e umidade relativa do ar (UR) utilizando-se higrômetro digital (7666.02.0.00 - INCOTERM®).

Adotou-se delineamento experimental de blocos ao acaso com seis repetições, em esquema fatorial (2 x 4), totalizando 48 unidades experimentais. Foram testados dois fatores, o primeiro envolvendo a aplicação de SH na semeadura (utilização ou não utilização de SH na semeadura) e o segundo tomando a pulverização foliar (pulverização foliar com SH, pulverização foliar com micronutrientes, pulverização foliar com SH e micronutrientes, e controle – aplicação de água deionizada). Considerou-se cada parcela como um vaso de capacidade para 25 L de substrato com uma planta de milho.

O substrato para cultivo foi formado por uma combinação entre Latossolo Vermelho Distrófico (SANTOS et al., 2018) e areia lavada, na proporção de 70% e 30%, respectivamente. A adição da areia objetivou facilitar a remoção das raízes durante a avaliação. Anteriormente ao preparo do substrato, o solo foi seco ao ar, destorroado e corrigido com calcário dolomítico (1,44 t ha<sup>-1</sup> - 90% de PRNT). Para isso, o solo foi armazenado em sacos de rafia durante 60 dias, período em que se realizou umedecimento e homogeneização diários para uma adequada reatividade do calcário com o solo.

O substrato obtido apresentou a seguinte composição granulométrica (g kg<sup>-1</sup>): argila – 434; silte – 63; areia fina – 265; e areia grossa – 238 (ALMEIDA et al., 2012). Quanto aos atributos químicos, o substrato apresentou o seguinte perfil: pH (H<sub>2</sub>O) – 5,34; Ca – 1,17 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg – 0,21 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al – 0,14 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> - Extrator KCl 1 mol L<sup>-1</sup>); P – 0,08 mg dm<sup>-3</sup>; K – 50,40 mg dm<sup>-3</sup>; Fe – 23,18 mg dm<sup>-3</sup>; Zn – 1,81 mg dm<sup>-3</sup>; Mn – 7,2 mg dm<sup>-3</sup>; Cu – 23,55 mg dm<sup>-3</sup> (P, K, Fe, Zn, Mn e Cu – Extrator Mehlich 1); H + Al – 2,77 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0); CTC<sub>pH7</sub> – 4,28 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V (%) - 35,28; e M.O - 1,47 dag kg<sup>-1</sup> (C. Org x 1,724).

A fonte de SH utilizada foi o bioestimulante SH-24-0 Lottus (Biosoluções<sup>®</sup>), composto por 28,5% de carbono orgânico total, dos quais 6,35% são de ácido húmico e 1,6% de ácido fúlvico. Para a adubação foliar com micronutrientes foi utilizado o formulado Agrumax MZ - Biolchim<sup>®</sup> (composto por 1% de B; 0,2% de Fe; 0,1% de Cu; 10% de Zn, 10% de Mn; 10,8% de S e 12% de N em forma amídica). A dose de bioestimulante utilizada na semeadura foi de 15 L ha<sup>-1</sup>, enquanto na pulverização foliar foi de 1 L ha<sup>-1</sup>, segundo adaptação de Paiva (2020). Para a pulverização foliar com micronutrientes, a dose adotada do formulado foi de 2 kg ha<sup>-1</sup>, seguindo a recomendação do fabricante. Nos tratamentos que combinaram SH e micronutrientes foram utilizadas as mesmas doses empregadas nos tratamentos contendo apenas um produto, e para o tratamento controle houve pulverização com água deionizada.

Seguindo as recomendações de Alves et al. (1999), na adubação das plantas foi utilizada uréia (45 kg ha<sup>-1</sup>), superfosfato triplo (295 kg ha<sup>-1</sup>) e cloreto de potássio (300 kg ha<sup>-1</sup>), sendo

todas as doses calculadas em proporção ao volume do vaso, incluindo a dose total de cloreto de potássio, que foi dividida e aplicada na semeadura e em cobertura juntamente à uréia (400 kg ha<sup>-1</sup>) no estágio V4 das plantas - quatro folhas completamente expandidas.

As sementes de milho utilizadas foram do híbrido SHS 7939 PRO 2, de ciclo superprecoce, grão semiduro e cor alaranjada. Semeou-se 3 sementes por vaso e, sucedidos 10 dias após a germinação, efetuou-se o desbaste para continuidade do cultivo de uma planta em cada vaso. A pulverização foliar com o bioestimulante SH-24-0 Lottus e o fertilizante Agrumax MZ foi realizada no estágio V5 (cinco folhas expandidas) utilizando pulverizador de CO<sub>2</sub> calibrado para vazão constante de 0,693 L min<sup>-1</sup> (4,0 bar). No ato da pulverização foliar, os vasos foram separados e sinalizados por tratamento para a prevenção de efeito da deriva.

A irrigação foi aplicada de modo a repor a taxa de evapotranspiração de cultura (ET<sub>c</sub>) diária, estimada segundo a evapotranspiração de referência (ET<sub>o</sub> - método de Penman-Montheith), obtida com dados fornecidos por uma estação meteorológica situada próximo ao local de cultivo, e do coeficiente de cultivo (K<sub>c</sub>) adotado no cultivo de milho (ALLEN et al., 1998). A lâmina líquida total aplicada foi de 470 mm, esse número variou diariamente (3,50 – 5,25 mm) conforme as fases da cultura, para isso, utilizou-se sistema de irrigação localizada através de gotejamento.

As avaliações foram executadas no estágio R2 – grão bolha d'água, tomando-se variáveis ecofisiológicas e bioquímicas das plantas. As variáveis ecofisiológicas incluíram a concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>), a condutância estomática (g<sub>s</sub>), a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), a transpiração (E), a eficiência do uso da água (EUA) e a eficiência de carboxilação (EC). Em relação às variáveis bioquímicas, foram estimados os carboidratos solúveis totais (CST), açúcares redutores (AR), amido (AM) e proteínas solúveis totais (PST).

As variáveis ecofisiológicas foram obtidas utilizando-se IRGA (LI-6400XT, LI-COR<sup>®</sup>), sendo este modelo de sistema aberto, através do qual 75% do ar são direcionados para a câmara foliar e 25% utilizados como ar de referência. O fator de luminosidade do aparelho foi ajustado para 1500 mols m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e avaliou-se sequencialmente as parcelas pertencentes a um bloco de cada vez, para que o efeito da variação das condições climáticas no decorrer da manhã se restringisse apenas aos blocos. As medições foram realizadas entre 7h e 10h, tendo como ponto de medição a terceira folha completamente expandida abaixo da folha bandeira.

Para obtenção das variáveis bioquímicas, foram coletadas amostras da porção mediana das mesmas folhas utilizadas para a análise de trocas gasosas. Desse material vegetal, pesou-se 1 g e depositou-se sobre ele etanol fervente (80% a 60 – 70 °C) para a trituração da amostra em Politron e centrifugação (10 min a 2.000 rpm), em seguida, igualou-se em todas as amostras o

volume com água destilada e separou-se o pellet seco para a quantificação de amido. Essas amostras foram armazenadas sob temperatura de 4 °C para posterior quantificação de CST, AR e AM através da leitura em espectrofotômetro a 490nm, 540nm e 490nm, respectivamente (DUBOIS et al., 1956; GONÇALVES et al., 2010; McCREADY et al., 1950).

Para a quantificação das PST, condicionou-se 0,5 g de cada amostra foliar em nitrogênio líquido e em sequência foram utilizados os tampões fosfato de potássio (0,1 mol L<sup>-1</sup>), EDTA (0,1 mmol L<sup>-1</sup>), PMSF (1 mmol L<sup>-1</sup>) e PVPP (1%), para que se realizasse a filtração e centrifugação (15 min a 12.000 rpm) do extrato e a coleta do sobrenadante a fim de, após o preparo das soluções componentes da curva padrão, proceder-se a leitura em espectrofotômetro a 595nm (BRADFORD, 1976).

A partir dos resultados obtidos, averiguou-se a conformidade do conjunto de dados aos pressupostos estatísticos de distribuição normal, homogeneidade das variâncias e homoscedasticidade. Em seguida, executou-se a análise de variância (ANAVA) e comparação das médias por teste de tukey ( $\alpha = 0,05\%$ ) mediante a utilização do software R (R CORE TEAM, 2022).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas emergiram nos vasos em até 14 dias, nesse período e no decorrer do cultivo, as médias de temperatura (13,3 °C e 26,6 °C – T °C mínima e máxima, respectivamente) e UR (75,9%) mensuradas na casa de vegetação são consideradas ideias para o cultivo de milho (GADIOLI et al., 2000).

Todas as variáveis ecofisiológicas apresentaram aumento como produto da aplicação de SH na sementeira, exceto EUA e EC, sendo que as variáveis *A* e *E* responderam à interação dos dois fatores, aplicação de SH na sementeira e pulverização foliar. Analogamente, a interação dos fatores exerceu influência sobre as variáveis bioquímicas, exceto a variável AR, cuja variação se deu em resposta aos dois fatores de modo isolado (Tabela 1).

**Tabela 1** – Resumo da análise de variância para variáveis ecofisiológicas e bioquímicas de plantas de milho no estágio R2.

F.V	A	E	gs	Ci	EUA
Aplicação na semeadura (AS)	155,65**	3,53**	0,11**	23147**	0,05 <sup>ns</sup>
Aplicação Foliar (AF)	58,24**	1,55**	0,02 <sup>ns</sup>	1858,33 <sup>ns</sup>	0,81 <sup>ns</sup>
AS x AF	63,91**	0,65*	0,02 <sup>ns</sup>	665,33 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>
Resíduo	6,95	0,21	0,00	749,17	0,44
Média	29,57	4,30	0,35	252,37	6,92
C.V (%)	8,92	10,68	28,57	10,85	9,6

F.V	EC	CST	AR	AM	PST
Aplicação na semeadura (AS)	0,00 <sup>ns</sup>	7,96**	4,04**	78,26**	41,76**
Aplicação Foliar (AF)	0,00 <sup>ns</sup>	3,70**	1,20*	1,43**	1,47**
AS x AF	0,00 <sup>ns</sup>	0,67*	0,35 <sup>ns</sup>	10,34**	0,72**
Resíduo	0,00	0,16	0,47	0,52	0,12
Média	0,12	5,75	3,64	10,35	5,76
C.V (%)	11,32	6,95	18,89	6,14	6,07

Valores seguidos de \*\* são considerados significantes pelo teste F ( $\alpha = 0,01\%$ ); Valores seguidos de \* são considerados significantes pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ); Valores seguidos de <sup>ns</sup> não são considerados significantes pelo teste F.

### 3.1 Variáveis ecofisiológicas

A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) se mostrou responsiva à interação entre a aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar, sendo observados maiores valores no tratamento relacionando aplicação de SH na semeadura e na pulverização foliar (T7), de modo que nos tratamentos nos quais houve aplicação de SH na semeadura, verificou-se incremento de 25,72% na variável  $A$  com relação aos menores valores observados (T5) (Figura 1a). Os valores expressos pelo grupo de tratamentos que não receberam aplicação de SH na semeadura (T1 à T4) foram estatisticamente iguais entre si, apresentando diferença insignificante (Figura 1a).

O processo de fixação de CO<sub>2</sub> na fotossíntese provém cerca de 90% da biomassa seca do milho (CRUZ et al., 2011; DURÃES et al., 2003), e ainda que a produtividade da cultura apresente certa complexidade, não dependendo exclusivamente do processo fotossintético, sabe-se que ele figura como um mecanismo central para a obtenção de bons rendimentos. O milho apresenta-se como uma espécie que demonstra alta eficiência na assimilação da energia luminosa e posterior conversão em biomassa, normalmente exibindo taxas superiores a 60,0  $\mu\text{mol CO}_2$  (BERGAMASCHI et al., 2004), o que corresponde a valores acima dos obtidos neste estudo, provavelmente em virtude do estágio fenológico avançado no qual se encontrava a cultura no momento da avaliação.

Em virtude de sua natureza bioquímica, composta por vários grupos funcionais bioreativos com potencial de otimizar o processo fotossintético, as SH aplicadas via pulverização foliar podem aumentar a concentração de clorofila nas folhas, otimizando esse processo (PFLUGMACHER et al., 2006). O efeito da SH aplicado via foliar não foi tão proeminente no tratamento combinando a substância com micronutrientes em relação ao tratamento utilizando SH isoladamente, provavelmente em razão das interações químicas que induzem a formação de quelatos entre grupos funcionais das SH e diversos metais (CANELLAS; SANTOS, 2005), de modo que houve neutralização parcial da reatividade da SH e dos micronutrientes aplicados.

Mesmo assim, Mohamed et al. (2017) verificaram que o tratamento com ácido húmico aplicado isoladamente via pulverização foliar proporcionou aumentos de 42,30% e 36,23% em  $A$  nos cultivares SC Pioner 30K09 e T.W.C.-310 de milho, paralelamente aos resultados obtidos em plantas que não receberam nenhuma aplicação. A condutância estomática ( $g_s$ ) expressa a quantidade de gás CO<sub>2</sub> que adentra a folha através dos estômatos por unidade de tempo, essa

variável sofreu influência somente da aplicação de SH na semeadura, que proporcionou aumento de 25% em contraste às plantas não submetidas a essa condição (Figura 2a). Trata-se de uma variável bastante complexa, e portanto muito sensível às características ambientais e diversos estresses (SANTOS et al., 2009).

A alteração no valor da  $g_s$  é mediada pela variação no grau de abertura estomática e o principal fator responsável por essa transição é o déficit de pressão de vapor (DPV) resultante entre a diferença dessa variável na atmosfera e dentro da folha (RYAN et al., 2016). A diminuição da abertura estomática provoca redução direta na taxa de fotossíntese através do menor aporte de  $CO_2$  oriundo dessa interação (SANTOS et al., 2009). Além do DPV, o grau de abertura estomática em plantas de milho está relacionado também à sinalização bioquímica resultante do déficit hídrico no solo. Nessa condição, as plantas respondem fisiologicamente aumentando o aporte radicular de ácido abscísico para transportá-lo às folhas, sendo esse mecanismo uma sinalização bioquímica que indica restrição hídrica (LISAR et al., 2012) e, a partir da tradução desse sinal, as células-guarda promovem a redução da  $g_s$  através de seu fechamento para que se reduza a transpiração.

Dessa forma, SH aplicadas na semeadura podem atuar como uma estratégia eficaz em períodos de restrição hídrica no solo, mitigando os efeitos desse estresse e minimizando a redução na assimilação de  $CO_2$  nos compartimentos foliares. Embora neste trabalho não foi observado nenhum efeito da adubação foliar sobre a  $g_s$ , Mohamed et al. (2017) reportaram aumentos de mais de 40% e 47% na  $g_s$  dos cultivares de milho SC Pioner 30K09 e T.W.C.-310, respectivamente, quando houve aplicação de ácido húmico via pulverização foliar comparativamente às plantas que não receberam nenhuma aplicação.

Para a variável transpiração ( $E$ ), os maiores valores foram obtidos nos tratamentos contendo aplicação de SH na semeadura, com destaque para os tratamentos envolvendo essa primeira condição e pulverizações foliares com SH (T7) e SH + Micronutrientes (T8), para os quais não houve diferença significativa. Comparativamente ao tratamento onde foram expressos os menores valores de  $E$  (T5) dentre os que receberam aplicação de SH, a diferença observada entre a melhor performance (T7) e essa última foi de 19,76% (Figura 1b). No grupo onde não houve aplicação de SH na semeadura, não observou-se diferença estatística entre os tratamentos, sendo expressas médias de valores muito similares entre si.

Caracteriza-se como transpiração a perda de água sob forma de vapor através das folhas, sendo um fenômeno importante para o arrefecimento da camada de ar limítrofe foliar e que regula as relações hídricas vegetais, constituindo-se como um processo essencial para a hidratação das plantas (TAIZ & ZEIGER, 2008; LOPES & LIMA, 2015). Sob aplicação de SH

na semeadura e na pulverização foliar, as plantas de milho transpiraram mais, o que viabilizou maior absorção hídrica pelas raízes, e ainda que para a maioria das espécies, menos de 5% do conteúdo de água absorvido pelas raízes seja usado para o crescimento da cultura (PRAKASH; RAMACHANDRAN, 2000), isso pode se traduzir em maiores quantidades de CO<sub>2</sub> fixado para utilização no processo fotossintético, resultando em maior síntese de fotoassimilados e maior eficiência na manutenção das reações metabólicas.

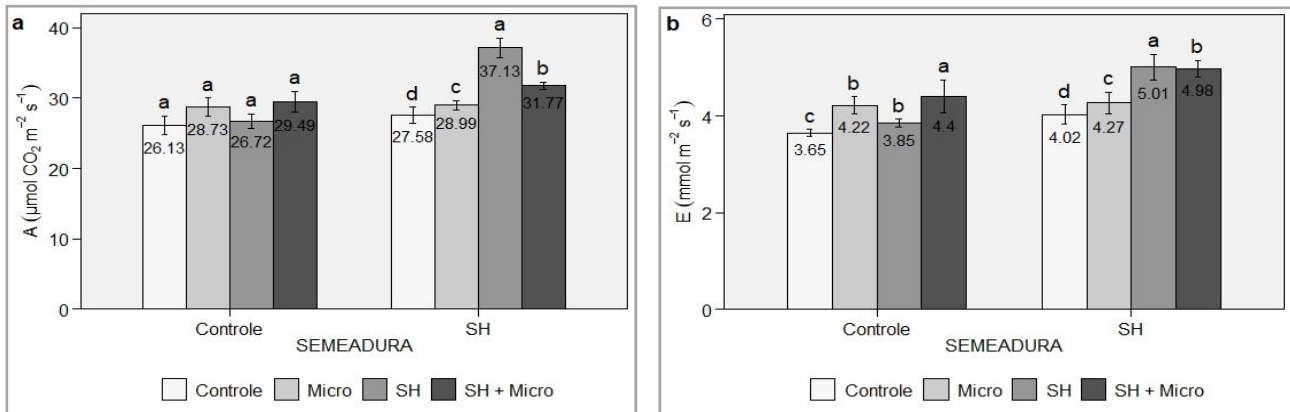
Em relação às pulverizações foliares, as aplicações de SH têm demonstrado influenciar bastante nessa característica, embora o mecanismo não seja tão elucidado e tenham sido observados aumentos e diminuições na transpiração foliar (ROSE et al., 2014). Mohamed et al. (2017) também verificaram aumentos de 42,18% e 36,13% na *E* dos cultivares de milho SC Pioneer 30K09 e T.W.C.-310, respectivamente, com a aplicação foliar de ácido húmico em relação aos mesmos cultivares sem nenhuma aplicação.

A concentração interna de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*) foi alterada apenas devido à aplicação de SH na semeadura, e o incremento nessa variável foi de aproximadamente 16% em relação às plantas sem aplicação (Figura 2b). A *C<sub>i</sub>* da câmara estomática é em grande parte afetada pela *g<sub>s</sub>*, e é alterada principalmente quando os níveis de *g<sub>s</sub>* caem para valores próximos à zero (RODRIGUES et al., 2012), nesse sentido, os valores médios de *C<sub>i</sub>* e *g<sub>s</sub>* para os níveis do fator aplicação de SH na semeadura foram consonantes. Como vantagem evolutiva, o milho apresenta a chamada anatomia kranz no interior de suas folhas, cuja morfologia proporciona uma maior eficiência na aquisição de CO<sub>2</sub> interno nas folhas e torna o processo de fotorrespiração irrisório (LOPES; LIMA, 2015).

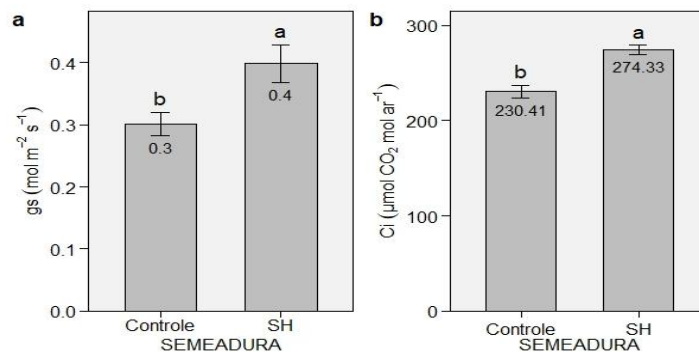
De modo geral, a *C<sub>i</sub>* é maior nos estádios iniciais das culturas, tendo em vista que nessa fase as camadas celulares apresentam maior espaço intercelular e menor densidade, de modo que dispõem de maior capacidade para acumular CO<sub>2</sub>, em contrapartida, nas fases sucessivas a densidade celular é maior nos tecidos foliares, resultando numa diminuição da capacidade de armazenar CO<sub>2</sub> nesses espaços (TAIZ; ZEIGER, 2008). Incrementos similares de 9,5% e 11,20% foram obtidos na *C<sub>i</sub>* dos cultivares de milho SC Pioneer 30K09 e T.W.C.-310, respectivamente, com a aplicação de ácido húmico via pulverização foliar, em divergência aos resultados alcançados sem essa aplicação (MOHAMED et al., 2017).

Não houve variação da eficiência instantânea de carboxilação (EC) e eficiência do uso da água (EUA) decorrente de nenhum dos fatores envolvidos neste estudo. A eficiência do uso da água consiste no potencial fotossintético da planta considerando a transpiração, ou seja, estima-se através da razão entre as variáveis *A* e *E* na folha, já a eficiência instantânea de carboxilação (EC) refere-se à razão entre *A* e *C<sub>i</sub>* na folha.

**Figura 1.** Efeito de SH aplicada na sementeira e pulverização foliar sobre trocas gasosas de plantas de milho - Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (a) e Transpiração (b). Os valores referem-se à média ± erro padrão dos tratamentos; letras minúsculas relacionam-se à comparação entre níveis de pulverização foliar nas mesmas condições de sementeira (p<0,05).



**Figura 2.** Efeito de SH na sementeira sobre trocas gasosas de plantas de milho - *g<sub>s</sub>* (a) e *C<sub>i</sub>* (b).



### 3.2 Variáveis bioquímicas

As plantas de milho apresentaram um teor de carboidratos solúveis total (CST) responsivo à interação entre os dois fatores testados. A aplicação de SH na sementeira resultou em maiores valores de CST, e combinada à pulverização foliar com SH, o tratamento (T7) proporcionou incremento de cerca de 18,28% em relação ao T5, cuja aplicação de SH na sementeira foi combinada com pulverização foliar apenas contendo água deionizada (Figura 3a). Nos tratamentos onde não houve utilização de SH na sementeira, o teor de carboidratos solúveis foi maior no tratamento cuja pulverização foliar foi realizada com SH (T3), seguido

do tratamento contendo pulverização foliar com SH + Micronutrientes (T4), ambos sobrepondo-se sobre os demais tratamentos (T1 e T2) (Figura 3a).

Os carboidratos solúveis totais classificam-se em açúcares redutores e não redutores, essa classificação está relacionada à capacidade dos açúcares de reduzir íons catiônicos de Fe ou Cu em soluções alcalinas a partir de grupos funcionais aldeídos ou cetonas presentes em sua constituição. Os açúcares redutores possuem esses grupos funcionais e são dotados dessa capacidade redutora, enquanto os não redutores não são capazes de reduzir sais, de modo que para a quantificação em CST deve-se realizar a hidrólise dessas moléculas para a ruptura das ligações glicosídicas e formação dos açúcares redutores (SILVA et al., 2003).

Os CST desempenham grande importância para a regulação osmótica dos tecidos vegetais, além disso, a dinâmica das relações hídricas em plantas está bastante relacionada com a dinâmica dos carboidratos. Ademais, o teor de carboidratos solúveis está diretamente relacionado a condicionantes ambientais (temperatura, por exemplo) e associa-se a mecanismos de adaptação de plantas e ao próprio metabolismo primário destas, exercendo funções vitais que permitem o seu crescimento, desenvolvimento e reprodução, possibilitando assim a perpetuação do ciclo das espécies vegetais (RAVEN et al., 2001; BUCKHOUT; TUBBE, 1996). No processo de maturação dos grãos de milho, a formação de amido ocorre a partir da conversão de grande parte dos açúcares livres, sendo o maior percentual do grão composto por esse polissacarídeo, cerca de 72% (KAYS, 1991; PAES, 2006), daí a importância de um conteúdo adequado de CST na folha para a manutenção do metabolismo e produção de assimilados para o suprimento dessa demanda.

Em relação ao teor de açúcares redutores (AR), houve diferença atribuída ao efeito dos dois fatores isoladamente. A aplicação de SH na semeadura proporcionou aumento de quase 15% nesses açúcares em plantas tratadas com SH na semeadura em comparação às plantas que não receberam aplicação (Figura 3c). Por outro lado, a pulverização foliar com SH proporcionou acréscimo de mais de 17% no teor de açúcares em plantas de milho comparadas às plantas que receberam pulverização de água deionizada (Figura 3d). Os açúcares redutores são principalmente representados pela frutose e glicose, enquanto os não redutores têm como maior representante a sacarose, cuja mobilidade é orientada pela relação fonte-dreno (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Apesar do conteúdo de açúcares redutores apresentar natureza não estrutural nas folhas, posteriormente, esses carboidratos desempenham importante função constituinte do grão de milho, de modo que essa composição é maior nos primeiros estádios e tende a decrescer no decorrer do processo de maturação (CANIATO, 2007). Os açúcares redutores representam um

percentual dos carboidratos solúveis totais bastante relacionados com a palatabilidade dos grãos, dessa forma, o balanço adequado entre amido e esses açúcares determina, além do sabor, a finalidade da produção (PARENTONI et al., 1990; MATOS et al., 2000).

Como mencionado, ao decorrer do ciclo de maturação os açúcares são gradualmente convertidos em amido, e isso determina em grande parte o destino da produção, natureza da matéria-prima, público alvo etc. Para culturas como a do milho verde, cuja produção é predominantemente destinada ao consumo in natura, o conteúdo de açúcares representa um importante atributo de qualidade, especialmente os redutores, visto que a característica dulcificada do produto fresco é relacionada ao teor de açúcares livres e da proporção entre AR e CST (BRAZ et al., 2008; CANIATO, 2007).

O teor de amido (AM) também foi responsivo à interação entre os fatores. Os tratamentos contendo aplicação de SH na semeadura proporcionaram maiores teores, com destaque para o T7 (aplicação de SH na semeadura e em pulverização foliar) e T8 (aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar com SH + Micronutrientes), sendo o primeiro responsável pelo maior teor de amido, seguido pelo segundo tratamento. Observou-se média de AM 30,25% maior em T7 e 16,21% maior em T8 quando comparadas à média exibida por T5, por outro lado, todos os demais tratamentos adotados exibiram médias indiferentes entre si (Figura 3b).

Apesar da análise tomada em nível foliar, ressalta-se que o maior aporte desse polissacarídeo nas plantas tratadas com SH, na semeadura e pulverização foliar, indica maior potencial de desenvolvimento vegetativo em razão da capacidade de mobilização de reservas e, em decorrência disso, maior potencial de produção de grãos.

O amido atua como um importante carboidrato de reserva, cuja finalidade se dá em grande parte para a síntese de sacarose, que constitui o principal produto da hidrólise desse polissacarídeo e principal açúcar de transporte para os drenos das plantas em crescimento (MARTIN, 2003). Nos grãos em estádios avançados de maturação ou nos grãos colhidos, o amido representa o componente bioquímico mais abundante, daí a utilização de grãos nessa condição na preparação de alimentos como mingau, angu e pamonha, por outro lado, utiliza-se grãos mais novos para o consumo de milho em saladas e outras formas in natura, justamente dada a menor acumulação de amido (MATOS et al., 2000).

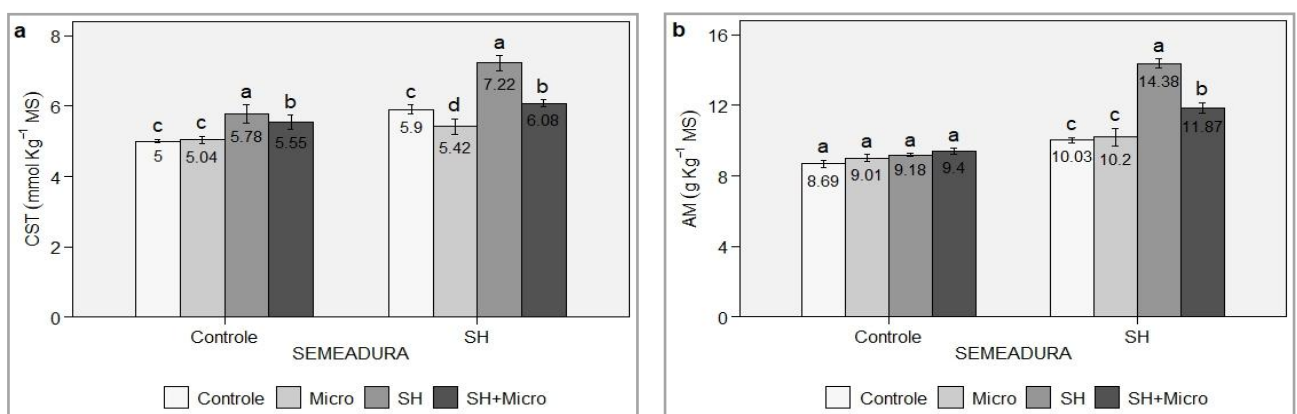
A variável proteínas solúveis totais (PST) foi responsiva à interação entre os fatores. De modo geral, os tratamentos envolvendo aplicação de SH na semeadura proporcionaram maiores teores proteicos na folha, especialmente o tratamento conjugando SH na semeadura e pulverização foliar (T7), cujo aumento em PST foi de 10,97% em relação ao T5, os demais

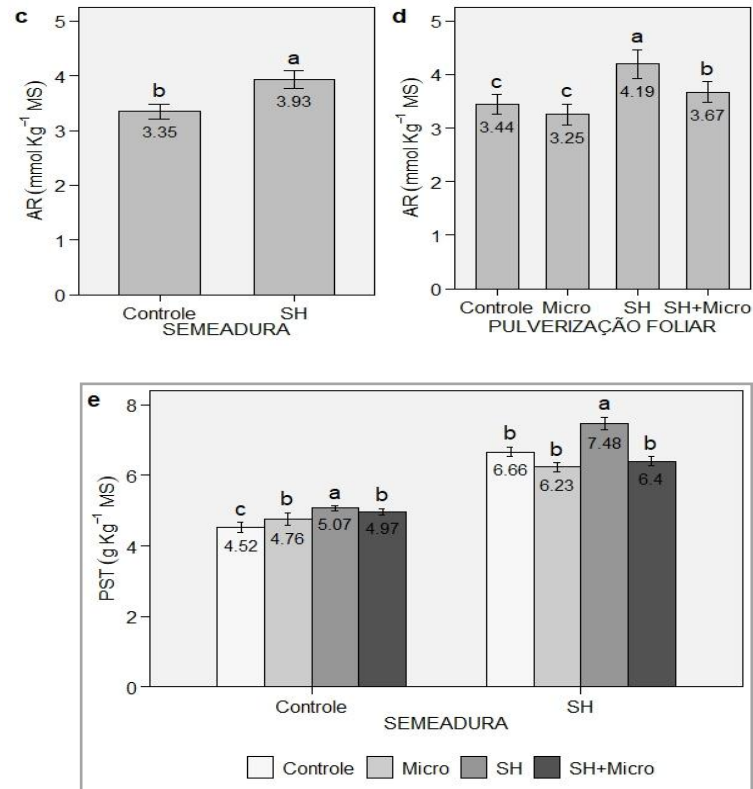
tratamentos desse grupo exibiram teores iguais da variável (Figura 3e). Em relação aos tratamentos com semeadura sem utilização de SH, também se observou superioridade na média do tratamento que dispôs de pulverização foliar com SH (T4), nesse caso, houve aumento de 10,85% na variável em comparação ao T1 (Figura 3e).

O incremento nos níveis foliares de proteínas através de tratamento com SH, principalmente na semeadura, pode ser atribuído à melhora no metabolismo de nitrogênio nas plantas, cuja essencialidade está relacionada à constituição de aminoácidos, proteínas, enzimas e nucleotídeos. Essa relação de aprimoramento na absorção e/ou assimilação de N atribuída ao uso de SH foi documentada em plantas de cevada (*Hordeum vulgare*), nessa cultura, a resposta positiva deu-se em razão do maior acesso das plantas ao  $\text{NO}_3^-$  (PICCOLO et al., 1992; ALBUZIO et al., 1986).

Um estudo transcriptômico abordando a interação entre *Arabidopsis thaliana* e SH permitiu a constatação de que as SH favorecem alguns processos celulares, alterando positivamente a transcrição genética para a codificação de proteínas envolvidas na formação e organização do meristema, ciclo celular, citocinese, entre outros (TREVISAN et al., 2010). Além disso, através da aplicação de SH, presume-se que o acréscimo no teor de proteínas do tecido foliar resulte não somente numa melhora do metabolismo primário nas plantas, mas também do secundário. Isso pode ter relação com a translocação floemática envolvendo diversos tipos protéicos como, por exemplo, proteínas relacionadas à obstrução de vasos em situações de dano, ubiquitina (degradação de proteínas), chaperonas (dobramento de proteínas), tioredoxina, inibidores de proteases e proteínas quinases (KERBAUY, 2019).

**Figura 3.** Efeito de SH, aplicada na semeadura e pulverização foliar, sobre metabólitos de plantas de milho - CST (a), AM (b), AR (c – d) e PST (e). Os valores referem-se à média  $\pm$  erro padrão dos tratamentos; letras maiúsculas relacionam-se à comparação entre níveis de pulverização foliar em condições distintas de semeadura ( $p < 0,05$ ); letras minúsculas relacionam-se à comparação entre níveis de pulverização foliar nas mesmas condições de semeadura ( $p < 0,05$ ).





#### 4 CONCLUSÕES

A utilização de produtos contendo substâncias húmicas, especialmente na sementeira, tende a estimular muitas vias do metabolismo primário das plantas de milho, incluindo trocas gasosas e síntese de macro constituintes vegetais, como proteínas e carboidratos. Adicionalmente, a aplicação de SH via pulverização foliar mostra-se como uma estratégia bastante promissora em potencializar ganhos advindos do manejo na sementeira, porém, pode apresentar baixa eficiência quando aplicada em conjunto com fontes de micronutrientes. Isso sugere a condução de novos estudos, tomando-se outras fontes de micronutrientes e tratamentos, para validação dessas tendências.

## REFERÊNCIAS

- ALBUZIO, A.; FERRARI, G.; NARDI, S. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 66, n. 4, p. 731 – 736l, 1986.
- ALLEN, R. G. et al. **Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements**. FAO Irrigation and Drainage Paper, n. 56, Rome, 1998.
- ALMEIDA, B. et al. **Padronização de métodos para análise granulométrica no Brasil**. Embrapa Solos: Rio de Janeiro, 2012. 11 p. (Comunicado técnico, 66)
- ALVES, V. M. C. et al. Sugestões de Adubação para Grandes Culturas Anuais ou Perenes. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5a. aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 314-316.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248 – 254, 1976.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades do solo**. 3ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 686 p.
- BRAZ, R. F. et al. Teor de amido em espigas de milho-verde mantidas em diferentes condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 7, n.1, p. 69-75, 2008.
- BERGAMASCHI, H. et al. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 831-839, 2004.
- BUCKHOUT, T. J.; TUBBE, A. **Structure, mechanisms of catalysis, and regulation of sugar transporters in plants**. In: SAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. Photoassimilate distribution in plants and crops: sourcesink relationships. New York: Marcel Dekker, Inc, 1996. p. 229 – 260.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, p. 3-41, 2014.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A. **Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas**. UENF – Campos dos Goytacazes, 2005. 309 p.
- CANELLAS, L. P. et al. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, 2001.
- CANIATO, F. F. et al. Quantificação de açúcares solúveis totais, açúcares redutores e amido nos grãos verdes de Cultivares de milho na colheita. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1893-1896, 2007.

CARON, V. C.; GRAÇAS, J. P.; CASTRO, P. R. C. **Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, Série Produtor Rural, nº 58, 2015. 46 p.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA - GRÃOS SAFRA 2022/23**. 2º Levantamento, v. 20, n. 2, 2022.

CRUZ, J. C. et al. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Embrapa - Informação Tecnológica. Brasília – DF, 2011. 338 p.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

DURÃES, O. M. F. et al. Base fisiológica da relação entre rendimento final e fotossíntese em milho. In: Reunião Técnica Anual do milho, 48; Reunião técnica anual do Sorgo, 31. **Anais...** Porto Alegre: EMATER - RS: FEPAGRO, 2003.

GADIOLI, J. L. et al. Temperatura do ar, rendimento de grãos de milho e caracterização fenológica associada à soma calórica. **Scientia Agricola**, v.57, n.3, p.377-383, 2000.

GONÇALVES, C. et al. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. **Analytical Methods**, v. 2, p. 2046-2048, 2010.

KAYS, E. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: V. N. Reinhold, 1991. 532 p.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. 420 p.

LISAR, S. Y. S. et al. **Water stress in plants: Causes, effects and responses**. In: Rahman, I. M. M. (ed.) Water stress. Rijeka: INTECH, 2012. p.1-14.

LOPES, N. F.; LIMA, M. G. S. **Fisiologia da Produção**. Viçosa – MG: Ed. UFV, 2015. 492 p.

MARTIN, S. A. **Pulverização do cafeeiro com açúcar: potencial de uso em mudas submetidas à deficiência hídrica e na recuperação de plantas atingidas por Glyphosate**. 2003. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – UFLA, Lavras.

MATOS, M. J. L. F. et al. Milho verde. **Correio Brasiliense**. Brasília, 2000. Suplemento Especial.

McCREADY, R. M. et al. Determination of starch and amylose in vegetables. **Application to peas**. **Analytical Chemistry**, v. 22, p.1156- 1158, 1950.

MOHAMED, E. I.; FAYZA A. F.; HUDA, M. M. Responses of maize crop (*Zea mays* L.) to foliar spraying with humic acid at different nitrogen levels. **Journal of Environmental Studies**, v. 16, p. 55-74, 2017.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagos, MG: 2006. 6 p. (Circular técnica, 75)

- PAIVA, M. J. A. **Ação e modo de aplicação dos ácidos húmicos e fúlvicos sobre características morfológicas e fisiológicas de milho.** Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa - UFV. Viçosa, 46 p. 2020.
- PARENTONI, S. N. et al. Milho doce. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, n. 165, p. 17- 22, 1990.
- PFLUGMACHER, S. et al. Dissolved natural organic matter (NOM) impacts photosynthetic oxygen production and electron transport in coontail *Ceratophyllum demersum*. **Science of the total environment**, v. 357, p. 169 – 175, 2006.
- PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 373 – 380, 1992.
- PRAKASH, M.; RAMACHANDRAN, K. Effects of chemical ameliorants on stomatal frequency and water relations in brinjal (*Solanum melongena* L.) under moisture stress conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 185, n. 4, p. 237 – 239, 2000.
- RODRIGUES, L. F. O. S. et al. Trocas Gasosas em Milho Inoculado com *Azospirillum* brasilense e Submetido ao Déficit Hídrico. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. **Anais...** Águas de Lindóia – SP, 2012.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Ed, Guanabara Koogan S.A., 2001. 906 p.
- ROSE, M. T. et al. In: A Meta-Analysis and Review of Plant-Growth Response to Humic Substances: Practical Implications for Agriculture. **Advances in Agronomy**, v. 124, p. 37 – 89, 2014.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022.
- RYAN, A. C. et al. Gravimetric phenotyping of whole plant transpiration responses to atmospheric vapour pressure deficit identifies genotypic variation in water use efficiency. **Plant Science**, v. 251, p.101-109, 2016.
- SANTOS, H. G. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. Ed. DF: Embrapa, 2018. 356 p.
- SANTOS, M. G. et al. Photosynthetic parameters and leaf water potential of five bean genotypes under mild water déficit. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 53, n. 2, p. 229 - 236, 2009.
- SILVA, C. A.; MACHADO, P. L. O. A. Sequestro e emissão de carbono em ecossistemas agrícolas: Estratégias para o aumento dos estoques de matéria orgânica em solos tropicais. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2000. 23p. (Documentos, 19)
- SILVA, R. N. et al. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Food Science and Technology**, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 820 p.

TISDALE, S. L. et al. **Soil fertility and fertilizer**. New York: MacMillan, 1993. 1634 p.

TREVISAN, S. et al. Humic substances biological activity at the plant-soil interface. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 6, p. 635 -643, 2010.

## SUBSTÂNCIAS HÚMICAS APLICADAS NA SEMEADURA E EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR MELHORAM A TOLERÂNCIA DO MILHO AO DÉFICIT HÍDRICO

### RESUMO

A alteração dos padrões climáticos globais tem impulsionado esforços na busca por soluções sustentáveis para a manutenção de safras, nesse contexto, inclui-se a cadeia de produção brasileira do milho. As substâncias húmicas (SH) são compostos derivados da decomposição da matéria orgânica do solo e possuem grande potencial de mitigar os efeitos causados pelo déficit hídrico em plantas de milho. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito das SH no desenvolvimento do milho sob condições de déficit hídrico. Conduziu-se um ensaio em casa de vegetação utilizando delineamento de blocos ao acaso com 6 repetições, em esquema fatorial (2 x 4), perfazendo 48 unidades experimentais, onde cada unidade experimental correspondeu a uma planta de milho em um vaso. Foram impostas duas condições de umidade no solo (90% e 50% da CC) e quatro esquemas de aplicação de SH (SH aplicada na semeadura, SH aplicada em pulverização foliar, SH aplicada na semeadura e em pulverização foliar, e controle – sem aplicação de SH). As variáveis ecofisiológicas e bioquímicas analisadas foram: taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, transpiração, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub>, eficiência do uso da água, eficiência de carboxilação, carboidratos solúveis totais, aminoácidos livres totais e proteínas solúveis totais. As SH reduzem os efeitos deletérios do estresse hídrico nos atributos fisiológicos e bioquímicos do milho.

**Palavras-chave:** *Zea mays*; Bioestimulante; Ácido húmico; Trocas gasosas; Estresse hídrico.

## ABSTRACT

Brazil is one of the leading countries in corn production worldwide, however, this production chain faces increasingly recurring challenges, such as prolonged drought conditions or insufficient rainfall. This necessitates sustainable solutions for maintaining agricultural activity. Humic substances (HS) are derived from soil organic matter decomposition and induce significant improvements in soil fertility and plant nutrition, while also mitigating detrimental water stress effects. This study aimed to evaluate maize development under water deficit, analyzing HS application in mitigating these effects. An experiment was carried out in a greenhouse using a randomized block design (2x4 factorial) containing 6 replications, totaling 48 experimental units, where an experimental unit corresponded to a maize in a vase. Two soil moisture conditions were applied (90% and 50% field capacity), along with four HS application (HS applied at sowing, HS applied in foliar spraying, HS applied at sowing and foliar spraying, and control - no HS application). The ecophysiological and biochemical variables analyzed were CO<sub>2</sub> net assimilation rate ( $A$ ), transpiration ( $E$ ), stomatal conductance ( $g_s$ ), internal CO<sub>2</sub> concentration ( $C_i$ ), water use efficiency (EUA), carboxylation efficiency (EC), total soluble carbohydrates (CST), total free aminoacids (ALT), and total soluble proteins (PST). The results indicated a positive effect of HS application in mitigating the adverse water deficit impacts across all analyzed variables, demonstrating potential utilization of humic substances in such situations.

Keywords: *Zea mays*; Biostimulant; Humic acid; Gas exchange; Drought tolerance.

## 1 INTRODUÇÃO

O milho é um dos maiores protagonistas do agronegócio brasileiro, desempenhando relevância tanto no mercado interno quanto no externo. Atualmente, a produção de milho no Brasil destaca-se mundialmente. O cereal é destinado em sua maioria para a alimentação animal, mas também para consumo humano e fins industriais (CONAB, 2022).

O cultivo do milho é praticado em todo o Brasil, porém, é predominante no centro-oeste, sul e sudeste brasileiro. Essas regiões possuem condições climáticas favoráveis, solos adequados e infraestrutura agrícola desenvolvida, o que contribui para altos índices de produtividade. Além disso, a adoção de tecnologias modernas, como sementes geneticamente modificadas, fertilizantes e métodos de manejo mais eficientes, tem impulsionado o rendimento agrícola e o desenvolvimento das lavouras (DUARTE et al., 2015).

Dentre os cereais, o milho destaca-se como o terceiro mais cultivado mundialmente, mesmo exercendo enorme demanda hídrica e mostrando-se bastante suscetível à falta desse recurso, tido como um dos principais desafios enfrentados pela agricultura moderna (AYDINSAKIR et al., 2013), isso se mostra especialmente problemático em virtude das mudanças climáticas globais e afeta, principalmente os pequenos produtores rurais descapitalizados.

De modo geral, o estresse hídrico interfere no metabolismo das plantas, sucedendo diversos prejuízos como redução do crescimento vegetativo e da produção, alteração no desenvolvimento das raízes, aumento da suscetibilidade a pragas e doenças e déficit nutricional (FAROOQ et al., 2009).

Nesse sentido, considera-se a matéria orgânica do solo (MOS) um importante mitigador dos problemas associados à escassez de água, atuando por meio de vários mecanismos para a redução dos prejuízos acometidos às plantas: melhora da retenção iônica e hídrica na matriz do solo, adequada estrutura do solo, e estabelecimento da microbiota no sistema solo-planta.

Dentre as frações da matéria orgânica, o húmus ou substâncias húmicas (SH) do solo caracterizam-se pelo maior grau de decomposição e exercem papel de destaque na fertilidade dos ecossistemas agrícolas tropicais, o que contribui para a produção satisfatória das culturas mesmo em condições adversas (BRADY; WEIL, 2013). A fração húmus é segmentada em quatro grupos, dentre os quais os ácidos húmicos (AH) e fúlvicos (AF) representam os componentes mais estudados. Os AH constituem-se de cadeias com alta massa molecular e solubilidade mineral ou orgânica, além de apresentarem capacidade de troca catiônica (CTC)

inferior à fração AF, situada entre 350 e 500 meq 100 g<sup>-1</sup>. Os AF apresentam cadeias de menor massa molecular e solubilidade alcalina/ácida ou em água, com uma CTC na faixa de 700 a 1000 meq 100 g<sup>-1</sup>, apresentando maior reatividade que o primeiro grupo (CARON et al., 2015).

Os produtos derivados das SH do solo, compostos principalmente por macro e micronutrientes, aminoácidos e outros componentes, possuem funções fisiológicas nas plantas semelhantes às auxinas (CANELLAS et al., 2005), e por conta disso, são amplamente utilizados em culturas anuais, hortaliças e culturas perenes (CALVO et al., 2014). Diversos experimentos têm mostrado que a aplicação de SH potencializa a hidratação das plantas, regulando a condutância estomática e melhorando o uso eficiente da água pelas culturas (XU, 1986; NARDI et al., 2002).

Este estudo objetivou estudar a atividade mitigadora das SH em plantas de milho acometidas de restrição hídrica.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Desenvolveu-se um ensaio em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), município de Viçosa (MG), entre os meses de março e abril de 2022, totalizando 60 dias. O local apresenta altitude de aproximadamente 650m e classificação climática Cwa – tropical de altitude (método de Köppen Geiger). Nesse período, realizou-se medição diária da temperatura e umidade relativa do ar mediante o uso de higrômetro digital (7666.02.0.00 - INCOTERM®).

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com seis repetições em esquema fatorial (2x4). O primeiro fator foi a umidade do solo (90% e 50% da capacidade de campo - CC) e o segundo fator a aplicação de substância húmica (aplicação de SH na semeadura, aplicação de SH em pulverização foliar, aplicação de SH na semeadura e em pulverização foliar, e controle). Considerou-se como unidade experimental um vaso com capacidade para 15 L de substrato com uma planta de milho.

Designou-se os tratamentos da seguinte forma: T1 – Regime de irrigação a 90% CC e ausência de aplicação de SH; T2 - Regime de irrigação a 90% CC e aplicação de SH na semeadura; T3 Regime de irrigação a 90% CC e aplicação de SH em pulverização foliar; T4 - Regime de irrigação a 90% CC e aplicação de SH na semeadura e em pulverização foliar; T5 – Regime de irrigação a 50% CC e ausência de aplicação de SH; T6 - Regime de irrigação a 50% CC e aplicação de SH na semeadura; T7 - Regime de irrigação a 50% CC e aplicação de SH

em pulverização foliar; T8 - Regime de irrigação a 50% CC e aplicação de SH na semeadura e em pulverização foliar.

O substrato utilizado foi o Latossolo Vermelho Distrófico (SANTOS et al., 2018), cuja análise dos atributos físicos e químicos estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

**Tabela 1** – Análise granulométrica do Latossolo Vermelho Distrófico.

Argila	Silte	Areia Fina	Areia Grossa
(kg kg <sup>-1</sup> )			
0,620	0,091	0,121	0,168

Determinação: Método da pipeta (Almeida et al., 2012).

**Tabela 2** – Análise química do Latossolo Vermelho Distrófico.

pH (H <sub>2</sub> O)	P	K	Cu	Mn	Fe	Zn	Ca	Mg
----- (mg dm <sup>-3</sup> ) -----							(cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	
5,34	0,1	63	31,4	9	30,9	2,01	1,56	0,30
Al	H + Al	SB	T	T	V	m	MO	P-Rem
----- (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) -----					(%)		(dag kg <sup>-1</sup> )	(mg L <sup>-1</sup> )
0,20	3,7	2,02	2,22	5,72	35,3	9,0	1,84	22,9

Determinações: pH em água - solo:solução 1:2,5; P, K, Cu, Zn, Fe, Mn - extrator Mehlich 1; Ca, Mg e Al - extrator KCl 1 mol L<sup>-1</sup>; pH 7 (H+Al) - Ca(OAc)<sub>2</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>; MO (Matéria Orgânica) = C.Org x 1,724 - Walkley-Black; P-Rem: P remanescente.

Para a aplicação de SH, utilizou-se o bioestimulante SH-24-0 Lottus (Biosoluções<sup>®</sup>) composto por 28,5% de carbono orgânico total (6,35% de ácido húmico e 1,6% de ácido fúlvico). De acordo com estudos prévios de Paiva (2020), as doses do bioestimulante utilizadas foram de 15 L há<sup>-1</sup> no momento da semeadura e de 1 L ha<sup>-1</sup> em pulverização foliar, ambas aplicadas em dose única, e para o nível controle da pulverização foliar aplicou-se água deionizada nas plantas.

O preparo do solo incluiu as etapas de secagem ao ar, destorroamento com peneira, calagem mediante o uso de calcário dolomítico (90% de PRNT) com a dose de 1,44 t ha<sup>-1</sup> e condicionamento em sacos de ráfia durante 60 dias, entre os quais realizou-se umedecimento e homogeneização diária do solo a fim de garantir a eficiência do processo. Posteriormente, os vasos foram preenchidos com solo e a adubação de semeadura: uréia (45 kg ha<sup>-1</sup>), superfosfato

triplo ( $295 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e cloreto de potássio ( $300 \text{ kg ha}^{-1}$ ), este último aplicado parceladamente na adubação de semeadura e em cobertura juntamente à uréia ( $400 \text{ kg ha}^{-1}$ ) no estádio V4 - quatro folhas completamente expandidas (ALVES et al., 1999)

Foram semeadas três sementes do híbrido de milho SHS 7939 PRO 2 sob profundidade de 2 cm em cada vaso, e após dez dias a partir da emergência das plantas, executou-se o desbaste a fim de manter uma planta por vaso. Realizou-se a adubação foliar no estádio V5 (cinco folhas completamente expandidas) através de pulverizador de  $\text{CO}_2$  calibrado para jato constante de  $0,693 \text{ L min}^{-1}$  (4,0 bar), para isso, os vasos foram separados e sinalizados de acordo com o tratamento no intuito de eliminar o efeito da deriva.

Para a manutenção da umidade em 90% e 50% CC do solo, instalou-se em casa vaso um sensor de umidade (modelo CS616-L) a 10 cm de profundidade abaixo da superfície do solo, as leituras efetuadas pelos sensores foram monitoradas através de um *datalogger* (Campbell CR1000) ao qual foram conectados os equipamentos, ambos da marca Campbell Scientific®. Esse monitoramento envolve a emissão de um pulso eletromagnético de alta voltagem que se desloca ao longo da linha de transmissão do sensor e retorna para leitura no aparelho (TOPP, 2003), e toma o tempo transcorrido por essa trajetória para determinar a constante dielétrica do meio, variável altamente correlacionada ao conteúdo hídrico do solo. É método que se baseia no princípio de reflectometria por domínio do tempo (TDR), e que requer calibração para cada tipo de solo, uma vez que a equação que relaciona o tempo de leitura do aparelho e a umidade volumétrica do solo é específica para cada caso (CAMPBELL SCIENTIFIC, 2006).

A calibração do método se deu a partir de sucessivas leituras dos sensores sobre cinco amostras de solo em diferentes condições de umidade para obtenção de uma curva de tendência, para isso, coletou-se uma amostra de 5 kg do solo e foi realizada a primeira leitura com a respectiva umidade. Em seguida, foram realizadas outras leituras introduzindo-se quantidades de água deionizada no intuito de coletar pontos equidistantes, sendo que na última leitura procurou-se atingir a saturação do solo, e então procedeu-se com a secagem do solo em estufa ( $100^\circ - 105^\circ \text{ C}$ ) a fim de se determinar a massa do solo seco e, dessa forma, estimar o conteúdo de água em cada leitura para a construção da curva.

Foram analisadas variáveis ecofisiológicas e bioquímicas das plantas no estádio fenológico V8 – oito folhas completamente expandidas. As variáveis ecofisiológicas e bioquímicas obtidas foram: taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), transpiração ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ), eficiência do uso da água (EUA), eficiência de

carboxilação (EC), carboidratos solúveis totais (CST), proteínas solúveis totais (PST) e aminoácidos livres totais (ALT).

As variáveis ecofisiológicas foram analisadas utilizando-se IRGA (LI-6400XT, LICOR®) do tipo sistema aberto, com ajuste no fator luminosidade do aparelho de  $1500 \text{ mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . Efetuaram-se as leituras por bloco, de modo a se avaliar sequencialmente os tratamentos dentro de cada bloco, para que o efeito da variação das condições climáticas no decorrer da manhã se restringisse apenas a estes. O período de análise foi entre 7h e 10h, sendo avaliada a terceira folha completamente expandida abaixo da folha bandeira em cada planta.

Para obtenção da variável CST, foram coletadas amostras da porção mediana das folhas utilizadas na análise de trocas gasosas. Foi destacado 1 g de cada folha, e realizou-se condicionamento destas com etanol fervente (80% a  $60^{\circ} - 70^{\circ} \text{ C}$ ) para posterior trituração em Politron e centrifugação (10 min a 2.000 rpm), executando-se em sequência a padronização do volume com água destilada. As amostras foram acondicionadas em baixa temperatura ( $4^{\circ} \text{ C}$ ) para posterior quantificação de CST em espectrofotômetro, adotando-se o comprimento de onda de 490 nm nas leituras (DUBOIS et al., 1956).

Em relação à quantificação de ALT, pesou-se 1 g de cada folha e processou-se a trituração em Politron, posteriormente, realizou-se a filtração da suspensão, hidrólise ácida das proteínas e neutralização da solução ácida com ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH), respectivamente. Em seguida, adicionou-se solução de ninidrina para reação com o conteúdo de aminoácidos e as amostras foram lidas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 570 nm (MOORE; STEIN, 1948). Para a análise das proteínas totais, foram maceradas 0,5 g de cada amostra foliar em nitrogênio líquido e em sequência foram adicionados solução tampão fosfato de potássio (2 mL a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), EDTA ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ), PMSF ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e PVPP (1%), para que se realizasse a filtração, centrifugação (15 min a 12.000 rpm) do extrato, coleta do sobrenadante, e processamento da leitura (595 nm) em espectrofotômetro (BRADFORD, 1976).

A partir dos resultados obtidos, averiguou-se a conformidade do conjunto de dados aos pressupostos estatísticos de distribuição normal, homogeneidade das variâncias e homoscedasticidade. Em seguida, executou-se a análise de variância (ANAVA) e comparação das médias por teste de tukey ( $\alpha = 0,05\%$ ) mediante a utilização do software R (R CORE TEAM, 2022).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o semeio, todas as plantas emergiram em até 10 dias nas unidades experimentais, e durante esse período e no restante do ensaio, os valores médios de temperatura mínima, temperatura máxima e umidade relativa do ar (17,1 °C; 28,2 °C e 80,42%, respectivamente) estavam em conformidade com a faixa considerada ideal para o cultivo de milho (GADIOLI et al., 2000).

Todas as variáveis ecofisiológicas foram influenciadas pela umidade do solo, de modo que as variáveis *E*, *Ci* e *EUA* responderam à interação dos dois fatores (umidade x aplicação de SH), e a *gs* aos dois fatores de maneira isolada. As variáveis bioquímicas se comportaram de modo semelhante, e demonstraram variação resultante da interação dos dois fatores (Tabela 1).

**Tabela 1** – Análise de variância resumida das variáveis bioquímicas e ecofisiológicas de milho.

F.V	CST	ALT	PST	A	E
Umidade (U)	3,05**	25,45**	0,81 <sup>ns</sup>	2412,30**	66,60**
Aplicação de SH (A)	0,19 <sup>ns</sup>	2,00**	4,95**	144,45**	0,82**
U x A	0,52*	2,99**	1,97**	1,38 <sup>ns</sup>	1,33**
Resíduo	0,13	0,13	0,43	5,99	0,12
Média	4,20	3,99	5,40	22,94	2,41
C.V (%)	8,43	9,10	12,14	10,67	14,09

**Tabela 1** – Continuação.

F.V	<i>gs</i>	<i>Ci</i>	EUA	EC
Umidade (U)	0,33**	92981**	318,47**	0,01**
Aplicação de SH (A)	0,01**	1274,67**	83,42**	0,00**
U x A	0,00 <sup>ns</sup>	89,67*	33,93**	0,00 <sup>ns</sup>
Resíduo	0,00	20,49	6,62	0,00
Média	0,23	195,11	11,32	0,11
C.V (%)	15,79	2,32	22,74	11,61

Valores seguidos de \*\* são considerados significantes pelo teste F ( $\alpha = 0,01\%$ ); Valores seguidos de \* são considerados significantes pelo teste F ( $\alpha = 0,05\%$ ); Valores seguidos de <sup>ns</sup> não são considerados significantes pelo teste F.

### 3.1 Variáveis ecofisiológicas

A variável de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*) foi influenciada pelos dois fatores de forma isolada, mas não pela interação entre ambos. De acordo com o esperado, os valores se mostraram maiores nas plantas submetidas à umidade do solo adequada, enquanto as plantas sujeitas à restrição de água expressaram valores 47,20% menores dessa variável (Figura 1a). Acerca da aplicação de SH, observou-se que a utilização simultânea na semeadura e pulverização foliar proporcionou maiores valores dessa variável, em contrapartida, as plantas que receberam pulverização foliar com água deionizada (controle) apresentaram valores cerca de 30% menores àquelas mencionadas (Figura 1b).

A tendência de redução nessa variável decorrente de plantas em períodos de seca é tipicamente reportada na literatura. Santos et al. (2014) observaram reduções dessa variável na ordem de 53% durante a manhã e 66% à tarde em milho sob imposição de estresse hídrico em comparação à performance do grupo controle, esse decréscimo é reflexo da menor condutância estomática e transpiração foliar, dado o restrito conteúdo de água no solo que afeta o fluxo da corrente transpiratória.

Nesse cenário, as substâncias húmicas têm se mostrado como potenciais agentes de mitigação dos efeitos de períodos de estresse hídrico. Plantas de milho sob restrição hídrica pulverizadas em nível foliar com ácido fúlvico manifestaram taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> aproximadamente 13% superior às plantas na mesma condição e sem aplicação de SH, e mesmo para as plantas plenamente irrigadas, a pulverização foliar com essa mesma substância proporcionou aumento de quase 11% nessa taxa em comparação às plantas irrigadas nas quais foi realizada pulverização foliar com água (ANJUM et al., 2011).

Mesmo em solos adequadamente umedecidos, a pulverização foliar de substâncias húmicas promove a otimização da fotossíntese nas plantas, mas esse efeito é especialmente manifesto em condições de baixo suprimento de água, já que as SH regulam processos de trocas gasosas, principalmente *g<sub>s</sub>* e EUA, além de ativarem a via de sinalização do ácido abscísico, cuja atuação reduz o dipêndio de água via transpiração (YANG et al., 2017; ANJUM et al., 2011). Além desses efeitos proporcionados pelas SH aplicadas via foliar, a aplicação na semeadura possibilita um significativo crescimento radicular das plantas, o que em condições de estresse hídrico, torna-se um fato bastante favorável para a minimização desses efeitos em razão do maior potencial de exploração do perfil do solo (TRACHSEL et al., 2009).

A condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) sofreu alteração consequente dos dois fatores de forma isolada, mas não houve efeito de interação entre estes. As plantas sob déficit hídrico expressaram decréscimo de mais de 50% na *g<sub>s</sub>* comparadas às plantas hidratadas (Figura 1c), e paralelamente, em relação à aplicação de SH, houve efeito da aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar, cuja média superou o grupo controle em mais de 31% (Figura 1d).

Foram observadas reduções de até 89% na *g<sub>s</sub>* de plantas de milho sujeitas a um estresse hídrico extremo, suspensão da irrigação por 21 dias, o que diretamente ocasionou limitações na assimilação de CO<sub>2</sub> nesse mesmo grupo (SANTOS et al., 2014). Mesmo sob condições de umidade do solo reduzida, plantas de milho que receberam aplicações foliares de ácido húmico apresentaram *g<sub>s</sub>* cerca de 29% superior à mesma variável obtida em plantas sob estresse e que foram submetidas à pulverização com água (ALTAF et al., 2023), em oposição a isso, houve decréscimo de *g<sub>s</sub>* em plantas de milho sob déficit hídrico tratadas com ácido fúlvico aplicado via foliar em comparação com o grupo controle, a *g<sub>s</sub>* sofreu redução de aproximadamente 16% e 30% em dois períodos distintos de medição, entretanto, as plantas tratadas com SH apresentaram melhor eficiência no uso da água (YANG, 2017).

O menor grau de abertura dos estômatos limita o influxo de CO<sub>2</sub> nos tecidos foliares, o que interfere na formação de carboidratos e interrompe a continuidade do processo transpiratório (REDDY et al. 2004), isto apesar de corresponder a uma resposta fisiológica

natural frente às limitações de fornecimento de água do solo, não figura como vantagem do ponto de vista produtivo, dessa forma, a utilização de reguladores como derivados de SH se torna uma potencial estratégia para assegurar produtividades satisfatórias.

A transpiração ( $E$ ) foi influenciada pela interação dos dois fatores, umidade x adubação, e como esperado, as plantas com disponibilidade normal de água mantiveram valores de  $E$  acima das que estiveram sob estresse. Nas plantas submetidas aos tratamentos contendo disponibilidade hídrica ideal, apenas o que associava aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar (T4) expressou valor de  $E$  inferior (Figura 2a), o que não ficou claro de acordo com os resultados obtidos na maior parte da literatura. Entretanto, a menor taxa de  $E$  possa ter sido resultado da grande susceptibilidade da cultura do milho às temperaturas elevadas, como ainda são frequentes na época em questão e na casa de vegetação onde foi conduzido o experimento.

Os tratamentos nos quais houve imposição de déficit hídrico expressaram taxa de  $E$  bastante reduzida em relação ao primeiro grupo, nesse caso, no tratamento controle sem aplicação de SH (T5) obteve-se a maior média de  $E$ , que superou em 7,34% o T8, tratamento envolvendo os dois tipos de aplicação de SH adotados, sendo este último estatisticamente igual ao tratamento contendo apenas aplicação de SH no solo (T6). A menor média de  $E$  foi observada no tratamento contendo aplicação de SH apenas em pulverização foliar (T7), cujo valor foi 36% inferior ao observado em T5 (Figura 2a).

Relações de decréscimo de até 86% foram observadas em plantas de milho mantidas em estresse hídrico severo por 21 dias quando comparadas às plantas irrigadas (SANTOS et al., 2014), porém, em condições análogas de estresse, respostas positivas foram observadas quando se aplicou ácido húmico via pulverização foliar em milho, a  $E$  aumentou 35,23% em comparação à taxa das plantas nas quais foi aplicado spray de água (ALTAF et al., 2023).

A transpiração é provavelmente a variável mais alterada durante períodos de estresses por seca, seus valores podem cair abruptamente quando há redução na disponibilidade hídrica do solo. Em ocasiões de restrita umidade do solo, normalmente as plantas reduzem a taxa de  $E$  como uma estratégia para conservar o conteúdo de água, o que se dá pela diminuição do grau de abertura estomática ou total fechamento dessas estruturas, diminuindo ou cessando a perda d'água pela superfície foliar. Portanto, o déficit hídrico afeta negativamente a transpiração, resultando em uma redução nesta taxa e, conseqüentemente, na perda de água pelas folhas, assim, o conteúdo de água disponível é o principal fator no solo que promove a transmissão de sinais bioquímicos ou hormonais ao longo da planta para impelir o fechamento das câmaras estomáticas (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Neste experimento, obteve-se resposta favorável à diminuição do processo de transpiração nos tratamentos envolvendo déficit hídrico, especialmente nos tratamentos que utilizavam a aplicação de SH, trata-se provavelmente de uma reação fisiológica em consequência ao limitado conteúdo de água no solo, o que pode ser entendido como um mecanismo capaz de promover a manutenção da hidratação e reduzir as perdas de água, assegurando a sobrevivência da planta durante seu ciclo.

Em relação à  $C_i$ , os resultados foram influenciados pela interação entre os fatores, tendo as plantas submetidas aos tratamentos com suprimento adequado de água respondido com valores acima dos expressos pelas plantas alocadas nos tratamentos de déficit hídrico. No primeiro grupo, a maior  $C_i$  observada foi no T4 (aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar), que superou o controle (T1) em 11,76%, este último estatisticamente igual aos restantes do grupo. No segundo grupo, no qual houve imposição de estresse hídrico, o único tratamento que apresentou diferença para a variável foi o T8 (aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar), cuja média foi 10,69% superior ao controle (T5) (Figura 2b).

Apesar da vantagem de apresentar a anatomia kranz no interior de suas folhas, que proporciona uma maior eficiência na aquisição de  $CO_2$  interno, a  $C_i$  da câmara estomática nas plantas de milho é em grande parte afetada pela  $g_s$ , principalmente quando os valores dessa variável se aproximam de zero (LOPES; LIMA, 2015; RODRIGUES et al., 2012). Mesmo assim, os prejuízos acarretados pelo déficit hídrico podem ser amenizados pela aplicação de SH, segundo Anjum et al. (2011), a aplicação foliar de ácido fúlvico induziu  $C_i$  superior, em torno de 10%, nas plantas sob baixo fornecimento hídrico em paralelo às plantas em situação análoga que não receberam nenhum regulador dessa natureza.

A variável EUA sofreu influência da interação entre os dois fatores, essa medida corresponde à razão entre os valores de  $A$  e  $E$ . Exceto no controle (T5), todos os tratamentos envolvendo imposição de déficit hídrico apresentaram melhor performance das plantas quanto ao uso da água, ou seja, maiores valores de EUA, de modo que os três tratamentos relacionando aplicação de SH mostraram-se iguais. Observou-se aumento de 46,71% na EUA expressa pelo tratamento de maior média (T7) em relação ao tratamento controle (T5) (Figura 2c). Nos tratamentos contendo regime hídrico normal foram mensurados menores valores de EUA, destacando-se apenas o tratamento com aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar (T4), que diferiu dos demais e manifestou uma diferença de 46,96% em relação ao controle (T1) (Figura 2c).

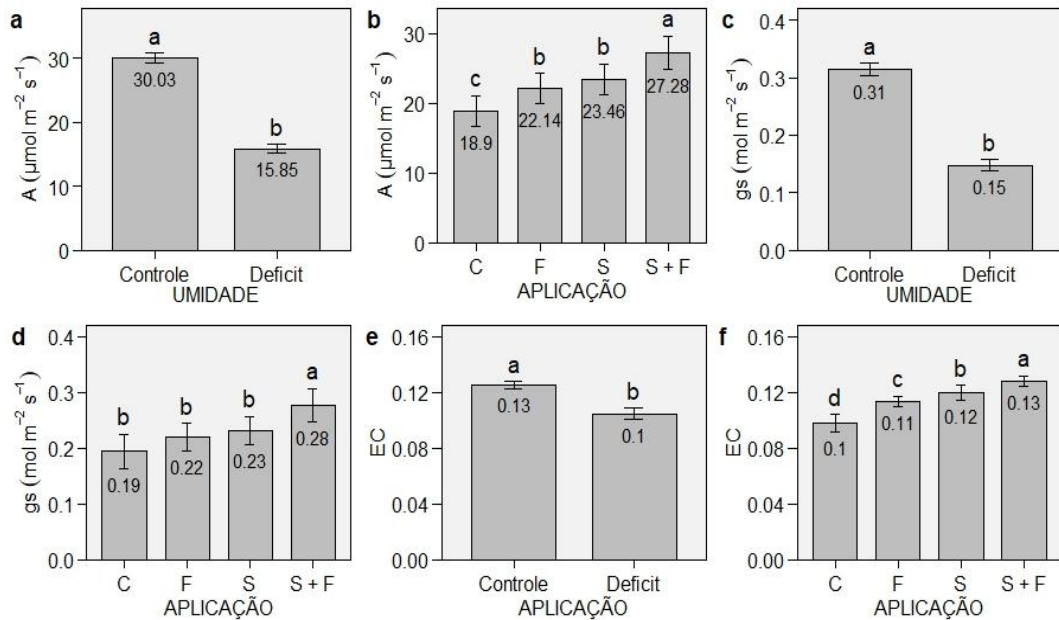
De acordo com Santos et al. (2014), as plantas sob estresse hídrico apresentaram redução de assimilação de  $CO_2$ ,  $g_s$  e  $E$  comparadas às plantas bem hidratadas, porém, manifestaram

aumento na EUA de 195% e 156% pela manhã e à tarde no período de máximo estresse, respectivamente (SANTOS et al., 2014). A utilização das SH pode desempenhar um papel importante na EUA de plantas sob deficiência hídrica, plantas de milho tratadas com pulverização foliar de ácido fúlvico aumentaram a EUA cerca de 27% em comparação às plantas não tratadas (ANJUM et al., 2011). Os aumentos nessa variável provenientes da pulverização foliar com ácido fúlvico em milho sob condições de seca se expressam através de dois mecanismos: aumento de  $A$  e manutenção da  $g_s$ , e inalteração de  $A$  com diminuição da  $g_s$  (YANG, 2017).

A umidade do solo e aplicação de SH induziram respostas na variável eficiência de carboxilação (EC), mas apenas de forma isolada, sem interação entre os fatores. As plantas com adequado suprimento de água expressaram valores de EC aproximadamente 23% superior aos observados nas plantas destinadas ao déficit hídrico (Figura 1e), enquanto as plantas que receberam aplicação de SH simultaneamente na semeadura e pulverização foliar apresentaram a mesma proporção de aumento da EC em relação às plantas mantidas no grupo controle (Figura 1f).

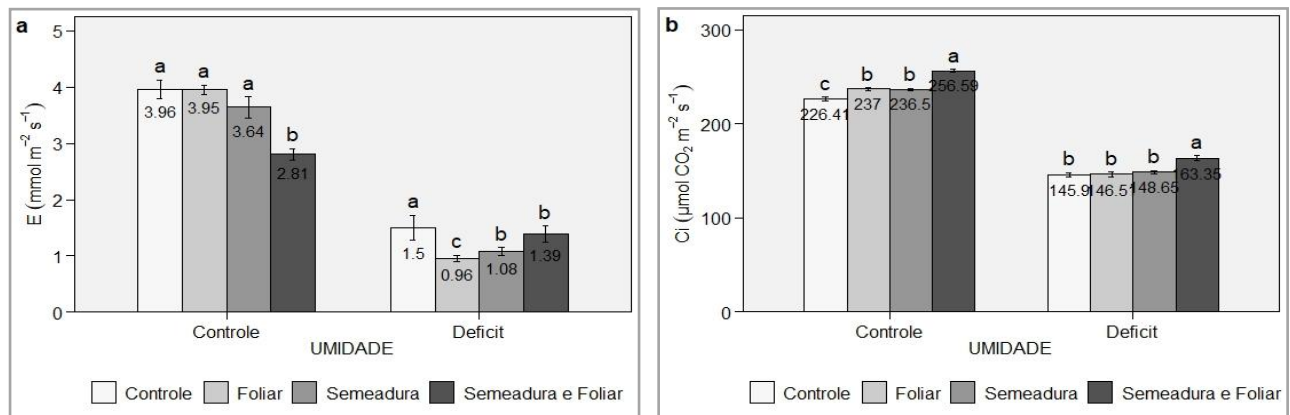
A EC é resultado da razão entre os valores de  $A$  e  $C_i$ , ou seja, representa a relação de quantas moléculas de  $CO_2$  são necessárias para serem assimiladas e conduzidas ao processo de fotossíntese líquida. Neste estudo, a EC seguiu exatamente a mesma tendência da variável  $A$  para os dois fatores testados, o que assegura que houve uma maior eficiência de conversão (carboxilação) no grupo de plantas submetidas à aplicação de SH, tanto na semeadura quanto na adubação foliar.

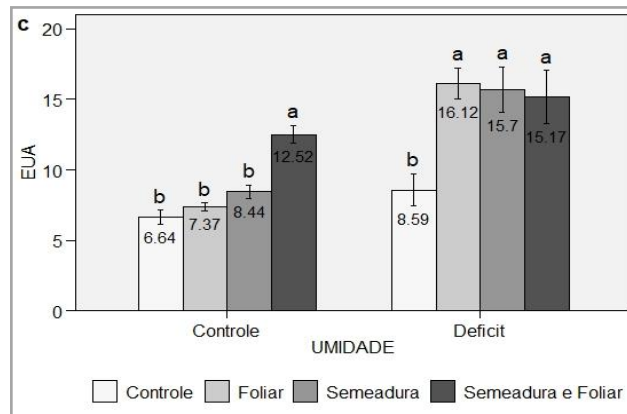
**Figura 1.** SH aplicadas em milho, na sementeira e pulverização foliar, sobre variáveis de trocas gasosas em duas condições de umidade do solo - *A* (a, b); *gs* (c, d); e EC (e, f).



Níveis de aplicação: C – Controle, F – Foliar, S – Sementeira, S + F – Sementeira + Foliar.

**Figura 2.** SH aplicadas em milho, na sementeira e pulverização foliar, sobre variáveis de trocas gasosas em duas condições de umidade do solo - *E* (a), *Ci* (b) e EUA (c). Os valores referem-se à média  $\pm$  erro padrão dos tratamentos; letras maiúsculas apontam comparação entre mesmos níveis de pulverização foliar em condições de sementeira diferentes ( $p < 0,05$ ); letras minúsculas apontam comparação entre diferentes níveis de pulverização foliar em condições de sementeira iguais ( $p < 0,05$ ).





### 3.2 Variáveis bioquímicas

Quanto ao teor de carboidratos solúveis totais (CST), houve efeito de interação dos dois fatores na mensuração desses metabólitos. De modo geral, o teor apresentado pelos tratamentos que envolveram déficit hídrico foi maior que o observado nos tratamentos com adequada umidade do solo, entretanto, não houve diferença entre os valores observados nos tratamentos cuja umidade do solo estava em restrição. Em relação aos tratamentos com adequada disponibilidade hídrica, observou-se diferença de 12,7% entre o maior valor escalado (T4) e o controle (T1) (Figura 3a).

De maneira geral, as plantas submetidas ao estresse expressaram maior conteúdo desses metabólitos, evidenciando que isso se constitui como uma estratégia das plantas frente aos efeitos da deficiência hídrica (FARRAR et al., 2000). Ainda assim, entre os tratamentos de restrita umidade do solo, a aplicação de SH proporcionou menores valores de CST em relação às plantas do tratamento controle, isso pode estar relacionado à capacidade dessas substâncias em amenizar efeitos de estresse, efeito constatado sobretudo através da menor discrepância dos parâmetros de trocas gasosas entre as plantas cultivadas em umidade limitada e normal nos tratamentos onde foram utilizadas SH.

O monitoramento do conteúdo de açúcares dentro do metabolismo vegetal é considerado estratégico em situações de estresse oxidativo decorrentes do próprio estresse hídrico, nesse sentido, o papel desses metabólitos está intimamente relacionado à retroregulação do arcabouço fotossintético em nível de tecido foliar, uma vez que essas biomoléculas atuam no ajustamento osmótico, estabilidade de membranas e proteínas (ROLLAND et al., 2006).

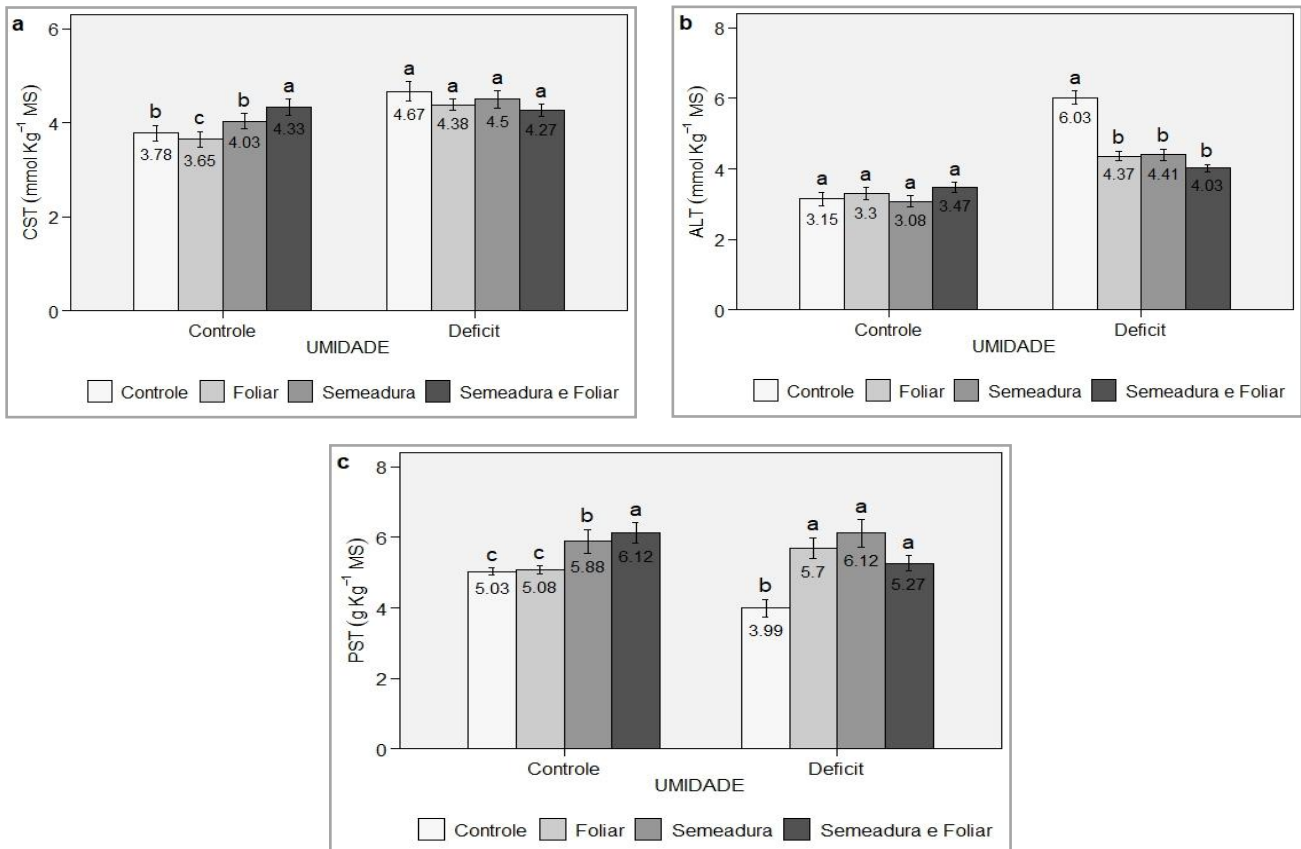
O teor de PST sofreu variação de acordo com a interação entre os dois fatores. A aplicação de SH proporcionou maiores teores proteicos para ambos os perfis de umidade no solo. Nas plantas cultivadas sob estresse, os tratamentos relacionados à aplicação de SH mostraram-se iguais, a diferença entre o maior valor observado (T6) e o tratamento controle (T5) foi de 34,80% (Figura 3c). No grupo de tratamentos sem déficit hídrico, a aplicação conjugada de SH na semeadura e pulverização foliar (T4) e aplicação de SH somente na semeadura (T2) mostraram-se diferentes entre si e superiores aos demais tratamentos, com destaque para o primeiro. Nessa perspectiva, T4 demonstrou diferença de 17,81% em relação ao T1 (Figura 3c).

A relação entre aumento de síntese proteica e aplicação de SH é bastante relatada na literatura, Nardi et al. (2007) constataram aumento nas atividades de várias enzimas da via glicolítica e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (glicocinase, fosfoglicose isomerase, fosfofrutocinase dependente de P<sub>Pi</sub>, piruvato quinase) em plântulas de milho com uma dose de 1 mg C L<sup>-1</sup> de substância húmica. Paralelamente, a associação entre essa síntese metabólica e o condicionamento a déficit hídrico foi apontado por Anjum et al. (2011), que determinaram correlação positiva, em situações de estresse hídrico, entre o PST de plantas de milho e a aplicação de ácido fúlvico, quando houve comparação em relação às plantas normalmente irrigadas.

Em relação ao teor de aminoácidos livres totais (ALT), também houve influência da interação entre os dois fatores. As plantas sob déficit hídrico manifestaram maiores conteúdos de ALT comparadas às plantas cultivadas em condição de umidade do solo ideal. Nos tratamentos com imposição de déficit hídrico, verificou-se diferença de 33,17% entre o controle (T5) e o tratamento contendo aplicação de SH na semeadura e pulverização foliar (T8), que se mostrou igual aos outros tratamentos relacionados à aplicação de SH (Figura 3b).

O maior acúmulo dos metabólitos CST e ALT presentes nos tecidos foliares de plantas do tratamento controle (T5) pode sugerir uma menor respiração noturna nas plantas desse grupo em relação às plantas em condições normais (T1), tendo em vista a quantidade de ALT sem modificação no perfil de PST, indício de reduzida síntese de biomassa. Além disso, é possível observar que os tratamentos contendo SH aplicadas isoladamente, na semeadura e pulverização foliar, e de modo simultâneo, resultaram num conteúdo de ALT significativamente menor que no tratamento controle para aplicação de SH (T5), claramente atestando o potencial de amenização das SH sobre os impactos do estresse hídrico.

**Figura 3.** SH aplicadas em milho, na sementeira e pulverização foliar, sobre variáveis bioquímicas em duas condições de umidade do solo - CST (a), ALT (b), e PST (c). Os valores equivalem à média  $\pm$  erro padrão dos tratamentos; letras maiúsculas prenunciam comparação entre mesmos níveis de pulverização foliar em condições de sementeira diferentes ( $p < 0,05$ ); letras minúsculas prenunciam comparação entre diferentes níveis de pulverização foliar em condições de sementeira iguais ( $p < 0,05$ ).



#### 4 CONCLUSÕES

A aplicação de substâncias húmicas (SH), na semeadura e em pulverização foliar, mostra-se eficiente em amenizar impactos negativos das condições de seca em plantas de milho. Entretanto, segue-se a necessidade de avaliar o efeito dessas substâncias sobre condições variadas de umidade, indicadores de produção em campo e diferentes condições de manejo, o que requer a implementação de mais pesquisas acerca desse tema.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, B. et al. **Padronização de métodos para análise granulométrica no Brasil**. Embrapa Solos: Rio de Janeiro, 2012. 11 p. (Comunicado técnico, 66)
- ALTAF, A. et al. Foliar humic acid and salicylic acid application stimulates physiological responses and antioxidant systems to improve maize yield under water limitations. **JSFA Reports**, p. 1 – 10, 2023.
- ALVES, V. M. C. et al. Sugestões de Adubação para Grandes Culturas Anuais ou Perenes. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5a. aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 314-316.
- ANJUM, S. A. et al. Fulvic acid application improves the maize performance under well-watered and drought conditions. **Journal of agronomy and crop science**, v. 197, p. 409–417, 2011.
- AYDINSAKIR, K. et al. The influence of regular deficit irrigation applications on water use, yield, and quality components of two corn (*Zea mays* L.) genotypes. **Agricultural Water Management**, v.128, p.65-71, 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248 – 254, 1976.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades do solo**. 3ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 686 p.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, p. 3-41, 2014.
- CAMPBELL SCIENTIFIC, 2002 – 2006. **CS616 and CS625 water content reflectometers**. Instruction Manual Revision: 8/06. Campbell Scientific Inc., North Logan.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A. **Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas**. UENF – Campos dos Goytacazes, 2005. 309 p.
- CARON, V. C.; GRAÇAS, J. P.; CASTRO, P. R. C. **Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, Série Produtor Rural, nº 58, 2015. 46 p.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA - GRÃOS SAFRA 2022/23**. 2º Levantamento, v. 20, n. 2, 2022.
- DUARTE, J. O.; GARCIA, J. C.; MIRANDA, R. A. Economia da produção. In: **Cultivo do Milho** – Embrapa Milho e Sorgo, Sistemas de Produção, 1. Versão Eletrônica - 9ª edição, 2015.

- DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, p.350-356, 1956.
- FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, p. 185–212, 2009.
- FARRAR, J.; POLLOCK, C.; GALLAGHER, J. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. **Plant science**, v. 154, p.1-11, 2000.
- GADIOLI, J. L. et al. Temperatura do ar, rendimento de grãos de milho e caracterização fenológica associada à soma calórica. **Scientia Agricola**, v.57, n.3, p.377-383, 2000.
- LOPES, N. F.; LIMA, M. G. S. **Fisiologia da Produção**. Viçosa – MG: Ed. UFV, 2015. 492 p.
- MOORE, S.; STEIN, W. H. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 176, p. 367-388, 1948.
- NARDI, S. et al. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1527–1536, 2002.
- NARDI, S.; MUSCOLO, A.; VACCARO, S.; BAIANO, S.; SPACCINI, R.; PICOLLO, A. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in mayze seedling. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 3138 - 3146, 2007.
- PAIVA, M. J. A. **Ação e modo de aplicação dos ácidos húmicos e fúlvicos sobre características morfológicas e fisiológicas de milho**. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa - UFV. Viçosa, 46 p. 2020.
- PFLUGMACHER, S. et al. Dissolved natural organic matter (NOM) impacts photosynthetic oxygen production and electron transport in coontail *Ceratophyllum demersum*. **Science of the total environment**, v. 357, p. 169 – 175, 2006.
- REDDY, A. R.; CHAITANYA, K. V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1189–1202, 2004.
- RODRIGUES, L. F. O. S. et al. Trocas Gasosas em Milho Inoculado com *Azospirillum brasilense* e Submetido ao Déficit Hídrico. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. **Anais...** Águas de Lindóia – SP, 2012.
- ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual review of plant biology**, v.57, p. 675-709, 2006.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022.
- SANTOS, H. G. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. Ed. DF: Embrapa, 2018. 356 p.

SANTOS, O. O. et al. Desempenho ecofisiológico de milho, sorgo e braquiária sob déficit hídrico e reidratação. **Bragantia**, Campinas, v. 73, n. 2, p. 203-212, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 820 p.

TOPP, G., C. State of the art of measuring soil water content. **Hidrological Processes**, v. 17, p. 2993 – 2996, 2003.

TRACHSEL, S. et al. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 119, p. 1413 – 1424, 2009.

XU, X. D. The effect of foliar application of fulvic acid on water use, nutrient uptake and yield in wheat. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 37, p. 343–350, 1986.

YANG, W. et al. Compensating effect of fulvic acid and super-absorbent polymer on leaf gas exchange and water use efficiency of maize under moderate water deficit conditions. **Plant Growth Regulation**, v. 83, p. 351–360, 2017.

## CONCLUSÕES GERAIS

Em milho, a aplicação de SH no momento da semeadura e em pulverização foliar tem demonstrado ser uma estratégia eficaz para promover o crescimento e aprimorar o metabolismo primário da cultura, aumentando sua tolerância ao estresse hídrico. As SH atuam como bioestimulantes que favorecem o prolongamento do sistema radicular das plantas de milho, principalmente ao serem aplicadas na semeadura, promovendo o melhor estabelecimento das raízes e melhor acúmulo nutricional, isso resulta num crescimento mais acentuado, impactando diretamente a produtividade das plantas.

Além disso, a pulverização foliar de SH proporciona uma absorção rápida e direta pelas folhas, permitindo uma resposta imediata das plantas. Isso é especialmente importante em épocas de reduzido conteúdo de água no solo, nas quais as raízes não conseguem prover adequada absorção de nutrientes. A aplicação foliar de SH auxilia na manutenção do metabolismo das plantas, estimulando a fotossíntese e a regulação dos processos osmóticos e de transpiração.

Dessa forma, as plantas de milho tratadas com SH apresentam maior resistência à seca, sendo capazes de enfrentar períodos prolongados de falta de água com menor impacto em seu desenvolvimento. Essa prática proporciona benefícios em série, que começam na melhoria da saúde do solo e formação de maior aparato radicular, culminando na maior absorção de nutrientes, indução de eficiência quanto ao uso da água e de maior resistência a estresses. Em face dos resultados expressos, verifica-se a demanda de implementação de mais estudos sobre o tema, sobretudo em condições de campo, a fim de se confirmar os efeitos da aplicação dessas substâncias em lavouras de milho sob diferentes condições edafoclimáticas, de manejo e de fitossanidade.