

MARIA JOSÉ DO AMARAL E PAIVA

**AÇÃO E MODO DE APLICAÇÃO DOS ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS SOBRE
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: João Carlos Cardoso Galvão

Coorientadores: Orismário L. Rodrigues
Dimas M. Ribeiro
Paulo Roberto Cecon
Camilo Elber Vital

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2020

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

T

Paiva, Maria José do Amaral e, 1974-
P149a Ação e modo de aplicação dos ácidos húmicos e fúlvicos
2020 sobre características morfológicas e fisiológicas de milho / Maria
 José do Amaral e Paiva. – Viçosa, MG, 2020.
 46 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: João Carlos Cardoso Galvão.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.43-46.

1. Fotossíntese. 2. Sistemas radiculares. 3. Substâncias
húmicas. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agroecologia.
II. Título.

CDD 22. ed. 633.15892

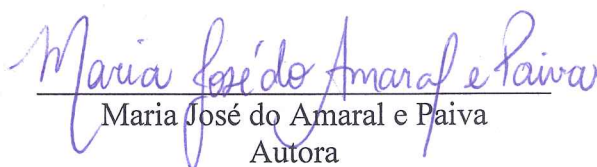
MARIA JOSÉ DO AMARAL E PAIVA

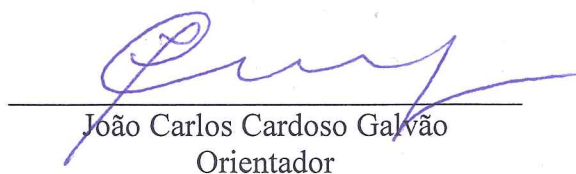
**AÇÃO E MODO DE APLICAÇÃO DOS ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS SOBRE
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de julho de 2020

Assentimento:


Maria José do Amaral e Paiva
Autora


João Carlos Cardoso Galvão
Orientador

Dedico

A Deus Pai, Deus Filho e ao Espírito Santo

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por essa porta aberta de maneira tão especial para que os planos Dele sejam cumpridos em minha vida.

Em seguida agradeço ao meu esposo que alterou a rota do percurso para me honrar com a presença, amizade preciosa e grande companheirismo.

Agradeço ao Professor João Carlos Cardoso Galvão meu orientador e pessoa maravilhosa, preparado e amigo sempre, responsivo, humilde, daqueles que tocam as cordas da vida com os dedos da alma.

Agradeço ao Professor Orismário Lúcio Rodrigues meu coorientador, amigo, excelente professor, solícito e presente do princípio ao fim do trabalho, sempre buscando soluções e cheio de alegria.

Agradeço muito à Rô e Professora Sílvia sempre atenciosas, duas preciosidades.

Agradeço ao grande amigo Toshik, só Deus para recompensá-lo por todo apoio.

À Emuriela pelas excelentes dicas desde o começo, à Steliane e ao Jefferson pelas constantes consultorias, ao Antônio Carlos e ao Ricardo pela ajuda

Agradeço e agradeço à preciosa Dinorah e ao Tiago, instrumentos de bênçãos.

Ao Professor Dimas Mendes Ribeiro, Professor Paulo Roberto Cecon e ao Camilo Elber Vital, meus coorientadores, pelas ricas contribuições a esse trabalho.

Ao pesquisador Rogério Faria Vieira pela disposição sempre em ajudar quando se fez necessário.

À EPAMIG Zona da Mata por disponibilizar instalações e equipamentos para realização de análises, e a todos os funcionários da instituição.

Aos servidores do Vale da Agronomia, sr. Paulo Paiva, Luiz, Júlio, Carlinhos e aos demais pela inestimável ajuda.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e à Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.”

RESUMO

PAIVA, Maria José do Amaral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2020. **Ação e modo de aplicação dos ácidos húmicos e fúlvicos sobre características morfológicas e fisiológicas da planta de milho.** Orientador: João Carlos Cardoso Galvão. Coorientadores: Orismário Lúcio Rodrigues, Dimas Mendes Ribeiro, Paulo Roberto Cecon e Camilo Elber Vital.

As substâncias húmicas são oriundas da matéria orgânica, que quando decomposta, pode ser classificada em ácido húmico, ácido fúlvico e a humina. As substâncias húmicas agem como condicionadores de solos, biorreguladores e bioestimulantes para as plantas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito dessas substâncias húmicas sobre características morfológicas e fisiológicas do milho. Foram desenvolvidos simultaneamente dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado, constituídos por quatro tratamentos em quatro repetições para cada experimento. No experimento 1 a dose do produto utilizado foi toda aplicada no solo no dia do plantio e no experimento 2 a metade da dose foi aplicada no solo no plantio e a outra metade via foliar quando o milho estava com 4 folhas completamente expandidas. Os níveis do fator em estudo foram 0,5, 10 e 20 litros por hectare de Lottus®. Para morfologia de raízes foram analisados comprimento total de raiz, raízes laterais e axiais, número de pontas, ramificações e bifurcações além de matéria seca, área superficial total e volume total de raiz. As características fisiológicas analisadas foram fotossíntese, concentração interna de carbono, eficiência instantânea de carboxilação, temperatura, transpiração, condutância estomática, eficiência intrínseca de uso da água e eficiência de uso da água. A morfologia de raiz do experimento 1 apresentou significância com efeito quadrático para comprimento total de raiz, área projetada total de raiz, área superficial total de raiz e matéria seca de raízes. Houve efeito linear para número de pontas, ramificações e bifurcações com incremento de 68%, 80% e 63% respectivamente. O comprimento de raízes laterais foi aproximadamente 8 vezes mais do que de raízes axiais. As trocas gasosas apresentaram incremento linear na taxa fotossintética no experimento 1. Este apresentou também maior transpiração, maior condutância estomática e maior eficiência no uso da água. O efeito do produto foi principalmente na morfologia de raízes, o modo de aplicação que apresentou maior significância dos dados analisados foi a aplicação no solo toda no plantio. O produto pode representar solução para redução da quantidade de adubação aplicada.

Palavras-chave: Fotossíntese. Sistema radicular. Substâncias húmicas. Trocas gasosas.

ABSTRACT

PAIVA, Maria José do Amaral, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2020. **Action and mode of application of humic and fulvic acids on the morphological and physiological characteristics of the corn plant.** Adviser: João Carlos Cardoso Galvão. Co-advisers: Orismário Lúcio Rodrigues, Dimas Mendes Ribeiro, Paulo Roberto Cecon and Camilo Elber Vital.

Humic substances come from organic matter, which, when decomposed, can be classified into humic acid, fulvic acid and humine. Humic substances act as soil conditioners, bioregulators and biostimulants for plants. The objective of this work was to evaluate the effect of these humic substances on the morphological and physiological characteristics of corn. Two experiments were developed simultaneously in a completely randomized design, consisting of four treatments in four repetitions for each experiment. In experiment 1 the dose of the product used was all applied to the soil on the day of planting and in experiment 2 half of the dose was applied to the soil at planting and the other half was applied to the leaf when the corn had 4 leaves fully expanded. The levels of the factor under study were 0.5, 10 and 20 liters per hectare of Lottus®. For root morphology, total root length, lateral and axial roots, number of tips, branches and bifurcations, in addition to dry matter, total surface area and total root volume were analyzed. The physiological characteristics analyzed were photosynthesis, internal carbon concentration, instant carboxylation efficiency, temperature, transpiration, stomatal conductance, intrinsic water use efficiency and water use efficiency. The root morphology of experiment 1 showed significance with a quadratic effect for total root length, total projected root area, total root surface area and root dry matter. There was a linear effect for the number of tips, branches and bifurcations with an increase of 68%, 80% and 63% respectively. The length of lateral roots was approximately 8 times more than that of axial roots. Gas exchange showed a linear increase in the photosynthetic rate in experiment 1. It also showed greater transpiration, greater stomatal conductance and greater efficiency in the use of water. The effect of the product was mainly on the root morphology, the application mode that presented the greatest significance of the analyzed data was the application to the whole soil during planting. The product may represent a solution for reducing the amount of fertilizer applied.

Keywords: Photosynthesis. Root system. Humic substances. Gas exchange.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 MILHO	10
2.2 ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS	12
2.3 AÇÃO DOS ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS	14
2.4 RESULTADOS DA APLICAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS E ÁCIDOS FÚLVICOS	15
2.5 OBTENÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.....	18
3. MATERIAL E MÉTODO	20
3.1 IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO	20
3.2 AVALIAÇÕES.....	21
3.2.1 Análise morfológica do sistema radicular	21
3.2.2 Análise fisiológica	22
4 ESTATÍSTICA	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1 MORFOLOGIA DE RAÍZES	25
5.2 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DO MILHO	35
6 CONCLUSÕES.....	42
7 BIBLIOGRAFIA	43

1. INTRODUÇÃO

A matéria orgânica (MO) está em constante ciclagem no planeta através de um processo contínuo de decomposição do material orgânico depositado no solo, isso acontece com a ação de macros e microorganismos em condições favoráveis. O coeficiente de humificação, que é a fração remanescente depois de um ano de decomposição, da MO vai depender de quão lignificado é o material (CANELLAS & SANTOS, 2005).

A matéria orgânica pode ser dividida em frações com a finalidade de ser estudada, sendo que a primeira fração não humificada são os restos animais e vegetais em estágio inicial de decomposição, a fração intermediária são os compostos orgânicos que já podem ser classificados quanto à sua categoria bioquímica, e a última fração, ou o último estágio de decomposição antes de ser incorporado ao material mineral do solo, é representado pelas substâncias húmicas (SH) (CANELLAS *et al.*, 2001).

As SH são formadas por ácido húmico (AH), ácido fúlvico (AF), huminas e ácidos himatomelânicos. Os AH possuem alto peso molecular, são solúveis em ácidos minerais e solventes orgânicos, os AF possuem menor peso molecular, são solúveis tanto em água, como em meio ácido ou alcalino. A menor fração das SH são as huminas, insolúveis em meio ácido ou alcalino, já os ácidos himatomelânicos apresentam composição semelhante aos AH e formam as suspensões quando misturados com água (CARON *et al.*, 2015).

Os AH e AF são as frações da MO que apresentam maior reatividade, assim estão envolvidas na maioria das reações químicas do solo. Há estudos que mostram esses ácidos como indicadores da qualidade do solo e também da forma como ele é manejado, são também os principais responsáveis por mecanismos de transporte de cátions dentro do solo, por meio de complexos organo-metálicos, e é através desses complexos que a matéria orgânica se movimenta no solo (CANELLAS *et al.*, 2001; ROSA *et al.*, 2017).

Os AH e AF são considerados condicionadores de solo, biorreguladores e bioestimulantes, apresentam potencial para promover alterações fisiológicas nas plantas cultivadas que contribuem para o seu melhor desenvolvimento (CARON *et al.*, 2015).

Vários estudos mostram também a ação dos AH e AF na morfologia de raízes, proporcionando aumento da biomassa e do tamanho de raízes e também o crescimento de pelos radiculares e raízes finas, o que permite à planta explorar melhor o perfil do solo e também ter condições mais favoráveis para sobreviver em caso de déficit hídrico. Além disso estimulam a atividade da H^+ -ATPase da membrana plasmática, com um mecanismo

semelhante àquele das auxinas, e também exercem influência positiva sobre o transporte de íons facilitando a absorção, bem como promovem aumento no conteúdo de clorofila. (CANELLAS & SANTOS, 2005; CANELLAS & OLIVARES, 2014; FAÇANHA *et al.*, 2002; ZANDONADI, 2006).

Por causa dos benefícios já identificados das SH tanto para o solo como para as plantas elas podem representar eficiente alternativa à redução da quantidade de adubos químicos altamente solúveis em caso de cultivos convencionais e também representar solução imediata para propriedades que estejam em fase de transição do sistema convencional para produção agroecológica.

Vários produtores motivados pelo desejo de produzir alimentos livres de contaminação por agrotóxicos são impulsionados a migrar do sistema de cultivo convencional para agroecológico. Porém propriedades que estiveram vários anos sob sistema convencional, muitas vezes apresentam elevado nível de degradação do solo e empobrecimento da biodiversidade, o que pode levar à perda da produtividade e redução dos lucros. Então nos anos de transição agroecológica o produtor precisa fazer uso de insumos alternativos até que a fertilidade do solo seja construída e a biodiversidade restaurada (SILVA & SILVA, 2016).

Além de sua utilização em períodos de transição agroecológica, as SH também podem ser uma solução para reduzir uso excessivo de insumos orgânicos ou agroecológicos, já que algumas culturas possuem elevada exigência nutricional como o milho por exemplo, que pode demandar de 4 até 40 toneladas de composto orgânico por hectare para atingir produtividade satisfatória, e isso pode ferir o princípio da sustentabilidade por causa da logística demandada para que esse composto chegue até a área de produção do milho, vindo muitas vezes de outras regiões (FONTANETTI *et al.*, 2012).

Os trabalhos já realizados com a utilização das SH em plantas de milho foram em estágios iniciais da cultura, ainda em fase de plântula, porém, há escassez de estudos mostrando seus efeitos em plantas de milho que já se encontram em estádios mais adiantados de desenvolvimento. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes dosagens das SH em dois modos de aplicação sobre características morfológicas e fisiológicas da planta de milho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MILHO

No Brasil o milho é produzido de Norte a Sul, de acordo com sistemas próprios de produção, e é muito utilizado na alimentação humana e animal. Na dieta do brasileiro o milho é utilizado através de consumo direto em forma de farinha, angu, polenta, pamonha, cuscuz, canjica, curau, cozido ou assado, bolos, entre outros. O cereal tem também larga utilização na indústria, é matéria prima para produção direta ou indireta de aproximadamente 3500 itens. Na formulação de dietas para aves e suínos o milho é a principal fonte de energia, atinge até 80% da composição destas (CRUZ *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2011).

O milho é a segunda cultura mais produzida no Brasil, se destaca no cenário das atividades agropecuárias ligadas tanto a fatores econômicos quanto a fatores sociais. É a cultura mais frequente nas propriedades rurais e atingiu o recorde de 101 milhões de toneladas na safra 2019/2020 em uma área de 18,5 milhões de hectares (CRUZ *et al.*, 2011; CONAB, 2020).

Em torno de um quinto do milho produzido no Brasil é consumido de forma direta ou indireta dentro da própria propriedade, seja em sistema convencional, agroecológico ou sistema orgânico de produção (MÔRO & FRITSCHKE, 2015).

A planta do milho é uma das espécies vegetais mais eficientes na conversão da energia radiante em produção de biomassa, isso se deve ao seu mecanismo fotossintético C4 de fixação de CO₂ e também à sua alta capacidade fotossintética devido ao tamanho da área foliar. Uma semente que pesa, em média, 280 mg, resulta num período de aproximadamente 140 dias, em cerca de 200 a 250 g de grãos por planta, multiplicando 1000 vezes o peso da semente que a gerou e é capaz de produzir de 500 a 1000 grãos (FORNASIERI FILHO, 2007; SANGOI, 2012).

A planta de milho apresenta o mecanismo C4 para fixação de CO₂, isso quer dizer que apresenta carboxilação dupla, o primeiro é pela PEPcarboxilase, que é uma enzima do citosol, nas células do mesófilo e segundo pela RuBisco nos cloroplastos, pontualmente nas células da bainha dos feixes vasculares. Para esse tipo de mecanismo o primeiro produto estável da fotossíntese é um composto de 4 átomos de carbono, em plantas C4 não há foto respiração aparente por causa do mecanismo concentrador de CO₂ em torno da RuBisco, o que faz com que a queda da taxa fotossintética em C4 seja minimizada em caso de fechamento parcial dos estômatos e diminuição do influxo de CO₂ (TAIZ, & ZEIGER, 2009).

O ciclo de vida do milho é descrito em cinco subperíodos, germinação e emergência, crescimento vegetativo, florescimento, frutificação e maturidade. Para que o manejo seja realizado de maneira eficiente, a planta teve seu ciclo dividido em estádios fenológicos, que são identificados através de características morfológicas, já que a escala de tempo é inapropriada devido a variações causadas pelo ambiente e também pela genética dos diferentes materiais (FANCELLI, 2015).

Quando plantadas as sementes absorvem água, intumescem e começam a germinar. A radícula começa a se alongar, em seguida o coleóptilo também se alonga. O mesocótilo começa a se alongar rapidamente empurrando o coleóptilo em crescimento em direção à superfície do solo. Ao ocorrer a emergência e a exposição do coleóptilo, o mesocótilo pára de crescer. A planta pode levar de 4 dias até duas semanas para emergir, dependendo de condições de temperatura e umidade (MAGALHÃES & DURÃES, 2006).

A identificação dos estádios fenológicos na planta se dá pelo indicativo do número de folhas completamente expandidas, ou seja, pode ser visibilizada a região do colar que separa a bainha da lâmina foliar, quando podem também serem visualizadas a lígula e as aurículas. A máxima área foliar da planta de milho e sua estatura são atingidas no florescimento, quando então a planta encerra o crescimento vegetativo (SANGOI, 2012).

As raízes adventícias ou verdadeiras do milho que se originam nas gemas que estão na base dos nós subterrâneos surgem entre 7 a 15 dias após a germinação. O processo fotossintético se inicia quando a planta apresenta duas folhas completamente expandidas. No estágio V4 o sistema radicular já apresenta taxa considerável de ramificações, esse crescimento de raízes está diretamente ligado ao suprimento de carboidratos que foram sintetizados e acumulados na parte aérea (FANCELLI, 2015).

2.2 ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS

A matéria orgânica (MO) no solo, originada de resíduos vegetais e animais, está em um processo contínuo de decomposição, os compostos humificados apresentando diferentes estádios de transformação, podem chegar de 70 a 85% da matéria orgânica do solo (CANELLAS *et al.*, 2001; PERTUSATTI, 2007).

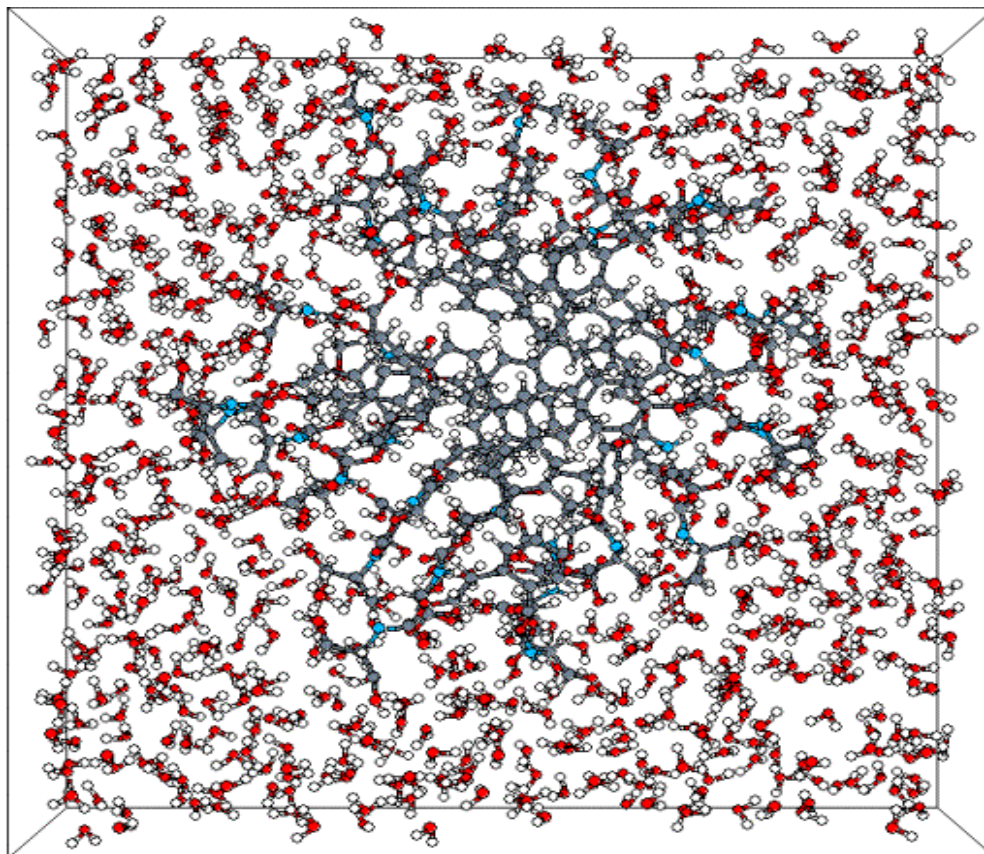
O último estágio de decomposição dos compostos humificados são as substâncias húmicas (SH) que devido às suas propriedades físicas, químicas e biológicas podem ser utilizadas como insumo alternativo nos cultivos, oferecendo benefícios para melhorar a estrutura e as propriedades do solo (CARON *et al.*, 2015).

O fracionamento das SH resulta em Ácidos Húmicos (AH), Ácidos Fúlvicos (AF) e a Humina (H), que podem ser classificadas conforme a sua solubilidade em meio alcalino e ácido (BENITES *et al.*, 2003).

Os AH são insolúveis em meio fortemente ácido porque a protonação dos grupos funcionais causa o colapso da sua estrutura e as macromoléculas se precipitam. Os AF apresentam grande quantidade de grupos funcionais oxigenados, são solúveis tanto em meio ácido como básico, e a H é insolúvel por ser a matéria orgânica que está intimamente ligada à fração mineral do solo (CANELLAS *et al.*, 2001; PERTUSATTI, 2007).

Os AH são compostos de cor escura e poliméricos, cuja formação se dá pela associação entre macromoléculas heterogêneas de grupos polifuncionais. Sua composição pode variar em função de sua origem, ou seja, animal, vegetal e microbiológico. Os grupos fenólicos governam a ordem de ionização desses ácidos, em função do pH, o que é determinado principalmente pela quantidade de grupos fenólicos e carboxílicos ionizáveis. (MORAES *et al.*, 2004)

Análises mostram que há mais carbono e nitrogênio e menos oxigênio em cada unidade de massa de ácido húmico do que em ácido fúlvico. Por causa disso maiores são as razões molares hidrogênio para carbono e oxigênio para carbono em ácido fúlvico do que em ácido húmico, mostrando que o ácido húmico é mais aromático e menos polar (SPOSITO, 2004). Métodos espectroscópios na identificação do C nas frações húmicas e fúlvicas do solo mostraram que aproximadamente um terço do carbono é aromático e o carbono polar é responsável por 40% do total em ácidos húmicos e, em média, aproximadamente metade do carbono nos ácidos fúlvicos do solo possui associações com partes que contêm oxigênio, e um quarto do carbono associa-se a compostos aromáticos (Figura 1, Tabela 1).



Van Duin et al. 2000

Figura 1- Modelo computacional de fase de ácido húmico, composta por 24 monômeros idênticos, dissolvidos em água. A fase húmica foi pré-configurada com os grupos de ácidos hidrofílicos apontando para a fase aquosa e os anéis aromáticos hidrofóbicos agrupados no centro da fase húmica. Os átomos de oxigênio estão representados em vermelho, átomos de carbono em preto, átomos de nitrogênio em azul e átomos de hidrogênio em branco.

OS AH e AF se originam através de um lento processo de decomposição biológica, oxidação e condensação. Tais são associações supramoleculares de vários componentes de baixo peso molecular, que parecem estar unidos por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, apresentando duas propriedades que são fundamentais. A primeira é a associação supramolecular ou assembléias auto-organizadas de diversos compostos orgânicos, com um predomínio hidrofílico (ácidos fúlvicos) ou hidrofílico-hidrofóbico (ácidos húmicos), mediado por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. A segunda propriedade é sua origem biomolecular, onde os fragmentos identificáveis biopoliméricos são parte integrante de uma arquitetura molecular lábil controlando o comportamento de conformação e a reatividade química (SPOSITO, 2004).

Tabela 1- Algumas propriedades químicas importantes das SH

	Ácidos fúlvicos	Ácidos húmicos	Humina
Peso molecular	640 – 5.000	10.000 – 100.000	> 100.000
C %	42 – 47	51 – 62	>62
O %	45 – 50	31 – 36	<30
N %	2,0 – 4,1	3,6 – 5,5	>5
Capacidade de Troca Catiônica (cmol. kg ⁻¹)	~1.400	~500	<500

Adaptado de Benites et al. 2003.

Os AH e AF são oriundos de turfas, sedimentos, solo e água, apresentam composição variada, apresentam pequenas quantidades de nutrientes e podem ser complementados com macro e/ou micronutrientes (CARON *et al.*, 2015).

2.3 AÇÃO DOS ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS

Há estudos que pontuam alguns indicadores da bioatividade dos AH e AF, são eles, grupamentos funcionais com efeito análogo às auxinas, capacidade de ativar as bombas de prótons da membrana plasmática e a expressiva proliferação e crescimento de raízes finas (CANELLAS *et al.*, 2002; FAÇANHA *et al.*, 2002, RIMA *et al.*, 2011)

AH e AF também são considerados como condicionadores de solo, trazem benefícios para a estrutura física, química e biológica do solo. Também apresentam potencial de ação como biorreguladores, e bioativadores interferindo em processos morfológicos e fisiológicos das plantas, aumentando a absorção de íons, produzindo precursores de hormônios vegetais, alterando o transporte iônico e atuando em enzimas metabólicas capazes de afetar o metabolismo secundário, despertando mecanismos de defesa da planta e assim ela enfrenta melhor as condições adversas do ambiente (CASTRO *et al.*, 2017).

As melhorias na estrutura física ocorrem por causa da maior retenção de água, aumento da aeração, melhor agregação das partículas coloidais aumentando a resistência à erosão. As melhorias químicas acontecem devido à ação complexante dos AH e AF com alguns elementos metálicos que podem causar fitotoxidez e também porque aumentam o poder tampão do solo, reduzindo as variações do pH. Proporcionam condições ideais para desenvolvimento e manutenção da microbiota do solo (CARON *et al.*, 2015).

Os AH e AF influenciam ainda a dinâmica do NH_4^+ no solo, promovem a diminuição da perda de nitrogênio para atmosfera, e também reduzem sua movimentação no solo, diminuindo suas perdas por lixiviação. Além disso as substâncias húmicas possuem a capacidade de complexar metais pesados, exemplo, mercúrio e níquel nos solos cultivados (BOTERO *et al.*, 2014).

Os AH e AF promovem o aumento da biomassa e o tamanho de raízes, induz crescimento de raízes laterais e pelos radiculares, permitindo que a planta explore melhor o perfil do solo e tenha mais condições de sobreviver em caso de déficit hídrico. Além disso conduz a alterações bioquímicas como a atividade e síntese da enzima H^+ -ATPase da membrana plasmática, com um mecanismo semelhante àquele das auxinas. Há estudos que confirmam o efeito fisiológico das SH tanto no metabolismo primário, como secundário das plantas (FAÇANHA *et al.*, 2002; CANELLAS & SANTOS, 2005; CANELLAS & OLIVARES, 2014).

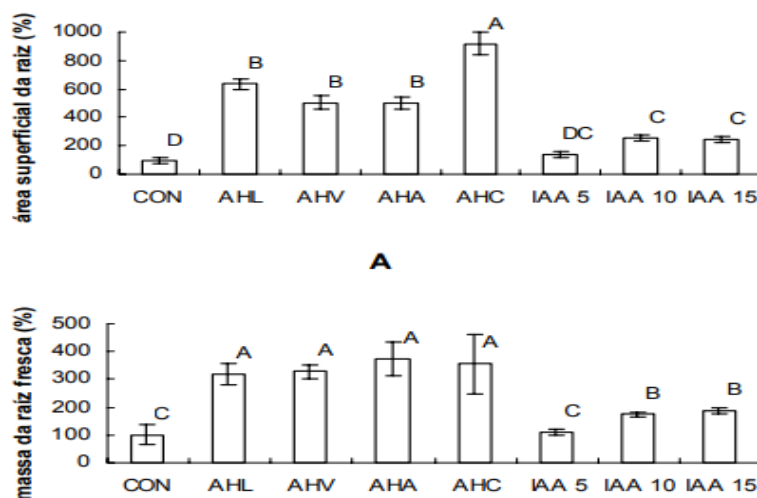
Aparentemente as SH não são responsáveis pela ativação da H^+ -ATPase através de interação direta, mas sim as subunidades das SH dissociadas através do ácidos exsudados pelas raízes acessam receptores na superfície celular da raiz e daí o estímulo é transmitido para o interior da célula onde ocorre a ativação da H^+ -ATPase (FAÇANHA *et al.*, 2002).

Os AH podem ser absorvidos diretamente, não se conseguiu identificar claramente se essa absorção é da estrutura completa ou somente parte fragmentada por microorganismos, esses resultados foram evidenciados através de anticorpos marcados (CANELLAS & SANTOS, 2005)

Ainda há muito a ser estudado sobre os mecanismos dos ácidos húmicos e fúlvicos nas plantas que podem induzir ao crescimento e ao aumento da produtividade (ZANDONADI, 2006).

2.4 RESULTADOS DA APLICAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS E ÁCIDOS FÚLVICOS.

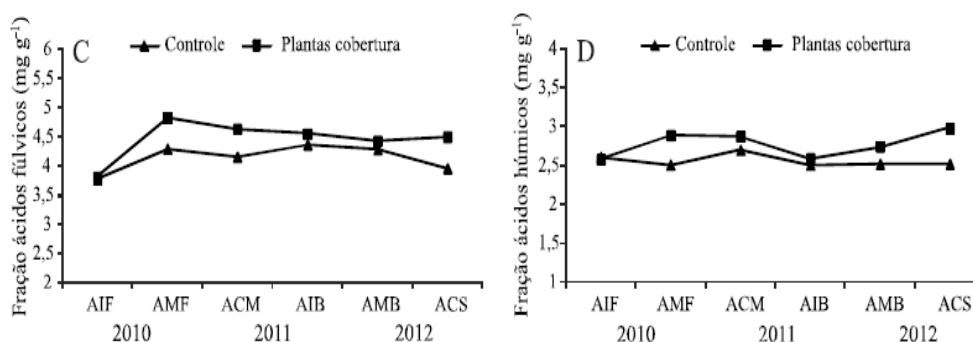
Em um trabalho utilizando ácidos húmicos de diferentes fontes e três concentrações de AIA, 10^{-5} , 10^{-10} e 10^{-15} M para tratar plântulas de milho por cinco dias, verificou-se que os ácidos húmicos proporcionaram um incremento quatro vezes maior nas áreas radiculares do que as menores doses de auxina (ZANDONADI, 2006). Houve incremento de 244% na matéria fresca de raízes nos tratamentos onde foram utilizados os ácidos húmicos e as duas maiores doses de AIA proporcionaram cerca de 80% de incremento (Figura 2).



Zandonadi, 2006

Figura 2 - Efeito de diferentes AH (AHA - Argissolo; AHC - Cambissolo; AHL - Lodo de esgoto; AHV - Vermicomposto) e concentrações de auxina 10^{-5} , 10^{-10} e 10^{-15} M (IAA5, IAA10 e IAA15, respectivamente). Dados obtidos de quatro experimentos independentes (10 plantas por tratamento em cada um)

Avaliação das alterações nos teores AH e AF em um Latossolo Vermelho Eutroférico, após dois anos de cultivo com sistema de rotação entre as seguintes plantas de cobertura, *Mucuna deeringiana*, *Cajanus cajan* e *Crotalaria juncea*, e milho, outro tratamento foi com *Brassica napus*, *Crambe abyssinica* *Raphanus sativus* e soja. Encontrou que a concentração de carbono presente nas frações húmicas foi semelhante entre o tratamento controle e as plantas de cobertura (ROSA et al 2017). Já os ácidos fúlvicos apresentaram maior teor após o cultivo da soja. Esse resultado mostra o que ocorre em estudos da concentração de carbono dos AH e AF, onde as mudanças iniciais são observadas e esperadas nas frações ácidos fúlvicos, porque esta fração representa o estágio inicial no processo de estabilização da matéria orgânica (Figura 3).



ROSA et al 2017

Figura 3 - Valores da fração ácidos fúlvicos (C), ácidos húmicos (D) antes da implantação das leguminosas (AIL), após o manejo das plantas de cobertura leguminosas (AML), após a colheita da cultura do milho (ACM), antes da implantação das brassicáceas (AMB), após o manejo das plantas de cobertura brassicáceas (AMB) e após a colheita da cultura da soja (ACS) em análises nos anos agrícolas 2010/2011 e 2011/2012 (ROSA *et al.*, 2017).

Em avaliação de inoculação de sementes de feijoeiro contendo os seguintes tratamentos, controle sem inoculação, adubação nitrogenada, inoculação com *Rhizobium*, e inoculação mix de duas estirpes de *Rhizobium* mais ácido húmico (MELO *et al.*, 2017). As plantas do feijoeiro de todos os tratamentos foram submetidas a estresse hídrico 12 dias antes da floração. Os autores concluíram que o teor relativo de água dos discos foliares foi significativamente maior no tratamento inculado com o mix e que também houve maior recuperação após o estresse nesse tratamento e maior acúmulo de biomassa na parte aérea.

Avaliação da bioatividade de AH e AF extraídos de solos sob quatro diferentes sistemas de cultivo, sendo eles, sistema de integração lavoura, pecuária e florestas; cerrado; eucalipto solteiro e pastagem solteira no desempenho inicial da planta de milho como planta indicadora, onde as sementes ficaram imersas por quatro horas em solução de AH e AF contendo 0, 10, 20, 40 e 80 mmol L⁻¹ (BALDOTTO *et al.*, 2017). Os autores concluíram que as substâncias húmicas isoladas do solo que foi manejado sob integração proporcionaram maior teor de matéria seca de parte aérea e raízes na planta de milho. Nesse solo também foi detectada a maior bioatividade das substâncias húmicas.

2.5 OBTENÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

Para que seja realizado o isolamento das SH, separando-a dos constituintes inorgânicos do solo, água e sedimentos e a caracterização de suas propriedades químicas, é necessário a utilização de um extrator (CANELLAS & SANTOS, 2005)

Mediante a ampla variedade de extratores e procedimentos que são utilizados para extrair as SH, a International Humic Substances Society (IHSS) recomenda como extrator padrão o NaOH na concentração de 0,5 ou 0,1 mol L⁻¹

As soluções aquosas de base forte como NaOH, KOH ou Na₂CO₃ 0,1 ou 0,5 mol L⁻¹ na razão de 1:5 até 1:10 (m/v) de solo/extrator, extraem eficientemente as substâncias húmicas do solo com um rendimento de até 67 % do total da matéria orgânica (OLIVEIRA, 2011). O NaOH, Na₂CO₃, Na₄P₂O₇ e o ácido fórmico apresentam rendimento de até 80, 30, 30 e 55% respectivamente.

A combinação das moléculas dos grupos funcionais das substâncias húmicas com a solução de base, ou solvatação, é causada pela ação de repulsão eletrostática das cargas negativas que estão presentes nas estruturas das suas moléculas. A dissolução dos grupamentos funcionais acontece com o pH da solução extratora entre 11 e 13. A solução alcalina apresenta elevada capacidade de extração, mas há algumas desvantagens nesse método tais como, a dissolução da sílica presente no material silicatado, o que representa um contaminante para as substâncias húmicas. Outra desvantagem é a dissolução também de biopolímeros dos tecidos vegetais ainda não decompostos sendo incorporado às SH (OLIVEIRA, 2011).

Além disso, condições alcalinas podem levar à alterações na estrutura das moléculas das SH, uma vez que podem ocorrer reações de auto-oxidação e de condensação entre os grupos nitrogenados dos aminoácidos e outros compostos que apresentem similaridade (CANELLAS & SANTOS, 2005).

Uma forma muito utilizada para diminuir os riscos de ocorrências de reações de auto condensação é que a extração das SH seja realizada sob atmosfera de N₂, pois sob atmosfera inerte há a diminuição de ocorrência de possível reação da solução com o O₂ dissolvido. Para que haja a redução da concentração do O₂ que está livre na solução é realizado um borbulhamento durante 15 minutos da solução alcalina. Ao se isolar as SH, uma forma de evitar que ocorra alterações em sua estrutura química consiste em utilizar sais neutros por serem extratores mais suaves, apesar que estes apresentam menor eficiência de extração (OLIVEIRA, 2011). Lembrando que SH extraídas com os extratores mais comumente

utilizados, NaOH e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, apresentam quantidade e características que vão variar de forma considerável dependendo do tipo de solo ou do resíduo orgânico que está sendo avaliado.

A maneira mais amplamente utilizada para quantificar substâncias húmicas é determinar o teor de carbono orgânico total e um dos métodos mais utilizados para extração das substâncias húmicas no Brasil é o de Benites et al. (2003).

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO

Foram conduzidos dois experimentos simultâneos em um telado do Programa Milho no Vale da Agronomia - Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. O período compreendido foi de 08 de abril a 13 de junho de 2019. As coordenadas geográficas do local são as seguintes, 20°45'14'' e 42°52'53'' W com altitude de 650 m. O clima predominante na região é o tropical de altitude (classificação de Köpen-Geiger), cuja caracterização se dá pelo inverno frio/seco e verão quente/chuvoso, com temperatura média anual de 19,4° C, sendo a mínima de 14,8° C e máxima de 26, 4° C.

O delineamento aplicado foi inteiramente casualizados, constituído por quatro tratamentos em quatro repetições para cada experimento. Os experimentos foram conduzidos em vasos de polipropileno, com volume de 22 litros cada. O substrato utilizado para preenchimento dos vasos foi 50% de Latossolo Vermelho Distrófico mais 50% de areia com a finalidade de facilitar a remoção das raízes para avaliação. Foi realizada análise do solo em questão, com a finalidade de determinar pH, macro e micronutrientes e matéria orgânica (Tabela 2)

Tabela 2 -Resultado da análise química do solo utilizado como parte do substrato para os vasos

pH	MO	P ⁽¹⁾	K	Ca ⁽²⁾	Mg	Al	H+Al	SB	t	T	V
H ₂ O	dag/kg	--mg/dm ³ --		---	-----	cmol _c /dm ³ -----					%
5,7 ⁽¹⁾	2,15	14,43	97	1,45	0,63	0,0	3,30	2,33	2,33	5,63	41,4

(1) P K Extrator Mehlich 1

(2) Ca - Mg - Al - Extrator: KCl - 1 mol/L

Laboratório de Análises de Solo Viçosa LTDA.

Como fonte de substâncias húmicas foi utilizado o produto comercial Lottus[®], que de acordo com resultado de análise, apresenta 28,5% de carbono orgânico total, sendo que nessa fração 6,35% são formados por AH e 1,6% de AF (Embrapa Solos, 2016).

Os tratamentos consistiram na aplicação do equivalente a 0, 5, 10 e 20 litros do produto comercial Lottus[®] por hectare, para cada um dos dois experimentos, sendo que no primeiro experimento a dosagem foi toda aplicada no plantio, simulando uma aplicação em sulco. No segundo experimento as doses foram fracionadas em dois momentos, metade no

plantio simulando uma aplicação em sulco e a outra metade aplicada via pulverização foliar com as plantas no estágio V4, ou seja, com quatro folhas completamente expandidas.

Para a pulverização das plantas foi utilizado pulverizador de CO₂ previamente calibrado com base em recomendação do fabricante para um volume de calda equivalente a 80 litros por hectare. A dosagem de cada tratamento foi preparada em garrafas individuais e a cada dosagem aplicada o bico e as mangueiras eram lavados antes de iniciar a aplicação das dosagens seguintes. Os vasos de cada repetição foram retirados do delineamento e colocados à parte, isolados por bandeiras, para aplicação das dosagens via foliar evitando a deriva de produto para plantas de outros tratamentos.

Os experimentos foram irrigados através de sistema de gotejamento com válvula solenoide e timer acoplado com programação para irrigações diárias de meia hora.

Foram utilizadas sementes do milho híbrido P3898 que é um híbrido simples convencional de ciclo médio. Foi feito o plantio de 3 sementes por vaso e aos 10 dias após a emergência foi feito o desbaste, ficou somente uma planta por vaso. Não foi aplicada adubação.

3.2 AVALIAÇÕES

3.2.1 Análise morfológica do sistema radicular

As avaliações da morfologia do sistema radicular das plantas foram realizada com o auxílio do sistema de análises de imagens digitais WinRhizo Pro (Régent Instruments Inc.) acoplado ao scanner profissional Epson XL 10000 equipado com unidade de luz adicional (TPU). As variáveis analisadas foram: comprimento radicular total (CRT), que também foi analisado através de suas diferentes classes de diâmetro divididas em raízes laterais e axiais; número de pontas (NP), número de ramificações (NR), bifurcações (NB), massa seca (MS), área superficial total de raiz (ASPR) e volume total de raiz (VTR).

As plantas inteiras foram coletadas cuidadosamente dos vasos e foram lavadas em água corrente para retirada de todo o substrato. A separação da parte aérea e sistema radicular foi através de um corte na altura do coleto.

Depois de lavadas as raízes foram armazenadas em recipientes individuais contendo uma solução de etanol a 25% até o momento de serem avaliadas (SOARES *et al.*, 2009).

Devido as plantas estarem já em V8, ou seja, com o sistema radicular bem desenvolvido, foi retirada uma amostra para ser escaneada. Cada raiz foi colocada

individualmente em uma superfície e foi realizada a medição do comprimento, em seguida foi feito o fracionamento em três partes, sendo retirada uma fração representativa do terço médio e colocada em recipiente, também com solução alcóolica, previamente identificado (ALMEIDA *et al.*, 2019).

Para se proceder ao escaneamento a amostra de raiz retirada do terço médio foi disposta na cuba de acrílico do escâner contendo uma lâmina d'água de aproximadamente um centímetro, sem sobreposição (SOARES, 2009).

Após escanear e analisar todas as amostras, tanto a amostra como a raiz remanescente foram colocadas em saco de papel separadamente e identificadas, então foram levadas a estufa de ventilação forçada a 65°C. Após 72 horas, quando ocorreu a estabilização do peso, todas as amostras foram pesadas e foi feita a estrapolação dos valores para raiz total das amostras.

As raízes laterais e axiais foram classificadas baseando-se nas diferentes classes de comprimento de diâmetro obtidas pelo WinRhizo, raízes com diâmetro menor que 0,5 mm foram classificadas como raízes laterais e acima de 0,5mm como raízes axiais (TRACHSEL *et al.*, 2009).

3.2.2 Análise fisiológica

As medições da fotossíntese, concentração interna de carbono na folha, eficiência instantânea de carboxilação, temperatura foliar, transpiração, condutância estomática, eficiência intrínseca de uso da água e eficiência de uso da água foram realizadas através do IRGA - Infra Red Gas Analyser -Sistema de fotossíntese portátil que registra a taxa líquida de trocas de CO₂ por unidade de área foliar (Departamento de Fitotecnia - UFV).

As medições das trocas gasosas foram realizadas com as plantas em V8, ou seja, com a 8ª folha completamente expandida, quando inicia-se a queda das primeiras folhas e o número de fileiras de grãos é definido. (COELHO E FRANÇA, 1995; FANCELLI, 2015).

No dia da medição das trocas gasosas os dados climatológicos mostraram variação na temperatura de aproximadamente 7,5°C durante as horas que as plantas passavam por avaliação e também houve aumento na radiação solar e consequente diminuição na umidade relativa (Figura 4).

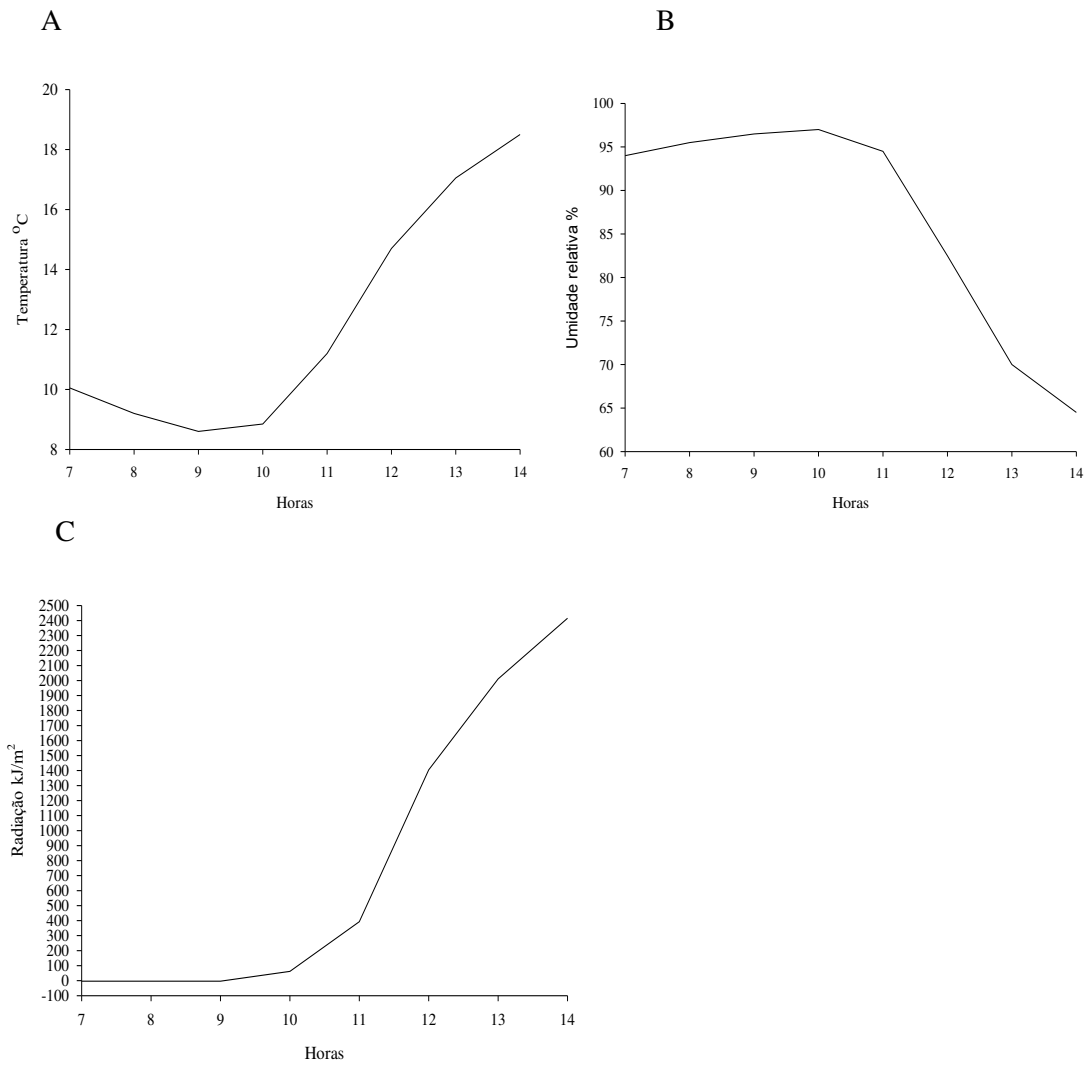


Figura 4 - Temperatura média do ar (A), umidade relativa (B) e radiação solar (C) registradas nas horas das medições das trocas gasosas nas plantas de milho.

4 ESTATÍSTICA

Os parâmetros morfológicos do sistema radicular foram analisados através do software R, através do qual foram escolhidos os modelos de regressão mais adequados para explicação do comportamento dos dados em resposta aos diferentes níveis do fator em estudo.

O ponto de máxima eficiência, ou ponto de máximo, foi obtido através da derivação da equação.

Os resultados das características fisiológicas foram analisados por método não paramétrico, através do cruzamento ou não dos intervalos de confiança de cada nível do fator em estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MORFOLOGIA DE RAÍZES

No experimento 1 algumas variáveis do sistema radicular sofreram efeito quadrático em relação às diferentes dosagens, são elas, comprimento total, massa seca, área superficial e volume total. Para essas características houve incremento inicial até determinado ponto, em seguida aconteceu a estabilização e por fim o decréscimo nas maiores dosagens utilizadas. Esse comportamento tornou possível a identificação da dosagem de maior eficiência ou ponto de máximo. Baldotto et al. (2017) e Canellas et al. (2002) também identificaram comportamento semelhante analisando essas variáveis em seus estudos com diferentes dosagens de substâncias húmicas.

Para comprimento radicular total (CRT) a dose que apresentou o maior comprimento foi 13,42 L ha⁻¹ houve incremento de aproximadamente 43% em relação ao controle (Figura 5). Com maior comprimento radicular a planta pode explorar melhor o perfil do solo, penetrando em camadas mais profundas em busca de água e nutrientes e em caso de déficit hídrico, essa planta está em maior vantagem do que uma planta que apresenta menor sistema radicular. (TRACHSEL *et al.*, 2009).

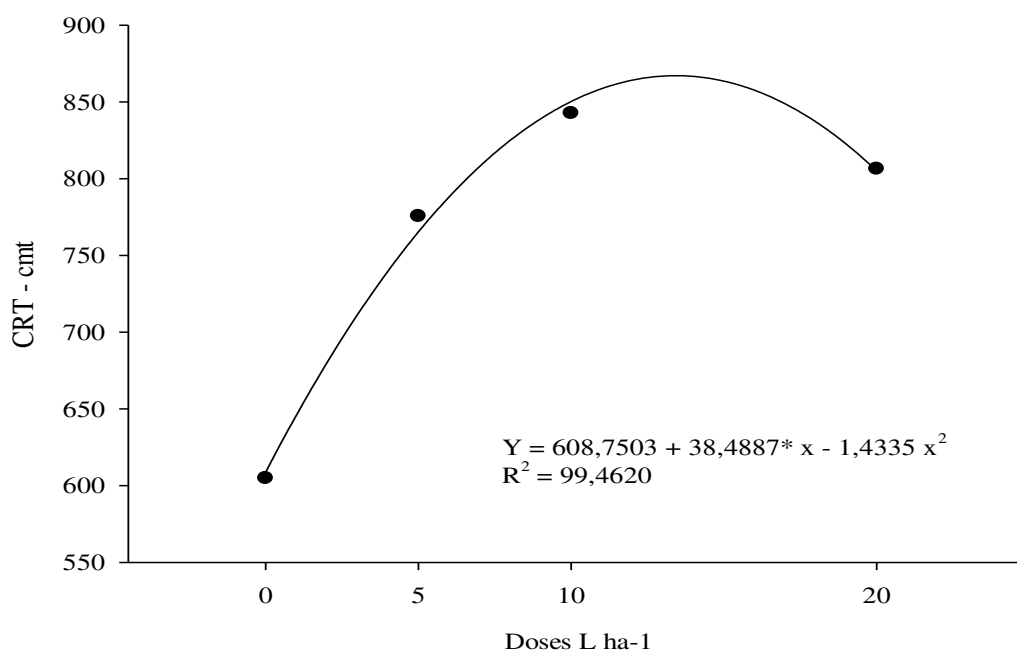


Figura 5- Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre o comprimento radicular total (CRT) no experimento 1, * significativo a $p < 0,05$. Ponto de máximo: $x = 13,42 \text{ l ha}^{-1}$

Zandonadi (2006) comparou o efeito de SH com AIA (ácido indolacético) no sistema radicular de plântulas de milho, as SH foram responsáveis por promover um incremento de 4 vezes mais no comprimento radicular e na quantidade de raízes laterais emergidas do que o próprio AIA. No trabalho de Zandonadi (2006) também foram avaliados os sítios de mitose da zona de diferenciação celular das raízes, onde estão as células meristemáticas responsáveis pela emissão de raízes laterais, e as SH promoveram um estímulo de 50% a mais nos sítios de mitose, confirmando uma vez mais a capacidade das SH em promover aumento no sistema radicular.

O CRT foi analisado também de acordo com as diferentes classes de diâmetro conforme método proposto por TRACHSEL et al. (2009), onde diâmetro <0,5mm = raízes laterais, >0,5 mm= raízes axiais. O comprimento das raízes laterais também apresentou efeito quadrático. Houve incremento de aproximadamente 28% na quantidade de raízes laterais no ponto de máximo em relação a dose 0 (Figura 6). As raízes laterais tiveram um crescimento 8 vezes maior do que as raízes axiais (Figura 7).

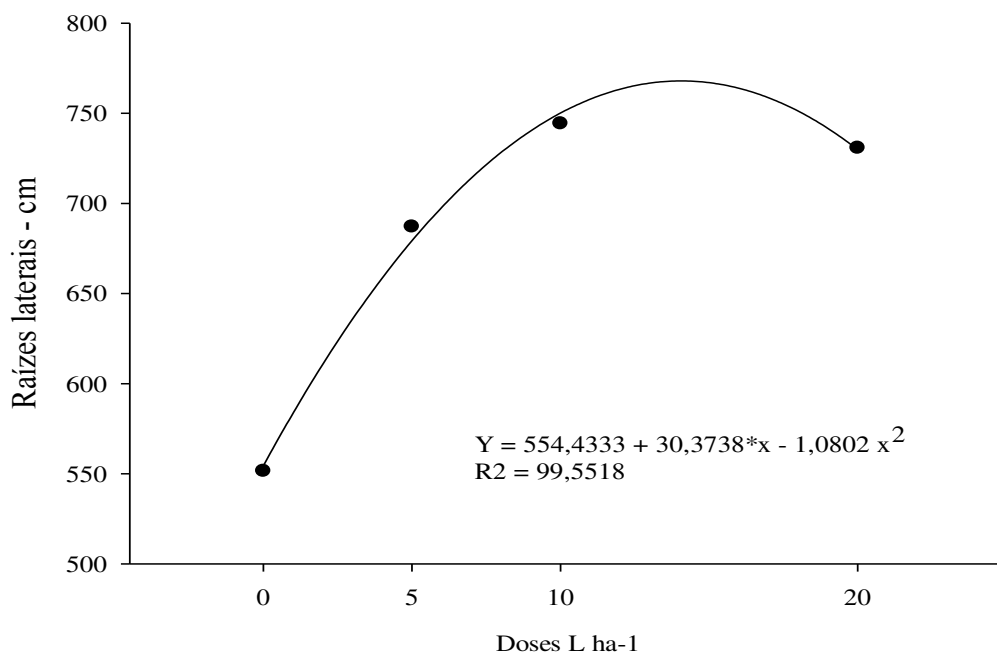


Figura 6- Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre o crescimento de raízes laterais, experimento 1, significativo a $p < 0,05$.

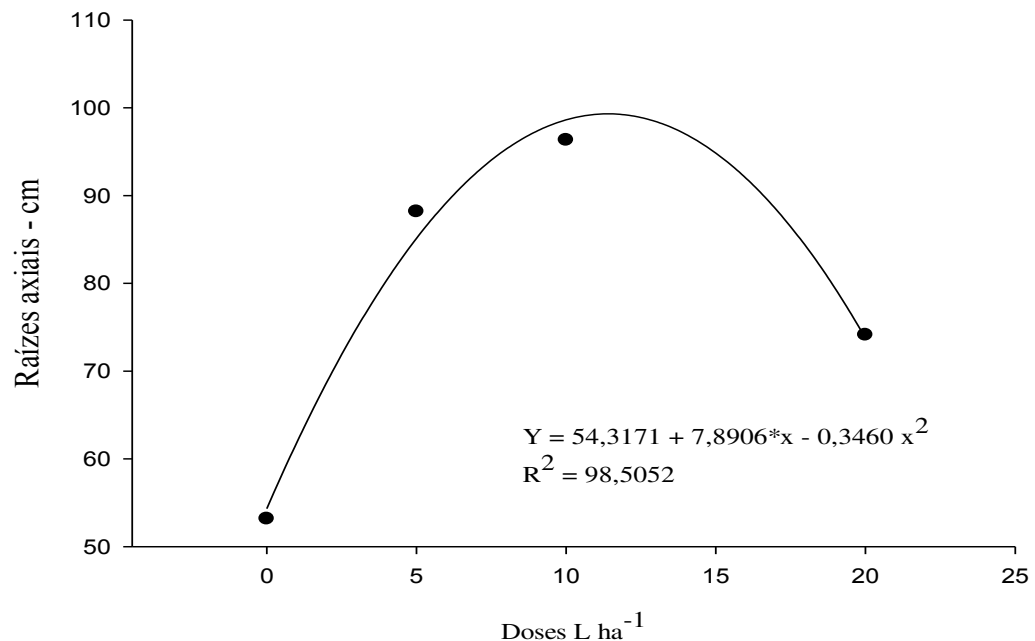


Figura 7 Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre o crescimento das raízes axiais, experimento 1, significativo a $p < 0,05$.

Rima et al. (2011) tratando plântulas de milho com AH identificaram aumento de 37% das raízes laterais em relação ao controle, e as raízes axiais apresentaram redução de 40%.

Estudos mostram o aumento no número de raízes laterais e redução das raízes axiais como resultado da aplicação de auxina exógena, sugerindo assim ação hormonal dos AH (CANELLAS *et al.*, 2002; ZANDONADI *et al.*, 2006)

Além do estímulo que as SH promovem para o crescimento das raízes laterais em detrimento das axiais, a grande diferença entre o comprimento de raízes laterais e axiais no presente trabalho também pode ser explicada pelo fato de que as axiais apresentam crescimento linear, já as raízes laterais crescimento exponencial nos estágios iniciais da cultura, ou seja há aumento exponencial das raízes laterais continuamente até a planta atingir comprimento e densidade finais das primeiras raízes laterais. A partir daí acontece somente o crescimento linear, o que resulta em longas raízes laterais, o aumento crescente no número de pontas é responsável pelo crescimento exponencial dessas raízes (HUND *et al.*, 2009; TRACHSEL *et al.*, 2009).

O crescimento menos acentuado das raízes axiais também pode ser explicado pelo fato de que não foi utilizada nenhuma fonte de adubação no presente trabalho e a planta precisa de

nutrientes para que aconteça a produção dos metabólitos que serão alocados para formação de sua parte aérea e raízes. Estudos mostram que quando há o fornecimento adequado de nutrientes, há crescimento mais acentuado das raízes axiais e diminuição do número de raízes laterais, assim as plantas apresentam sistema radicular mais profundo, visto que as raízes laterais são mais superficiais (HUND *et al.*, 2009; TRACHSEL *et al.*, 2009).

Os efeitos do produto estudado foram observados principalmente no sistema radicular e também mostraram reflexo nas medições das trocas gasosas realizadas nas folhas com incremento linear da taxa fotossintética, como será visto posteriormente. As medições mostraram que o estresse abiótico que as plantas enfrentaram por causa da ausência de adubação suplementar de base pode ter afetado significativamente seu metabolismo fisiológico. As manifestações mais expressivas do produto ocorreram no conjunto de raízes laterais do milho.

As raízes laterais são as maiores responsáveis pela secreção dos ácidos orgânicos e fosfatases ácidas, apresentam grande importância na aquisição de nutrientes imóveis como o fósforo. Na planta de milho essas raízes também podem ser importantes para sustentar o crescimento em caso de temperaturas mais baixas. Já as raízes axiais podem se aprofundar no solo em busca de água e também são responsáveis pela maior parte da absorção do nitrogênio (HUND *et al.*, 2009).

O número de pontas, ramificações e bifurcações das raízes, apresentou crescimento linear em relação ao aumento da dosagem, sendo que a dose de 20 litros por hectare, proporcionou um incremento de aproximadamente 68% em relação à dose 0 para número de pontas, 80% para ramificações e 63% para bifurcações (Figura 8, 9 e 10).

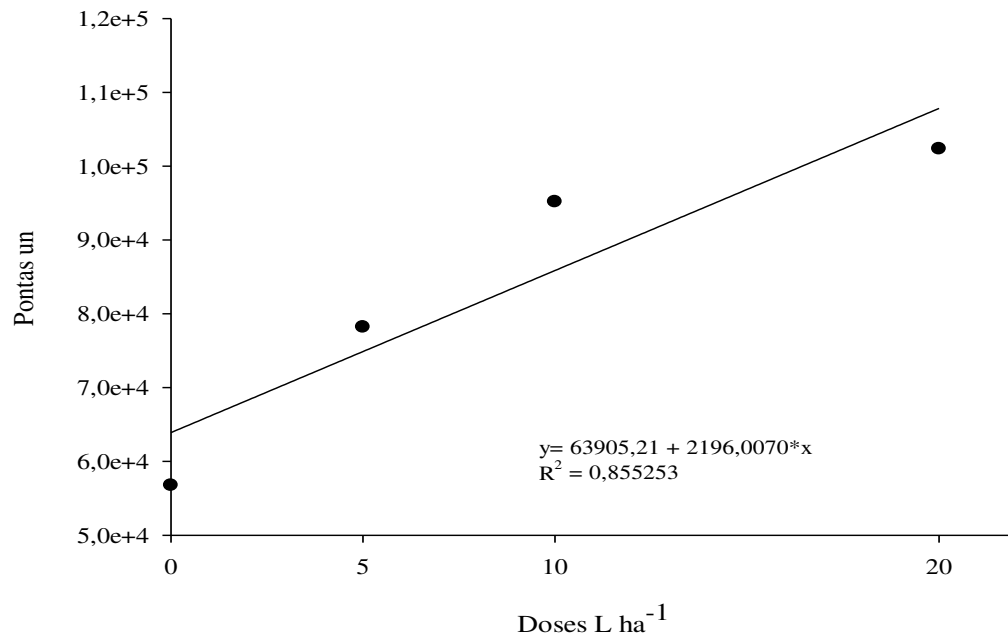


Figura 8 – Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre o número de pontas (tips) de raízes, experimento 1. * significativo a $p < 0,05$.

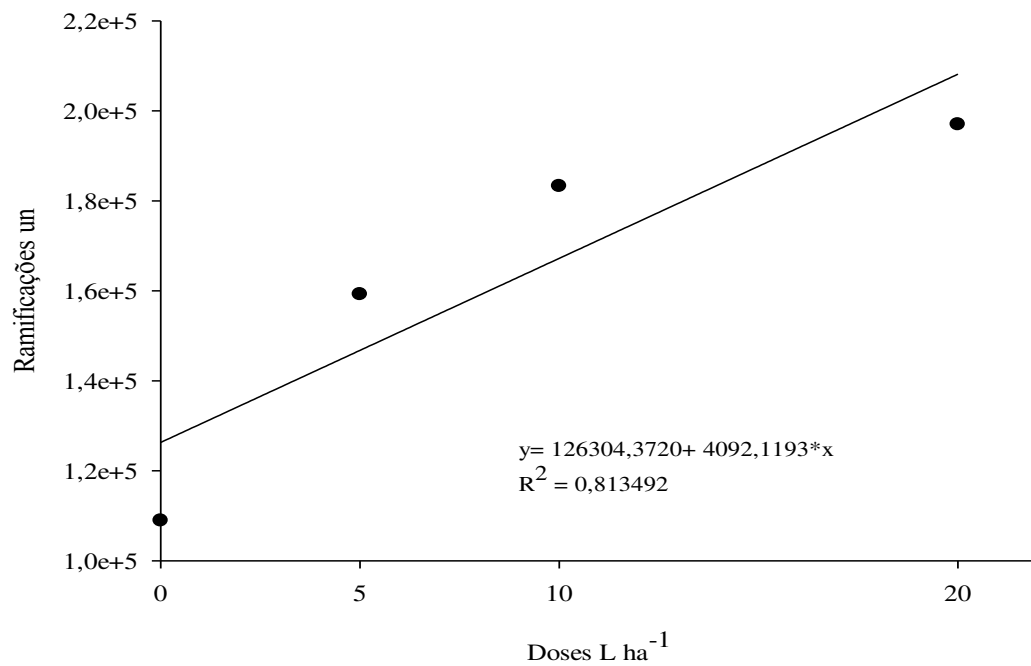


Figura 9 - Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre o número de ramificações (forks) de raiz, experimento 1. * significativo a $p < 0,05$.

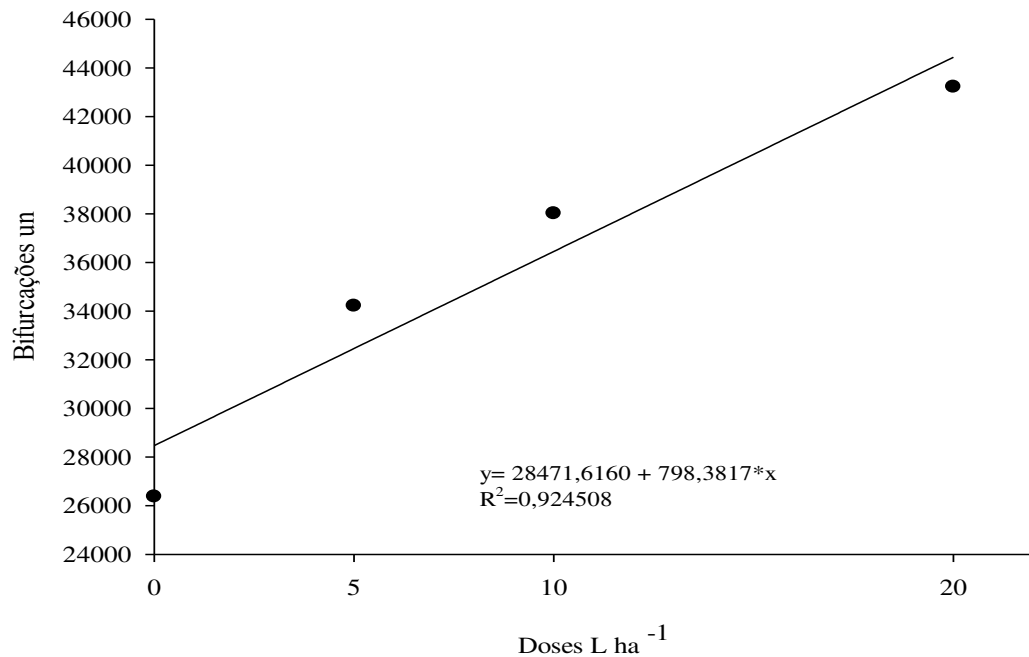


Figura 10 - Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre o número de bifurcações (crossing) de raiz, experimento 1. * significativo a $p < 0,05$.

As pontas ou meristemas de raiz, entre outras funções, são as principais responsáveis pela exsudação dos ácidos orgânicos, especialmente as pontas das raízes laterais, que na planta de milho podem quebrar as SH em compostos bioativos ou subunidades estruturais, estas localizam e acessam receptores presentes na superfície da célula radicular ou em seu interior conduzindo a estímulos que promovem o aumento do comprimento radicular e também da área superficial de raiz (FAÇANHA *et al.*, 2002).

Os ácidos liberados pelas pontas das raízes oferecem condições à planta para enfrentar situações de estresse, como por exemplo, em situações onde o solo apresenta alto teor de AL_3^+ as pontas das raízes de milho liberam o citrato, aquelas tolerantes exsudam maiores quantidades e as não tolerantes pequenas quantidades. Nas pontas também há maior concentração do mecanismo que promove respostas das plantas em caso de baixa quantidade de fósforo no solo (PIÑEROS *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2014).

A massa seca (MS) de raízes do experimento 1 também apresentou efeito quadrático em relação aos diferentes níveis do fator em estudo, quando foi feita a derivação da equação o ponto de máximo foi de 12,03 L ha⁻¹ seguindo a tendência do comprimento total de raízes, ocorrendo incremento de aproximadamente 89% de MS em relação ao controle (Figura 11).

Além de ser fundamental para a sustentação da planta, também contém nutrientes, energia, proteínas, minerais e vitaminas. Esse material ao se decompor fornece matéria orgânica ao solo e por ser mais lignificado apresenta menor taxa de decomposição do que a parte aérea, contribuindo na conservação de solos (GREGORI, 2006).

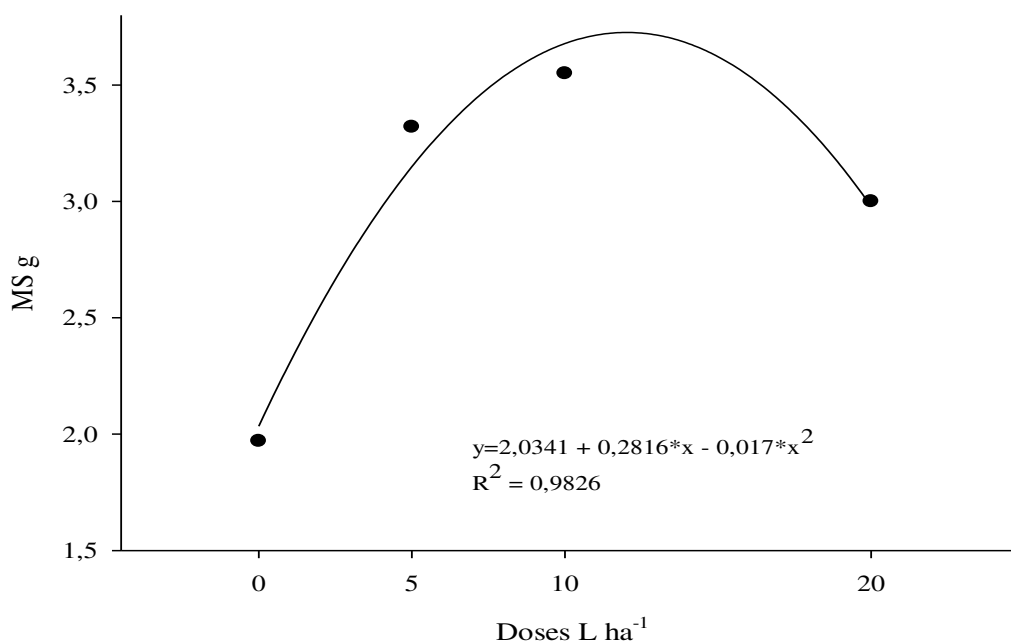


Figura 11- Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre a matéria seca (MS) de raízes, experimento 1. * significativo a $p < 0,05$. Ponto de máximo: $x = 12,03 \text{ l há}^{-1}$

No experimento 1 a área de superfície de raiz que também apresentou efeito quadrático teve seu ponto de máximo em $12,49 \text{ L há}^{-1}$ com incremento de aproximadamente 57 % em relação ao controle, (Figura 12). No trabalho de Rima et al. (2011), o incremento foi de 45% em relação ao controle.

No presente trabalho cerca de 70% de toda a superfície radicular foi advinda de raízes com diâmetro menor que 0,5 mm, ou seja as raízes finas ou laterais, cuja importância foi mencionada anteriormente.

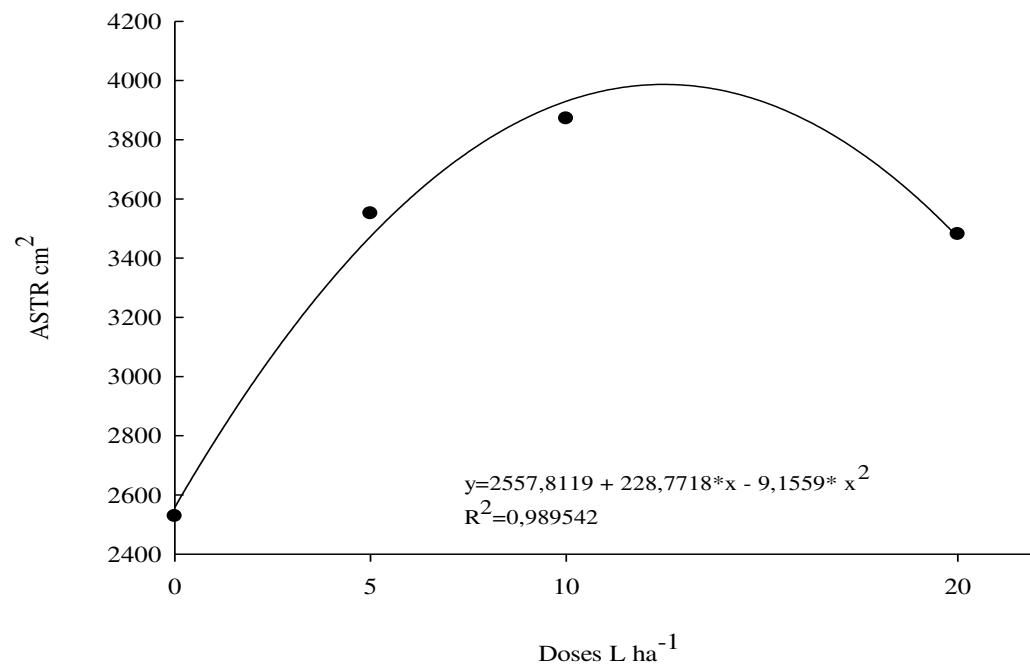


Figura 12 - Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre a área de superfície total de raiz (ASPR), experimento 1. * significativo a $p < 0,05$. Ponto de máximo: $x = 12,49 \text{ l ha}^{-1}$

Para o volume total de raiz do experimento 1 o ponto de máximo foi atingido com a dose de 12,03 L ha⁻¹, com um incremento de aproximadamente 74% em relação ao controle (Figura 13). Maior volume de raízes que estejam fisiologicamente ativas com maior área superficial apresentam grande potencial para explorar maior volume de solo e isso pode facilitar a vida da planta nos diferentes ambientes e situações encontradas no solo (NIBAU *et al.*, 2008).

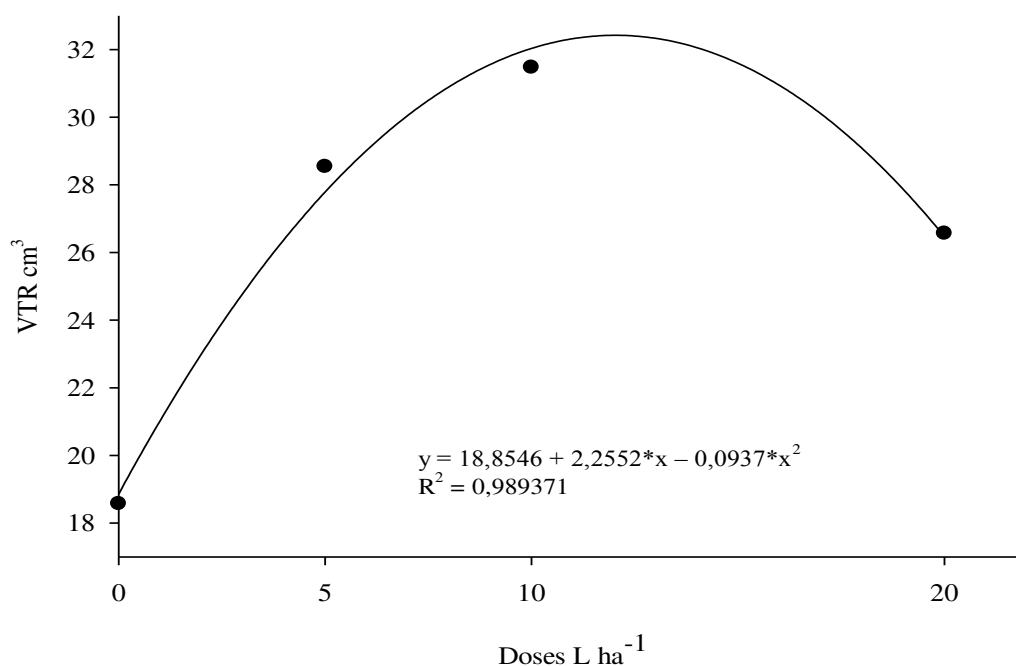


Figura 13 - Efeito de uma única aplicação no sulco de plantio dos AH e AF sobre volume total de raiz (VTR), experimento 1. * significativo a $p < 0,05$. Ponto de máximo: $x = 12,03 \text{ L ha}^{-1}$

As maiores quantidades de características analisadas no sistema radicular, que apresentaram diferenças significativas em resposta aos diferentes níveis do fator em estudo, foram obtidas no experimento 1, onde a aplicação foi toda no solo no dia do plantio. As SH potencializam as funções metabólicas da planta, porém como a planta não recebeu nenhum tipo de adubação, não havia substrato para que as atividades metabólicas prosseguissem sem interferência de fator de perturbação, principalmente porque o milho é considerado uma cultura que apresenta elevada exigência nutricional (GALON *et al.*, 2010).

No experimento 2 onde as dosagens foram fracionadas, o único parâmetro que apresentou efeito significativo foi massa seca de raízes, a dose de 5 litros por hectare apresentou maior valor para massa seca. (Figura 14).

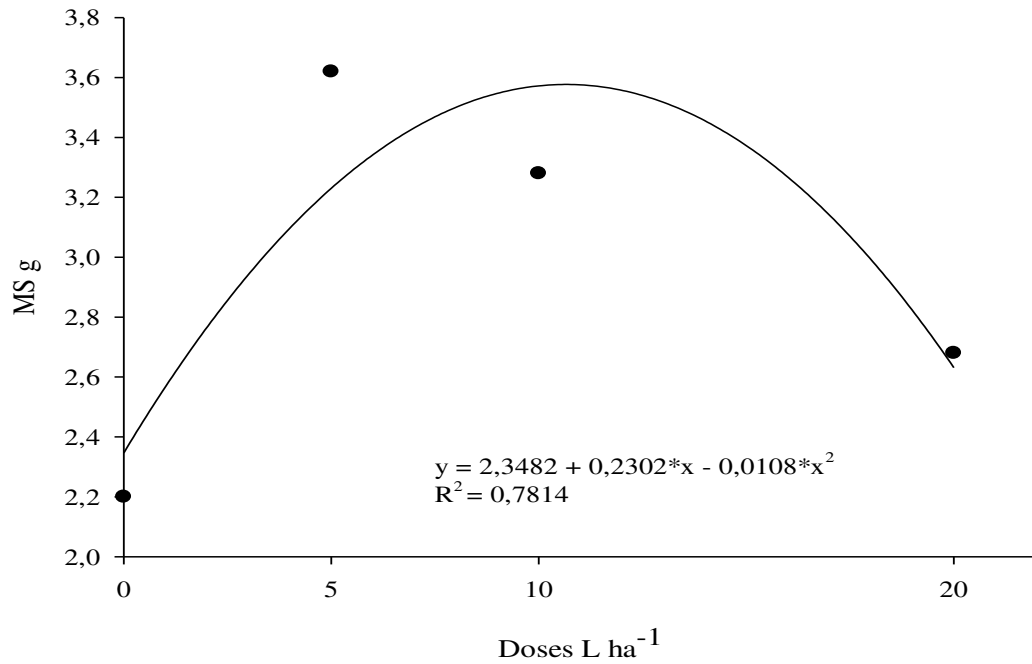


Figura 14- Efeito da aplicação fracionada dos AH e AF sobre a matéria seca (MS) de raízes, experimento 2. *significativo a $p < 0,05$.

5.2 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DO MILHO

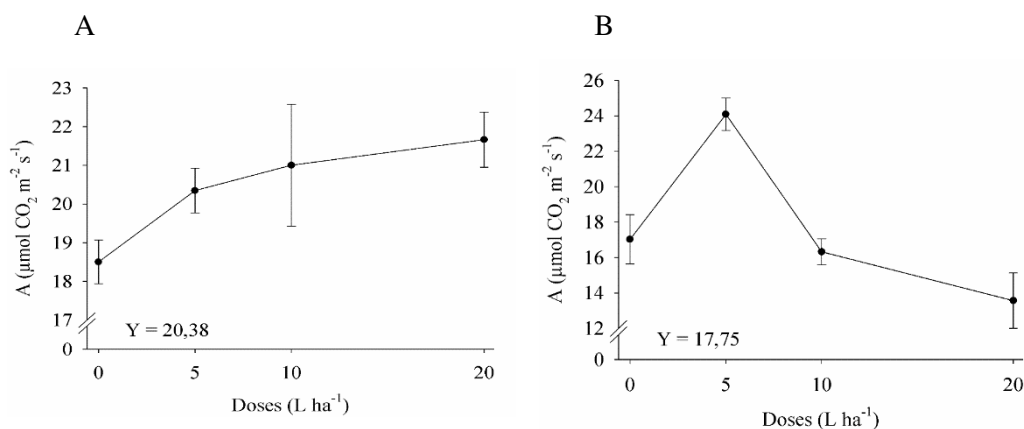


Figura 15- Dados da fotossíntese - experimento 1(A) e 2 (B)

As medições das trocas gasosas mostraram que, para fotossíntese no experimento 1, houve diferença entre o tratamento controle e as demais doses. Não ocorreu o cruzamento do intervalo de confiança das médias. As demais dosagens não diferiram significativamente entre si (Figura 15 A). Para o experimento 2, na dose de 5 litros por hectare houve um pico na taxa fotossintética (Figura 15 B).

Houve incremento constante da fotossíntese em resposta ao aumento da dosagem no experimento 1, e mesmo que a relação entre a fotossíntese e a produção das culturas apresente certa complexidade, sabe-se que a fotossíntese é fundamental para seu rendimento e também é através do processo fotossintético que é possível identificar o ciclo do CO_2 . Aproximadamente 90% da matéria seca do milho é formada através do CO_2 fixado na fotossíntese (DURÃES *et al.*, 2003; CRUZ *et al.*, 2010). O sistema radicular do experimento 1 apresentou essa mesma tendência do incremento, a partir do aumento das dosagens, para pontas, ramificações e bifurcações, ou seja, houve alocação de metabólito para crescimento de raízes.

O milho apresenta alta eficiência na conversão da radiação solar em biomassa, com os valores médios entre 64,5 a 69 mmol mol^{-1} (BERGAMASCHI *et al.*, 2004) os baixos valores encontrados no presente trabalho podem ser causados pelo estresse abiótico das plantas.

A concentração interna de carbono, no experimento 1, apresentou curva inversa à fotossíntese (Fig. 16 A).

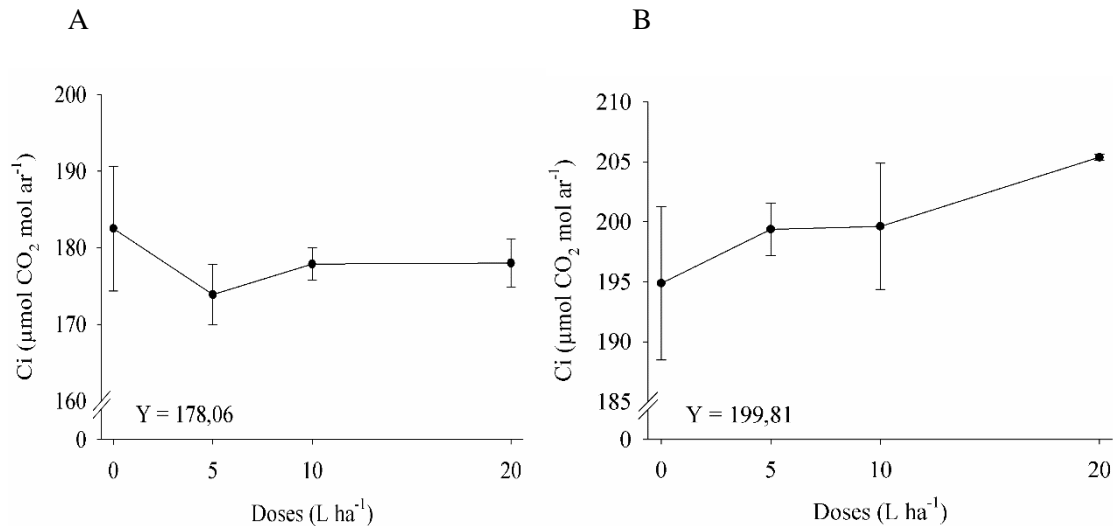


Figura 16 - Concentração interna de carbono na folha (C_i) experimento 1(A) e 2 (B) - medições em V8

Em estádios iniciais há maiores concentrações internas de CO_2 do que em estádios mais adiantado, isso se deve ao fato de que nos estádios iniciais as folhas possuem maior espaço intercelular, o que possibilita maior acúmulo de CO_2 nesses espaços, já em estádios mais adiantados as camadas da epiderme são mais espessas e compactadas, diminuindo assim o espaço intercelular e consequentemente ocorre a diminuição da concentração de CO_2 (Figura 16) (TAIZ & ZEIGER, 2009).

A redução do CO_2 da câmara estomática mostra que ele estava sendo metabolizado, pois quando há aumento na fotossíntese indica que está havendo maior fixação do carbono. Pelo fato do milho ser uma planta com mecanismo C4 de fixação de CO_2 , ele possui mecanismo concentrador de CO_2 , assim a planta consegue fazer maior quantidade de fotossíntese mesmo com menor concentração de carbono no interior da célula, o que pode ser confirmado através do aumento na eficiência instantânea de carboxilação (Figura 17 A), (MACHADO *et al.*, 2005).

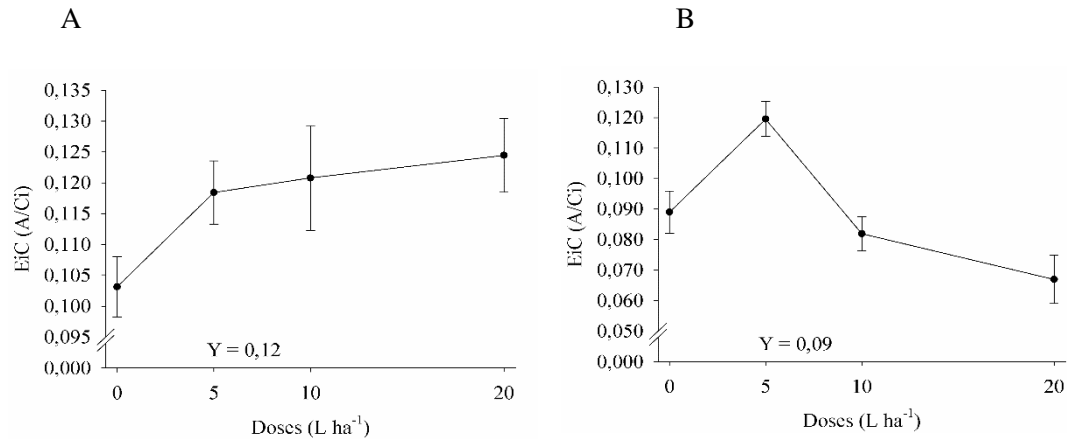


Figura 17 - Eficiência instantânea de carboxilação (EiC) experimento 1(A) e 2 (B) - medições emV8

A Eficiência instantânea de carboxilação (EiC) é a relação entre a fotossíntese líquida e a concentração interna de carbono na folha, ou seja, quantas moléculas de carbono interno serão necessárias para produzir uma molécula de fotossíntese. A EiC seguiu a tendência da fotossíntese, ou seja, o carbono interno estava sendo consumido pelas atividades fotossintéticas. A faixa de temperatura ideal da folha para maior EiC situa-se entre 20 e 30°C (MACHADO *et al*; 2005) e nessa faixa foram realizadas as medições do presente trabalho (Figura 18 A e B).

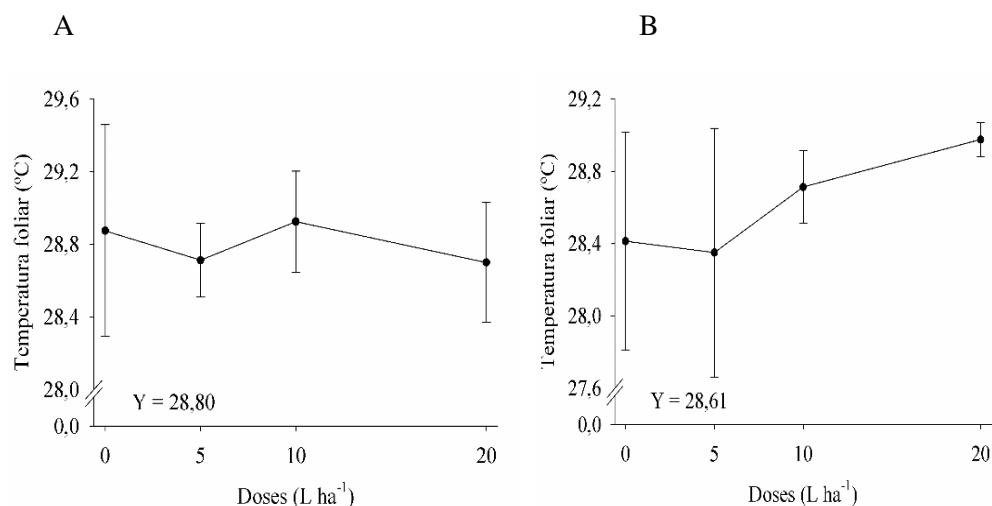


Figura 18 - Temperatura foliar experimento 1 (A) e 2 (B) - medições emV8

Possivelmente se as plantas tivessem aporte adequado de nitrogênio, haveria maior quantidade de rubisco e de pepcarboxilase possibilitando aumento mais expressivo na taxa fotossintética. Visualmente percebeu-se o amarelecimento das folhas caracterizando deficiência de nitrogênio (Figura 19).



Figura 19 - Plantas de milho apresentando folhas com clorose devido a deficiência de nitrogênio.

As plantas que receberam as substâncias húmicas no plantio transpiraram mais, (Figura 20 A) ou seja, tiveram maiores gradações de abertura estomática, apresentaram maior volume, maior comprimento e maior área superficial de raiz, e como a água não era fator de limitação, absorveram mais água (Figura 20 A). Esses resultados apontam que também poderia ser mais efetiva a absorção de nutrientes, se os mesmos estivessem disponíveis, o que permitiria que a planta construísse mais aparato fotossintético e tivesse maior eficiência na manutenção das suas reações metabólicas. O Experimento 2 apresentou pico de transpiração na dose 5 (Figura 20 B), resultado do aumento da condutância estomática (Figura 21 B). A transpiração que é a perda de vapor de água, é importante para diminuir a temperatura da camada limítrofe da folha e sofre ação direta da temperatura ambiente (TAIZ & ZEIGER, 2009).

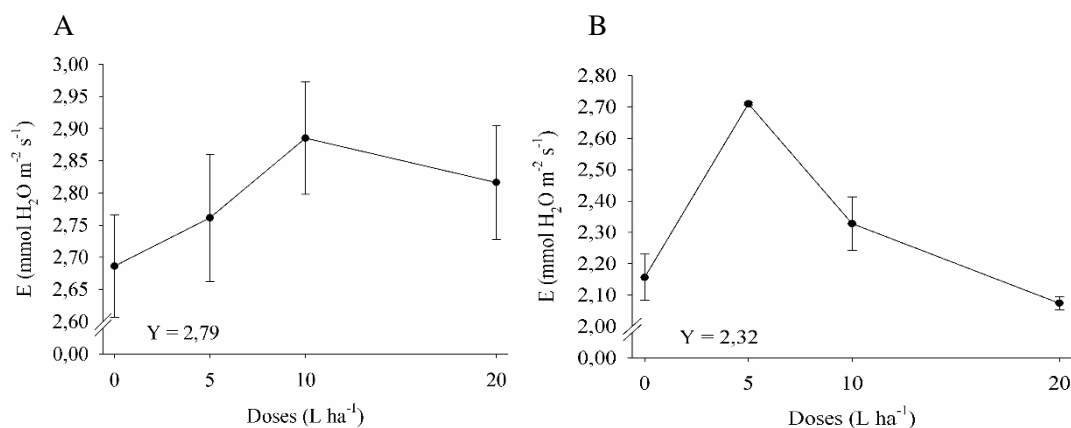


Figura 20- Transpiração (E) experimento 1(A) e 2 (B) - medições emV8

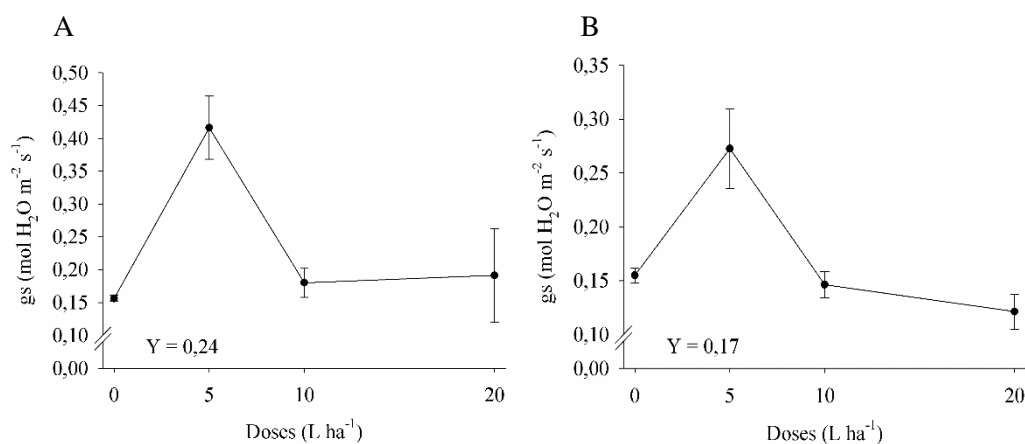


Figura 21- Condutância estomática (g_s) experimento 1 (A) e 2 (B) - medições emV8

A condutância estomática apresentou pico na dose 5 nos dois experimentos, (Figura 21 A e B), diminuindo assim a eficiência intrínseca do uso da água (Figura 22 A e B). Uma das possíveis causas pode ser o fato de que as medições foram feitas nas linhas e com o avanço da manhã houve alterações na taxa fotossintética.

A eficiência intrínseca do uso da água que é a relação entre a fotossíntese líquida e a condutância estomática não apresentou diferença significativa entre os tratamentos para ambos os experimentos (Figura 22 A e B).

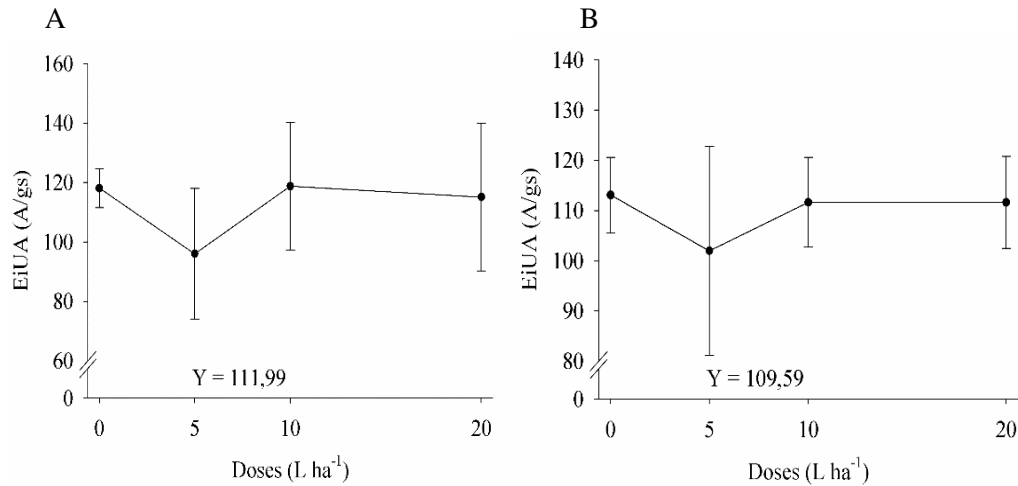


Figura 22 - Eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) experimento 1 (A) e 2 (B) - medições emV8

A eficiência no uso da água, que é a relação entre a fotossíntese e a transpiração, ou seja, quantas moléculas de água são perdidas para fixar 1 molécula de CO_2 , também não mostrou diferença significativa entre as dosagens para ambos os experimentos (Figura 23 A e B), porém no experimento 1 foram necessárias menos moléculas de água para fixar uma molécula de CO_2 , mostrando então maior EUA.

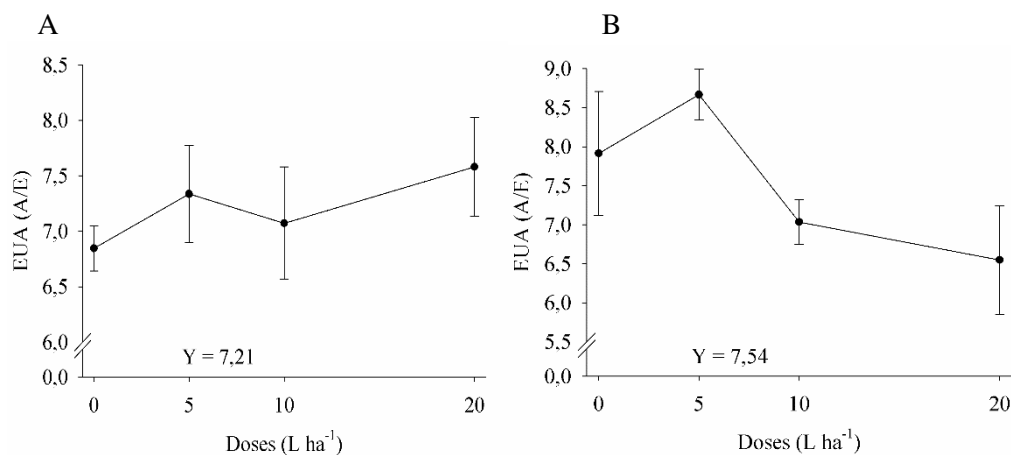


Figura 23 - Eficiência do uso da água (EUA) experimento 1 (A) e 2 (B) - medições emV8

Quando foram utilizadas doses fracionadas no experimento 2 não foram encontrados resultados significativos para quase totalidade do sistema radicular, acontecendo o mesmo com as características fisiológicas. Essas respostas obtidas nesse experimento podem ter sido causadas pelos efeitos fisiológicos da aplicação da metade da dose via foliar. O produto

utilizado é um produto viscoso de cor escura e pode ter bloqueado a absorção da luz pelos dois complexos fotoquímicos da clorofila responsáveis pela absorção de luz e armazenamento de energia para a fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2009). Além disso o produto foi aplicado em V4 e no cartucho, o que consequentemente, atingiu as folhas em crescimento.

A aplicação da dose total no solo no dia do plantio apresentou incremento linear da fotossíntese. A aplicação fracionada, à medida que aumentou a dose diminuiu a fotossíntese. A grande variação encontrada no erro padrão foi possivelmente pelas variações causadas pelo estresse abiótico.

6 CONCLUSÕES

O efeito do produto foi principalmente na morfologia de raízes, houve grande potencial no enraizamento da cultura mesmo em estádios adiantados de desenvolvimento.

Nas condições no presente trabalho com as plantas em vaso, solo sem aporte de adubação e em situação de telado, a dose recomendada seria entre 12 e 13 litros por hectare.

O modo de aplicação que apresentou maior significância dos dados analisados foi a aplicação no solo toda no plantio.

Sem aporte de adubação o sistema radicular da planta se desenvolveu de forma expressiva, e houve aumento de fotossíntese sugerindo solução para redução na quantidade de adubação aplicada;

Sugere-se novos estudos com a aplicação das substâncias húmicas no solo, com a planta de milho em campo e doses escalonadas de adubação.

7 BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, V. et al.; Generation mean analysis for nitrogen and phosphorus uptake, utilization, and translocation indexes at vegetative stage in tropical popcorn. **Euphytica**, 214:103, 2018
- BALDOTTO, M. A. et al; Bioatividade das substâncias húmicas extraídas de solos manejados com integração, lavoura, pecuária e floresta. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 64, n.5, p. 540-547, set/out, 2017.
- BENITES, V. M. et al; Extração e Fracionamento Quantitativo de Substâncias Húmicas do Solo: um Procedimento Simplificado de Baixo Custo. **Comunicado Técnico 16** Embrapa. Outubro 2003.
- 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, set. 2004
- BOTERO, W. G. et al; Influência das substâncias húmicas de sedimentos na biodisponibilidade de metais para o sistema aquático. **Química. Nova**, Vol. 37, No. 6, 943-949, 2014
- 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**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, dez. 2001.
- CANELLAS, L.P. et al. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, v.130 p.1951-1957, 2002.
- CANELLAS, L. P; SANTOS, G. A. Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. 309 p. UENF, Seropédica RJ, 2005
- CANELLAS, L. P. OLIVARES, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 2014
- CARON, V. C. et al, **Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos** ESALQ - Divisão de Biblioteca, Série Produtor Rural, nº 58, 46 p. Piracicaba SP, 2015
- CASTRO, P. R. C. et al, **Manual de estimulantes vegetais: nutrientes, biorreguladores, bioestimulantes, bioativadores, fosfitos e biofertilizante na agricultura tropical**. Agrônômica Ceres, 453 p. São Paulo SP 2017.
- COELHO A. M., FRANÇA, G. E. Seja o doutor do seu milho. Nutrição e adubação. Potafós. Arquivo do Agrônomo n. 2 Piracicaba, SP 1995.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3446-inicio-da-colheita-de-milho-confirma-recorde-de-250-5-milhoes-de-t-na-producao-total-de-graos#:~:text=O%209%C2%BA%20Levantamento%20da%20Safr,o%20colhido%20em%202018%2F19>. Acesso em: 15/10/2020

CRUZ, J. C. et al., **Cultivo do milho**. Embrapa Milho e Sorgo Sistemas de Produção, 2 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 6ª edição. Sete Lagoas. Set./2010

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

DURÃES, O. M. F. et al., Base fisiológica da relação entre rendimento final e fotossíntese em milho. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, 2003

EMBRAPA SOLOS, 1999; AOAC – Official Methods of Analysis – 20 th ed, 2016 – Official Methods 984. 13 A.

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**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, set. 2002.

FANCELLI, A. L. Ecofisiologia, fenologia e implicações básicas de manejo *In* Galvão et al. **Milho do Plantio à Colheita**. Ed Viçosa MG, UFV MG 2015

FONTANETTI, A. et al. Caracterização de Milho Orgânico *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**. Instituto Agrônomo de Campinas, Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Campinas, SP 2012.

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

GALON, L. et al; Influência dos fatores abióticos na produtividade da cultura do milho. **Ciências Agrárias e Biológicas** v. 4 n.3 2010

GREGORY, P.J. Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science? **European Journal of Soil Science**, v.57, p.2- 12, 2006.

HUND A, TRACHSEL S, STAMP P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a 330 phenotyping platform. **Plant and Soil** 325, 335–349. doi:10.1007/s11104-009-9984-2 (2009).

LIMA, G.J.M.M.; et al, O milho na nutrição animal e humana *In*: CRUZ, J. C. et al, (Eds). **Milho: O Produtor Pergunta, a Embrapa Responde**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF. 338 p, 2011

MACHADO, E. C. et al. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção de milho. Embrapa, Circular Técnica 76. Sete Lagoas, MG, 2006.

MELO, A. P. et al, Mixed rhizobia and *Herbaspirillum seropedicae* inoculations with humic acid-like substances improve water-stress recovery in common beans. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**. 4:6 2017.

MORAES, S. L et al; Caracterização de ácidos húmicos de diferentes origens por eletroforese capilar de zona. **Eclética Química**, v. 29, n.2 São Paulo 2004.

MÔRO, G. V.; FRITSCHÉ – NETO, R. Importância e usos do milho no Brasil *In* GALVÃO J. C. C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M. A. (Eds). **Milho do plantio à colheita**. UFV, Viçosa MG 2015.

NIBAU, C. et al. Branching out in new directions: the control of root architecture by lateral root formation. *New Phytologist*, v.179, p.595-614, 2008. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02472.x.

OLIVEIRA, E. A. B. Avaliação de método alternativo para extração e fracionamento de substâncias húmicas em fertilizantes orgânicos. Dissertação. Instituto Agrônomo de Campinas, junho 2011.

PERTUSATTI, J. Aspectos físico-químicos da protonação e desprotonação da superfície do ácido húmico. Dissertação. UNB. Brasília DF, 2007.

PIÑEROS, M. A et al.; The physiology and biophysics of an aluminium tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. **Plant Physiology**. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.002295> , july 2002.

PIÑERO, M. A.; KOCHIAN, L.V.A patch-clamp study on the physiology of aluminum toxicity and aluminum tolerance in maize. Identification and characterization of Al³⁺-induced anion channels. **Plant Physiology** 125, 292–305. doi:10.1104/pp.125.1.292 . (2001).

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

ROSA, D. M. et al; Substâncias húmicas do solo cultivado com plantas de cobertura em rotação com milho e soja. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 221-230, abr-jun, Fortaleza 2017.

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**. Instituto Agrônomo de Campinas, Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Campinas, SP 2012.

SILVA, A. T.; SILVA, S. T. Panorama da Agricultura Orgânica no Brasil, **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.23, p.1031-1040, dezembro 2016

SOARES, M. O. et al; Discriminação de linhagens de milho quanto à utilização de nitrogênio, por meio da avaliação de características do sistema radicular. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.8, n.1, p. 93-103, 2009

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 277p.2004

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Tradução: SANTARÉM E. R.4 ed. Artmed. Porto Alegre, 2009.

TRACHSEL S et al., Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics** 119, 1413–1424. doi:10.1007/s00122-009-1144-9 (2009).

VANCE, C. P, UHDE-STONE C., ALLAN D.L. Phosphorus acquisition and use : Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist** 157, 423–447.doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00695 (2003).

VAN DUIN, A; et al. The use of computational chemistry to investigate the behavior of PAHs in sediments. In: **Urgent Annual Meeting 2000: soil science projet presentations**. 2000. Disponível em: <http://urgent.nerc.ac.uk/Meetings/2000/2000Proc/soils/duin.htm> acesso em: 12/05/2018 às 10:40 hs.

ZANDONADI, D. B. Bioatividade de substâncias húmicas: promoção do desenvolvimento radicular e atividade das bombas de H₊; Tese CCTA UENF, Campos dos Goytacazes - RJ. 2006

ZHANG, L. et al., Large-scale screening maize germplasm for low-phosphorus tolerance using multiple selection criteria. **Euphytica** 197, 435–446. doi:10.1007/s10681-014-1079-3 (2014)